EFEITOS DO ESTRESSE PRECOCE POR NEGLIGÊNCIA PARENTAL NA COGNIÇÃO DE CAMUNDONGOS MACHOS E FÊMEAS NA ADOLESCÊNCIA

Milena Babugia Pinto (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Silvana Regina Melo (Orientador), Humberto Milani (Contribuidor), Rubia Maria Monteiro Weffort de Oliveira (Contribuidor), Gustavo Henrique Pereira (Contribuidor), Larissa Celine Violin (Contribuidora)
E-mail: srmelo@uem.br.
Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências Biológicas, Maringá, PR.

Farmacologia/ Neuropsicofarmacologia

Palavras-chave: memória de trabalho; memória imediata; experiência adversa; estresse no início da vida.

RESUMO

A negligência na infância está intrinsecamente associada a distúrbios psiquiátricos em humanos. Em modelos animais, o estresse precoce por ninho empobrecido (EPNE) é eficaz ao mimetizar esse estresse crônico, pois fragmenta o cuidado materno. Este estudo investigou se o EPNE impacta o comportamento cognitivo de camundongos por meio do Teste de Reconhecimento de Objeto Novo (RNO). Os resultados experimentais indicaram que o modelo de estresse não alterou a memória de curto prazo e que ambos os grupos apresentaram desempenho semelhante no teste RNO.

INTRODUÇÃO

A negligência na infância compõe um conjunto de adversidades nos primeiros anos de vida (TEICHER MH et al.,2016) cujo fator comum é o estresse crônico, onde o modelo animal torna-se valioso para compreender os efeitos cognitivos envolvidos neste tipo de adversidade.

Durante o neurodesenvolvimento dos filhotes de camundongos, a qualidade do cuidado materno é importante. Entretanto, a exposição da mãe ao estresse por meio do Estresse Precoce de Ninho Empobrecido (EPNE) conduz a um processo de fragmentação do cuidado. E, de acordo com BATH KG et al.,2016, o estresse afeta a memória espacial de camundongos de modo dependente de sexo e idade. Tal estudo sugere que o modelo impacta de forma crítica na maturação do cérebro, alterando os sistemas cognitivos da prole.

A literatura sugere que a exposição crônica ao EPNE provoca distúrbios no comportamento maternal e, consequentemente, interfere no remodelamento de áreas cerebrais essenciais para a cognição dos filhotes. Assim, verificamos se o modelo EPNE adaptado ao nosso laboratório tem potencial para provocar prejuízos no comportamento cognitivo de camundongos, fêmeas e machos na adolescência. Para isso, utilizamos o teste de Reconhecimento de Novo Objeto (RNO) a fim de analisar o comportamento cognitivo, ou seja, a memória declarativa de curto prazo.

MATERIAIS E MÉTODOS

Foram utilizadas 20 camundongas da linhagem C57BL/6 mantidas em condições padrão no biotério do Departamento de Ciências Farmacêuticas de Maringá. Ao nascimento (P0), as ninhadas compostas de 4-8 filhotes, foram distribuídas em grupo controle (C) e Estresse Precoce de Ninho Empobrecido (EPNE). n=8 ninhadas por grupo.

Em P0 o grupo C recebeu 1200ml de maravalha e 1 palete (5 x5 cm) de algodão, de P0 a P25. Por sua vez, o EPNE foi mantido em uma caixa contendo 350ml de maravalha do P1 a P14, e posteriormente 100ml de P14 a P25, sem palete. Em seguida, os animais de ambos os grupos foram desmamados em P26 e mantidos de 2 a 3 animais por caixa do mesmo sexo contendo 500ml de maravalha.

Para testar o RNO, utilizaram-se dois objetos: vasos de vidro pequenos (11 × 7,5 cm) preenchidos com areia azul e um objeto de plástico com formato de abacaxi (9 × 5,5 cm) posicionados a uma distância 10 cm das regiões de um dos cantos da caixa. Em P35 na fase de familiarização, cada animal foi colocado no centro da parede oposta aos objetos contendo dois objetos idênticos (garrafas de vidro) e permitiu-se a exploração por 5 minutos. Em sequência, os animais foram retirados e mantidos em outra sala por 5 minutos na fase de retenção e por fim, foram recolocados nas caixas, agora com a presença de um novo objeto (abacaxi) e deixados livremente para exploração por 5 minutos.

Os vídeos foram coletados e analisados unitariamente seguindo um padrão de análise, que consistiu na delimitação de um círculo de 2 cm ao redor do objeto e a partir desse espaço procedeu-se a quantificação do comportamento de exploração. Quando o camundongo posicionou o focinho em direção ao objeto a uma distância igual ou menor que 2 cm e ao tocar o objeto com o focinho ou cheirar o objeto. O índice de discriminação D2 foi calculado como indicativo do processo de aprendizagem pela fórmula: D2 = (tempo de exploração na nova localização/novo objeto) dividido por (tempo de exploração na nova localização/novo objeto + tempo de exploração na localização familiar). A análise estatística foi realizada através *software* GraphPad Prism 8.0.2 e o nível de significância adotado foi de 5% ($p < 0,05$) e os dados expressos como média ± SD.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Tanto na análise da familiarização quanto no teste, não houve diferença no tempo de exploração entre o objeto familiar e o novo objeto entre os grupos C e EPNE. No nosso resultado quantitativo, verificamos que ambos os grupos não apresentaram alterações no teste cognitivo, contrariando nossa hipótese de que o estresse precoce traria prejuízos à memória declarativa de curto prazo. Tal resultado não significa que o estresse não tenha impacto na cognição, mas sugere três fatores a serem considerados: a espécie utilizada, a idade do animal e o tipo de memória analisada.

No teste de reconhecimento do novo objeto (RNO) na etapa de familiarização, o animal é colocado na arena e deixado livre para explorar dois objetos idênticos por um intervalo de 5 min, ou seja, período em que o animal deve memorizar o ambiente. Esses intervalos são baseados em testes consolidados e padronizados (MUMBY DG et al., 2002). A diferença no comportamento de camundongos e ratos pode ser um fator limitante ao usar esse teste. Uma hipótese para o nosso resultado é que camundongos são mais ativos que ratos podendo ter impactado nossos achados.

Ainda, neste estudo o teste do RNO ocorreu em uma etapa de máxima plasticidade neuronal (P38) em que estruturas responsáveis pela aquisição e processamento da memória, córtex sensorial e hipocampo, respectivamente, estão em desenvolvimento (RAMSARAM et al., 2025). Nesse sentido, tal imaturidade pode explicar a não preferência pelo novo objeto do grupo controle. BARTH KG et al., 2017, que avaliaram os efeitos do EPNE em camundongos em diferentes idades, com tempo de familiarização de 5 minutos, demonstraram que machos na idade em que foi realizado nosso estudo, P38, não obtiveram preferência pelo novo objeto tanto no grupo controle quanto no EPNE e atribuíram justamente a idade como principal fator.

Em nosso estudo, o intervalo entre o período de familiarização e o teste foi de apenas 5 minutos, testando a memória declarativa de curto prazo. Outros estudos tem apontado que nesse mesmo teste, usando tempos de intervalos diferentes e, portanto, abordando outros espectros temporais da memória declarativa, os resultados também foram negativos. Ou seja, os animais não demonstraram interesse pelo novo objeto. Camundongas expostas ao EPNE entre P2-9 não tiveram bom desempenho no teste RNO na idade P35, comprovando impacto direto na memória de médio prazo, uma vez que o intervalo de retenção foi de 1 h em vez de 5 minutos, como o aplicado nesta pesquisa (MA YN et al., 2024). Outro estudo, também com a mesma metodologia de estresse, com tempo de 25 minutos para a fase de retenção, mostrou que o modelo EPNE não causou prejuízos na memória declarativa de curto prazo (BARTH KG et al., 2017). Junto com nossos resultados, esses estudos sugerem que o teste de reconhecimento de novo objeto talvez não seja um teste adequado para a testagem desse modelo de estresse em camundongos.

CONCLUSÕES

Tanto o grupo EPNE como o grupo controle não tiveram prejuízo na memória de curto prazo avaliada com o teste RNO. Esta ausência de prejuízo não significa que o modelo de estresse seja inócuo, mas limita-se a que na idade avaliada não se verificaram alterações cognitivas na memória declarativa de curto prazo. Esse achado pode estar vinculado à idade dos animais, à memória avaliada, e ao próprio teste utilizado como parâmetro avaliativo.

AGRADECIMENTOS

Agradeço em primeiro lugar à Fundação Araucária pelo fomento a este projeto. Estendo meus agradecimentos à minha orientadora pelo suporte fundamental. Por fim, agradeço a todos os colegas de laboratório pelo auxílio e pela convivência.

REFERÊNCIAS

BATH, K. G.; MANZANO-NIEVES, G.; GOODWILL, H. Early life stress accelerates behavioral and neural maturation of the hippocampus in male mice. **Hormones and Behavior**, v. 82, p. 64–71, 2016.

BATH, K. G. et al. Early life stress leads to developmental and sex selective effects on performance in a novel object placement task. **Neurobiology of Stress**, Amsterdam, v. 7, p. 57-67, 2017. DOI: 10.1016/j.ynstr.2017.04.001.

MA, Yu-Nu et al. Dorsal CA1 NECTIN3 Reduction Mediates Early-Life Stress-Induced Object Recognition Memory Deficits in Adolescent Female Mice. **Neuroscience Bulletin**, v. 41, n. 2, p. 243–260, out. 2024.

MUMBY, D. G. et al. Hippocampal damage and exploratory preferences in rats: memory for objects, places, and contexts. **Learning & Memory, Cold Spring Harbor**, v. 9, n. 2, p. 49-57, mar./abr. 2002. DOI: 10.1101/lm.41302. Disponível em: https://learnmem.cshlp.org/content/9/2/49. Acesso em: 24 ago. 2026.

RAMSARAN, A. I. et al. A sensitive period for the development of episodic-like memory in mice. **Current Biology**, London, v. 35, n. 9, p. 2032-2048.e3, 2025. DOI: 10.1016/j.cub.2025.03.032.

TEICHER, M. H. et al. The effects of childhood maltreatment on brain structure, function and connectivity. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 17, n. 10, p. 652–666, 2016.