

ESTRESSE NO PERÍODO DA INFÂNCIA EM AMBOS SEXOS SUGERE EFEITO NO COMPORTAMENTO TIPO-DEPRESSIVO DE RATAS FÊMEAS

Mariane Ferreira Vieira (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Milena Babugia Pinto, Larissa Celine Violin, Silvana Regina de Melo (Orientadora). E-mail: srmelo@uem.br.

Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências Biológicas, Maringá, PR.

Área e subárea do conhecimento: Ciências da Saúde/Psiquiatria.

Palavras-chave: estresse; nado forçado, preferência a sacarose.

RESUMO

Este estudo objetivou investigar se dois modelos de estresse na infância podem causar impacto no comportamento tipo-depressivo de ratos adolescentes. 56 Ratos Wistar machos e fêmeas foram distribuídos aleatoriamente em três grupos: Controle (C), Estresse de Isolamento Social (EIS) e Estresse de Imobilização (EI). Nas idades entre 21 a 35 dias pós-natal (P21-P35) os animais foram estressados e durante P38-P42 foram submetidos aos testes comportamentais denominados Nado Forçado (NF) e Preferência a Sacarose (PS). Os resultados sugeriram um comportamento tipo-depressivo em ratas fêmeas estressadas pelo EIS na infância. Entretanto, o EI não mostrou efeito conclusivo, pois ainda é necessário refinamento estatístico para melhores conclusões.

INTRODUÇÃO

O estresse de isolamento social é um estado de ausência ou deficiência de interação, este estado e a depressão provavelmente interagem entre si, pois os relacionamentos sociais podem proteger a saúde mental. O estresse por imobilização contínua e previsível é utilizado para imitar o estresse humano cotidiano. Este estudo utiliza esses dois métodos de estresse, e nos concentramos na fase da infância do rato de ambos os sexos. Nossa hipótese é que ambos estressores na infância provocam efeitos no comportamento, e utilizamos aqui os testes comportamentais NF e PS para avaliação da resposta comportamental. Assim, nosso estudo objetivou averiguar se os modelos de estresse na infância estão associados ao comportamento tipo-depressivo em ratos adolescentes machos e fêmeas.

MATERIAIS E MÉTODOS

Utilizamos o método de pesquisa experimental. Foram utilizados 56 ratos Wistar, machos e fêmeas distribuídos aleatoriamente em três grupos: Controle (C), Estresse de Imobilização (EI) e Estresse de Isolamento Social (EIS). Projeto aprovado pelo CEUA/UEM nº 963.923.112-1. Projeto não aprovado pelo COPEP, pois foi realizado apenas com animais. Os animais foram submetidos aos estressores nas idades entre 21 a 35 dias pós natal (P21-P35), posteriormente passaram pelos testes comportamentais nas idades P38-P42, e foram eutanasiados em P43.

Estresse de Imobilização (EI) - Os animais foram colocados em tubos transparentes com tamanho conforme a idade do animal, que permitiam a respiração, mas não movimentos. Permaneceram imobilizados diariamente por 2h durante 15 dias e em seguida foram ressocializados.

Estresse de Isolamento Social (EIS) - Os animais foram colocados individualmente em caixas e manipulados apenas para manutenção padrão, tiveram acesso aos estímulos olfativos, visuais e auditivos do biotério, mas ficaram isolados do contato físico e portanto social.

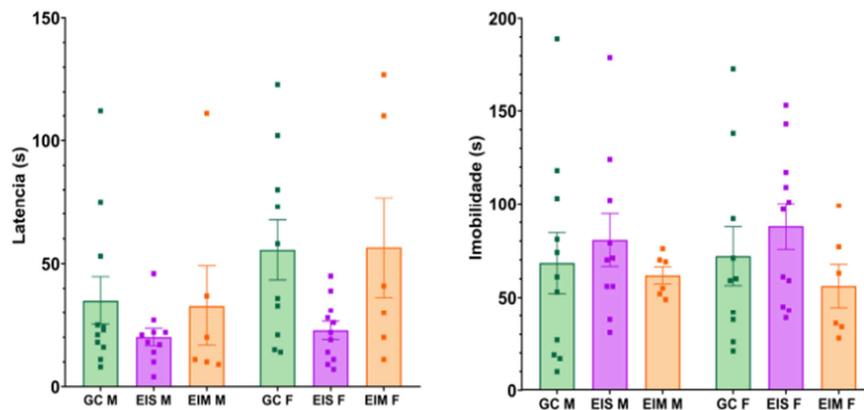
Teste de Nado Forçado (NF) - Avaliou o comportamento de desespero, e anedonia. Dia 1 (Habituação): o animal foi submetido ao NF por 15 minutos. Dia 2 (Gravação) o animal foi submetido por 6 minutos. Na análise dos vídeos foi considerado imobilidade quando o animal não fez qualquer movimento com as patas, anotou-se o primeiro episódio de imobilidade. Este primeiro episódio foi denominado de Latência. Em seguida foi anotado todos os tempos que o animal permaneceu imóvel durante 5 minutos.

Teste de Preferência à Sacarose (PS) - Avaliou o comportamento da anedonia. Dia 1: os animais foram colocados individualmente em caixas contendo 2 garrafas (ambas com água pura). Dia 2: foi preenchida uma garrafa com água pura e outra com a solução de sacarose à 1%. Dia 3 as garrafas foram pesadas e trocadas de posição na caixa. Para o cálculo utilizou-se a seguinte equação: % preferência de sacarose = consumo total de sacarose x100/consumo total (H₂O + sacarose).

Análise estatística - Os dados foram analisados utilizando o software Graph Prism 8.0.1, aplicando teste de variância One-Way (ANOVA) ou Kruskal Wallis, com post hoc de Tukey. Considerou-se para análise (CxEISxEIM). Foi considerado o nível de significância de 5% ($p < 0,05$) e os dados foram expressos como média \pm desvio padrão.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

No teste de NF nossos resultados apontaram que não houve diferença significativa em ambos os sexos. No entanto, observa-se uma tendência para menor latência e maior tempo de imobilidade do grupo EIS em comparação aos grupos C e EI (Figura 1).



Gráficos representando os dados expressos como média \pm desvio padrão da latência e tempo de imobilização dos ratos machos e fêmeas de ambos grupos experimentais. Grupo Controle (GC; n= 11 machos e n=10 fêmeas), Estresse Isolamento Social (EIS; n= 10 machos e n=13 fêmeas), Estresse Imobilização (EIM; n= 6 machos e n=6 fêmeas).

Figura 1 - Gráficos representando os dados.

Kim, Lee e Song (2021) verificaram que ratos submetidos ao EIS passaram significativamente mais tempo imobilizados do que o grupo C. Entretanto, neste estudo foram analisados apenas ratos machos estressados por 12 semanas no período da adolescência. Notamos que no EI houve adaptação e o animal apresentou o mesmo índice de respostas do grupo C. Ao contrário dos achados de Seewoo *et. al.* (2020), em que o teste NF apresentou dados onde os animais submetidos ao EI tiveram o parâmetro de imobilidade aumentado, o que demonstra a presença de comportamentos semelhantes à ansiedade e depressão, no entanto, utilizaram o modelo por 2,5h durante 13 dias consecutivos. No teste de PS, devido a problemas técnicos, não tivemos resultados satisfatórios para o grupo EI, e EIS. Apesar da pequena amostragem faremos a descrição dos grupos C e EIS macho e fêmea. Verificamos que o consumo de água não foi estatisticamente significativo, no entanto, o EIS parece ter provocado anedonia, mas foi verificado apenas no grupo das fêmeas, que reduziu o consumo de sacarose com diferença $p < 0,05$ quando comparado ao grupo C. Estes dados são coerentes com o estudo de Nikolaienko, Klymenko e Isaeva (2023) que encontraram diminuição significativa na preferência por sacarose em ratos submetidos ao estresse de isolamento social, o que reflete um comportamento semelhante à anedonia. Entretanto, os animais foram mantidos isolados por quatro semanas logo após o desmame, e o experimento foi realizado apenas com ratos machos. Consideramos satisfatório pelo fato de termos

padronizado o teste em nosso laboratório. E ainda, em função de nossos resultados estatísticos apontam para efeito tipo-depressivo de modo coerente com a literatura, novas análises estatísticas deverão ser realizadas.

CONCLUSÕES

Nossos resultados sugerem que os efeitos comportamentais são tipo e sexo-dependente. Enquanto o Estresse de Isolamento Social no período da infância mostrou tendência a ser prejudicial, no sentido de apontar para comportamento tipo-depressivo na fase da adolescência, o Estresse de Imobilização não teve o mesmo efeito, e que esse efeito foi apenas para as fêmeas.

AGRADECIMENTOS

Ao PIBIC-CNPq-FA-UEM pela oportunidade e pelo apoio financeiro. Aos integrantes do Laboratório de Neurofarmacologia da UEM, aos membros do grupo de pesquisa Estresse e Resiliência e aos responsáveis pela contribuição nas tecnologias que prezam a saúde mental dos seres humanos.

REFERÊNCIAS

KIM, Y. J.; LEE, J. H; SONG, M. K.; Effect of chronic handling and social isolation on emotion and cognition in adolescent rats. **Physiology & Behavior**, Amsterdã, v. 237, p. 113440–113440, ago 2021. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33940083/>>. Acesso em: 9 set. 2024.

SEEWOO, B.J. *et al.*, Validation of chronic restraint stress model in rats for the study of depression using longitudinal multimodal MR imaging. **eNeuro**, Estados Unidos, v. 7, n. 4, p. 0113-20, jul 2020. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32669346/>>. Acesso em: 9 set. 2024.

NIKOLAIENKO, O., KLYMENKO, M., ISAEVA, E. Consequences of adolescent social isolation on behavior and synaptic plasticity in the dorsal and ventral hippocampus in male Wistar rats. **Neurological Research**, Reino Unido, v. 45, n. 12, p. 1152–1160, set 2023. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37698124/>>. Acesso em: 9 set. 2024.