

DIFERENTES TIPOS DE ESTRESSE JUVENIL (ISOLAMENTO SOCIAL E IMOBILIZAÇÃO): ESTUDO MORFOLÓGICO EM DIFERENTES REGIÕES CEREBRAIS

Gustavo Henrique Pereira (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Letícia Alexandrino Barilli (Coautora), Milena Babugia Pinto (Coautora), Vinicius Takeshi Ebihara (Coautor), Mariane Ferreira Vieira (Coautora) e Silvana Regina de Melo (Orientador), e-mail: ra119929@uem.br.

Universidade Estadual de Maringá / Centro de Ciências Biológicas e da Saúde/DCM/Maringá, PR.

Área e subárea do conhecimento: Medicina-Psiquiatria

Palavras-chave: estresse de imobilização; isolamento social; infância.

RESUMO

Experiências ambientais ameaçadoras têm efeito negativo, que variam conforme o tipo de estresse e se configura como importante fator de predisposição aos transtornos mentais. O objetivo do estudo foi analisar os efeitos do estresse por isolamento social e imobilização na fase juvenil de ratos machos e fêmeas na espessura do córtex pré-frontal (CPF) e corpo caloso (CC) e volume da camada piramidal do hipocampo. Foram analisados três grupos (machos e fêmeas): Controle, Estresse por isolamento social (EIS) e Estresse por imobilização (EI) de ambos os sexos. Os modelos de estresse foram executados nos animais entre os dias 21 e 35 pós-natal (P21-P35), e na idade P43 os encéfalos foram coletados e processados pela técnica de Nissl. A análise da espessura do CPF e CC revelou que os modelos estressores induziram alterações à sua morfologia, entretanto, não demonstrou alteração sobre o volume das células do hipocampo analisadas. No CPF houve redução de espessura nos animais que foram isolados, mas aumento nos animais que foram imobilizados. Na espessura do CC detectamos aumento e nenhuma alteração no hipocampo, com relação ao volume das regiões CA1, CA3, e Giro denteado.

INTRODUÇÃO

Experiências ambientais ameaçadoras têm efeito negativo, que variam conforme o tipo de estresse e se configura como importante fator de predisposição aos transtornos mentais. No entanto, esses efeitos variam, e são considerados mal-adaptativos em resposta ao estresse crônico neonatal, mas, paradoxalmente, podem também gerar efeitos resilientes em resposta ao estresse psicológico moderado e previsível. Estudos clínicos apontam efeitos anatômicos e funcionais da exposição ao estresse crônico, por ex. pessoas com Transtorno de Estresse Pós Traumático (TEPT) apresentam também redução de volume do hipocampo (BREMNER et al.,

2003), dependente do tempo e intensidade do estresse. No CC, principal feixe de comunicação entre os hemisférios cerebrais, foram observadas alterações nos oligodendrócitos e mielina em diversos transtornos psiquiátricos, tais como a depressão (FIELDS, 2008). Além disso, sugere-se também que o estresse precoce alteraria o desenvolvimento normal do córtex pré-frontal produzindo maturação precoce que teria efeito negativo sobre suas funções (TEICHER et al., 2003).

Nossa hipótese é que a exposição ao estresse crônico nessa fase (infantil), pode afetar o desenvolvimento normal destas áreas cerebrais, e portanto de comportamentos, exacerbando sua vulnerabilidade na vida adulta, o que representaria do ponto de vista translacional sintomas das doenças mentais em humanos, como depressão e ansiedade. Assim, utilizamos dois modelos de estresse a fim de compreender a neurobiologia do estresse nesta fase do neurodesenvolvimento. O objetivo deste estudo foi verificar se o modelo de estresse EIS e EI, na fase juvenil está associado a alterações na espessura do córtex pré-frontal nas regiões Cg3 e Cg1, na espessura da região central corpo caloso e volume da camada piramidal de diferentes regiões do hipocampo, áreas importantes na resposta ao estresse.

MATERIAIS E MÉTODOS

Foram utilizados 43 filhotes de ratos Wistar (*Rattus norvegicus*) provenientes de ratas prenhas provenientes do Biotério Central da Universidade Estadual de Maringá. As ninhadas, foram distribuídas em três grupos: Controle (C) e Estresse de Isolamento Social (EIS) e Estresse de imobilização (EI).

O EIS ocorreu entre os dias 21 e 35 pós-natal (P21-P35), os animais foram colocados individualmente em caixas de propileno (30X20X13 cm), nas condições padrão de biotério e foram apenas manipulados para manutenção padrão de troca de caixa (3x/semana). O EI ocorreu entre os dias 21 e 35 pós natal (P21-P35), onde os animais colocados individualmente em um aparato cilíndrico de propileno transparente com 3 a 4 cm de diâmetro e 9 a 12 cm de comprimento, com perfurações, que permitem a respiração, mas não permite movimentos. Os animais permaneceram imobilizados diariamente por 2 horas, no período entre 10:00 -12:00 hr., em sala própria para testes comportamentais. O grupo Controle recebeu apenas intervenções humanas relacionadas à limpeza da gaiola. Na idade de P43 os animais foram submetidos à eutanásia, os encéfalos foram retirados e preparados com técnica de Nissl para análise morfométrica e estereológica.

Para a análise quantitativa da espessura do CPF, foram consideradas 3 secções por animal, correspondentes aos bregmas 3.20mm, 2.70mm e 2.20mm, consideradas aqui como secções I,II,III. Com auxílio de régua contendo 1000 micrômetros acoplada ao microscópio óptico Olympus BX40, e objetiva de 20x, foram mensuradas as regiões Cg1 e Cg3 do lado esquerdo e direito. Para quantificação da espessura do corpo caloso, foram consideradas 5 secções por animal, correspondendo respectivamente aos bregmas 2.28mm, 1.56mm, 1.20mm, 0,96mm e -0.48mm, onde foi mensurada a espessura de sua região adjacente à

fissura longitudinal do cérebro. Por fim, na quantificação do volume do hipocampo, foram considerado as camadas de células piramidais, considerando 4 secções por animal, correspondentes aos bregmas 2.28mm ,2.92mm, 3.24mm e 3.60mm e por meio do sistema teste de pontos, e princípio de Cavalieri, foi determinado o volume da camada piramidal das regiões Ca1, Ca2 e Giro Denteado. Todos os bregmas aqui citados estão de acordo com (PAXINOS e WATSON, 1998).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Espessura do CPF.

Na análise das regiões Cg3 e Cg1, não foram detectados alterações na região Cg1, mas verificamos efeitos opostos na região Cg3 nos modelos estudados. Enquanto no grupo EIS houve redução na espessura na secção III e da média das secções, apenas no macho (fig. 1. a, b), no grupo EI houve aumento na espessura também apenas nos machos (fig. 1. c, d). Nosso resultado apontando a redução nos animais isolados, encontra consonância em outros estudos que apontam que o modelo de isolamento social provoca efeitos característicos da esquizofrenia no modelo animal. E uma das características do transtorno em humanos é a redução exagerada do córtex cerebral.

Espessura do CC.

Em ambos os modelos de estresse verificou-se aumento na espessura, no entanto, enquanto no EIS houve aumento apenas nas fêmeas (figura 2. a), no EI houve aumento em ambos os sexos (figura 2. b, c). Estudos estão em andamento para verificar se esse aumento está relacionado ao aumento das bainhas de mielina ou número de células.

Volume da camada piramidal do hipocampo

Em ambos os grupos estudados verificou-se que nas regiões Ca1, Ca2 e GD não foram detectadas alterações. Novos estudos serão realizados para verificar em nível microscópico e molecular os efeitos do estresse, assim como análise do volume na vida adulta. Pois é possível que o estresse tenha efeito a longo prazo.

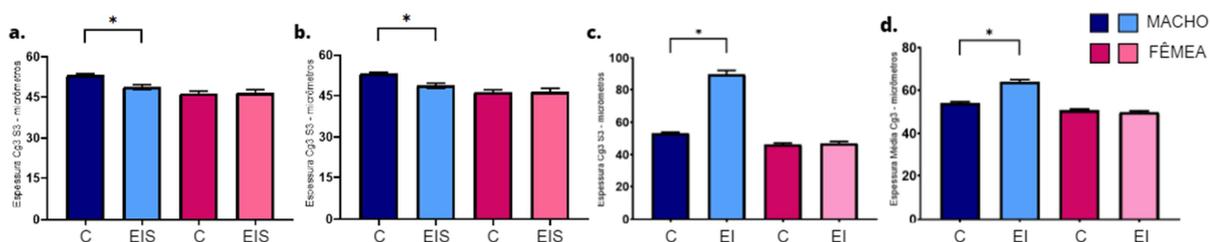


Figura 1 –Gráficos representando os dados expressos em média e desvio padrão, referentes ao córtex pré-frontal. C=Controle, EIS=Estresse Isolamento, EI=Estresse Imobilização.

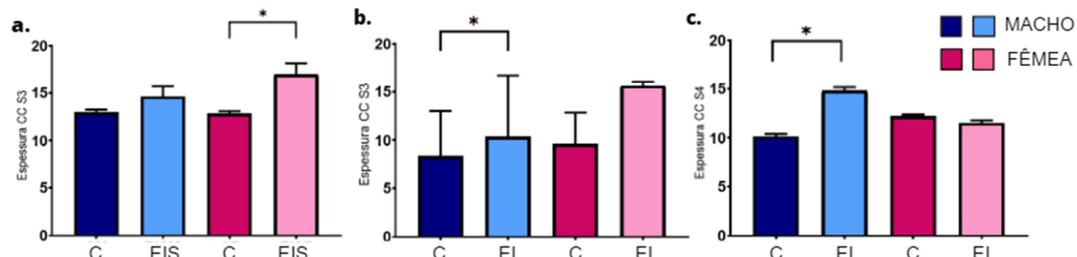


Figura 2 –Gráficos representando os dados expressos em média e desvio padrão, referentes ao e corpo caloso. CM=Controle, CF=Controle Fêmea, EISM=Estresse Isolamento Macho, EISF=Estresse Isolamento Fêmea, EIM=Estresse Imobilização Macho, EIF=Estresse Imobilização Fêmea.

CONCLUSÕES

Verificamos que os modelos utilizados, estresse por isolamento social e imobilização provocam efeitos a curto prazo em diferentes regiões do cérebro dos animais, e este efeito foi dependente do sexo. Curiosamente o córtex pré-frontal mostrou redução de espessura nos animais que foram isolados, mas houve aumento nos animais que foram imobilizados. Além disso, a espessura do corpo caloso, em algumas regiões também sofreu alterações, aqui verificadas como aumento na espessura, mas que precisam ser melhor compreendidas em estudos futuros.

AGRADECIMENTOS

Ao PIBIC-CNPq-FA-UEM, ao Lab. de Neurofarmacologia, e ao grupo de pesquisa Neurodesenvolvimento/Estresse/Neuroplasticidade.

REFERÊNCIAS

BREMNER, J. D. et al. MRI and PET study of deficits in hippocampal structure and function in women with childhood sexual abuse and posttraumatic stress disorder. **Am J Psychiatry**, vol. 160, n. 5, p. 924-32, 2003.

FIELDS, R. D. White matter in learning, cognition and psychiatric disorders. **Trends in Neurosciences**, v. 31, n. 7, p. 361-370, 2008.

PAXINOS, G.; WATSON, C. The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates. **Academic Press**, San Diego. 1998.

TEICHER, M.H. et al. The Neurobiological consequences of early stress and childhood maltreatment. **Neurosci Biobehav Rev**, vol. 27, p. 33-44. 2003.