



20º Congresso de Iniciação Científica

AValiação Comportamental em Ratos Recuperados Pós Desnutrição: Comparação entre Gêneros

Autor(es)

GABRIELA MAIA ALTAFIM

Co-Autor(es)

JOYCE RICCI PIRES

Orientador(es)

CARLOS ABERTO DA SILVA

1. Introdução

A fome e a pobreza causam diversos problemas de sobrevivência, desenvolvimento e crescimento da sociedade, já que, segundo Evans (2004), a fome afeta uma em cada cinco pessoas nos países em desenvolvimento, sendo que uma das principais causas relacionadas com saúde pública é a desnutrição. A desnutrição proteico-calórica infantil é uma das principais causas de mortalidade infantil no Brasil. Esta predefinida segundo a Organização Mundial da Saúde como uma variedade de condições patológicas decorrentes das deficiências de energia e proteínas, em proporções variadas. É uma doença multifatorial cujas raízes se encontram na pobreza. Pode iniciar precocemente na fase intrauterina ou no início da infância cuja principal causa é a interrupção do aleitamento materno antes do previsto. Sobretudo, uma alimentação que não supre as necessidades de proteínas e calorias provocam alterações em todo o metabolismo na criança e o organismo cria mecanismos eficientes para economizar energia, evitando assim risco para a sobrevivência, diminui a velocidade de crescimento e em alguns casos extremos anula completamente (MOYSÉS E LIMA, 1983). Ademais, a desnutrição infantil causa diversas consequências já que ocorre em períodos críticos do desenvolvimento assim causando prejuízos no desenvolvimento motor (SMART, 1993) e em casos mais graves pode ocorrer má formação do sistema nervoso consequentemente alterando o aprendizado (VALADARES e ALMEIDA, 2005). Além disso, um dos fatores mais preocupante é que observa-se relevantes alterações comportamentais, que tendem a apatia, explorando menos o ambiente tanto em quantidade quanto em complexidade, o nível de desenvolvimento é baixo e o número de atividades desempenhadas por elas também são mais baixas quando comparadas com crianças nutridas (GRANTHAM et al., 1990). Logo, observa-se que a desnutrição infantil gera modificações comportamentais tais como alterações emocionais, motivação e ansiedade. Ocorrem também, alterações intelectuais, que prejudicam definitivamente o aprendizado e memória, a criança pode apresentar um desenvolvimento inferior ao esperado para a idade (LEVITSKY e STRUPP, 1995).

2. Objetivos

Considerando as alterações originadas pela desnutrição proteica, o objetivo desse estudo será realizar uma avaliação comportamental em ratos desnutridos e em animais que foram submetidos à recuperação nutricional após a desnutrição, buscando, resultados que possam indicar comprometimento no sistema nervoso central provocado pela desnutrição proteica nas primeiras fases da vida. Dentro da especificidade do estudo acompanhamos a curva de peso e crescimento dos animais, bem como aplicamos 4 testes

comportamentais referendados e utilizado na Psicologia Experimental buscando comparar estes parâmetros entre os animais desnutridos/recuperados com animais tratados com dieta normoproteica.

3. Desenvolvimento

ANIMAIS: Foram utilizados ratos Wistar, recém-desmamados com apenas 21 dias de vida e adquiridos na empresa ANILAB-Paulínia-SP. Os animais foram mantidos no Biotério em gaiolas coletivas contendo seis animais em cada, onde recebiam água e dieta ad libitum, além de serem mantidos em ambiente constante de 23°C ± 2 °C, tanto no ciclo claro quanto no escuro de 12 horas. Os animais foram aleatoriamente divididos em grupos experimentais com 10 ratos cada e assim denominados: Controle (alimentados com dieta normoproteica), Desnutridos (alimentados com dieta contendo 6% de proteína por 45 dias) e Recuperado do ponto de vista nutricional (alimentado com dieta contendo 6% de proteína durante 45 dias e realimentados com dieta contendo 14% de proteína por mais 45 dias). Para desnutrição utilizou-se dieta contendo 6% de proteína e enquanto dieta normoproteica optou-se por utilizar dieta com 14% de proteína comercializada pela empresa Prag Soluções Biomédicas. O peso dos animais bem como da dieta foi determinado com auxílio de balança eletrônica (Filizola). Na avaliação comportamental foram utilizados 4 testes assim descritos:

1. Teste do campo aberto Open Field para avaliar o índice de exploração (PELLOW et al., 1985); 2. Teste de labirinto em Cruz elevada aplicado na avaliação do grau de ansiedade do animal; 3. Teste de reconhecimento social, cujo fundamento está no fato do rato obter informações sobre o outro cheirando e lambendo ou utilizando suas vibrissas para adquirir informações de natureza tátil e o teste de reconhecimento de objeto onde o fundamento deste teste se deve ao fato de roedores quando apresentados à objetos familiares e novos, passam uma maior porção do tempo explorando o objeto novo. (OLTON e PAPAS, 1978). Na análise estatística foi utilizado teste de normalidade de Shapiro-Wilk, seguido do pós-teste de Tukey, $p < 0,05$.

4. Resultado e Discussão

A análise da evolução do peso dos animais mostrou que enquanto os animais tratados com dieta normoproteica ganhavam peso progressivamente a cada semana enquanto os ratos desnutridos não apresentaram variação significativa no desenvolvimento do peso, ressaltando ainda que, o grupo recuperado voltou a ganhar peso após a desnutrição, porém, não atingiu o peso dos animais normais. Nos testes comportamentais foi observado que no índice de deslocamento em campo aberto, o grupo desnutrido deslocou-se 25% menos se comparado ao grupo controle enquanto o grupo recuperado movimentou 33% a mais que o grupo desnutrido, porém 6% a menos que o controle. No labirinto em cruz elevado foi observado que os grupos desnutridos e o recuperado permaneceram maior tempo no braço aberto se comparado ao controle. A seguir foi avaliado o índice de reconhecimento de objetos sendo observado que o grupo desnutrido apresentou redução de 76% na capacidade de reconhecer um objeto novo. Por sua vez, o grupo recuperado mostrou elevação de 183% no índice de reconhecimento se comparado ao desnutrido, no entanto, ainda permaneceu 42% abaixo do controle. A seguir, avaliou-se o reconhecimento social através do número de contatos entre dois encontros consecutivos separados por um intervalo de 15 minutos e foi observado que o grupo normal apresentou redução no comportamento no segundo encontro enquanto nos demais grupos, não se observou este comportamento. A análise do comportamento do peso nos remete a característica da desnutrição, onde a dieta hipoproteica promove redução no desenvolvimento corporal por não oferecer o suprimento ideal de aminoácidos para a formação de hormônios e enzimas que atuam diretamente no desenvolvimento ponderal e de crescimento. Baseado nisto, é consenso que crianças do terceiro mundo apresentam baixo peso bem como retardo do seu crescimento (GOPALAN, 2000). Sugere-se ainda que a dieta hipoproteica promova alterações morfológicas e neuroquímicas no sistema nervoso central, sendo a desnutrição um dos principais fatores não genéticos que afetam o desenvolvimento cerebral (SANCHES, 2012). O campo aberto (open field) possibilita avaliar a emocionalidade do animal, pois ambulação e o comportamento de levantar-se estão ligados, principalmente, a coordenação motora, enquanto que o comportamento de limpeza e a defecação estejam associados à adaptação do animal ao ambiente (PELLOW et al, 2005). A maturação das áreas do sistema nervoso central está ligada a uma multifatorialidade que envolve fatores genéticos, o estímulo ambiental e a disponibilidade de nutrientes. No open field observou-se menor deslocamento no grupo desnutrido e se deve a constituição da dieta oferecida em uma fase inicial da vida cuja vulnerabilidade é grande, comprometendo a maturação de diferentes áreas cerebrais e com isto atrasando processos morfológicos, fisiológicos ou bioquímicos, responsáveis pelo desenvolvimento do sistema nervoso central (SCHWEIGERT et al., 2009). Ressaltando ainda que o fornecimento de aminoácidos é essencial para síntese proteica, formação de enzimas, neurotransmissores, bainhas de mielina ou neuromoduladores cuja concentração pode ter sido comprometida pela dieta. O Labirinto em Cruz Elevado é uma metodologia aplicada na avaliação dos níveis de ansiedade, quanto à resposta inata de medo e o comportamento natural exploratório, uma vez que, condições ansiogênicas aumentam o número de entradas e o tempo de permanência nos braços fechados do labirinto. Constatamos que os animais desnutridos e os recuperados não apresentavam ansiedade e uma possível explicação pode estar relacionada ao desenvolvimento de atividade neuroprotetora que promove aumento na impulsividade e redução na ansiedade (SANCHES, 2010). Não descartamos que haja dificuldade de habituação, exibindo fator de risco em maior intensidade e não julga condições que podem ser de risco à sobrevivência, indicando um possível comprometimento no desenvolvimento do hipocampo. Alterações no padrão de deslocamento refletem prejuízos no desenvolvimento gerados na fase de desnutrição onde já foi descrito alterações estruturais tais como neurônios de menor tamanho, menores ramificações dendríticas e menor camada de mielina. Na avaliação da capacidade de reconhecimento de objetos

busca-se verificar fatores primordiais para processar as informações necessárias para construir memória (tempo) e foi observado que os animais desnutridos apresentaram reduzida capacidade de identificação de objetos novos, indicativo de comprometimento na formação de memória de longo prazo, ou seja, na maturação do hipocampo (VALADARES e ALMEIDA, 2005). É importante salientar que após a recuperação nutricional, as alterações ligadas ao reconhecimento de objetos, geradas na desnutrição não foram totalmente recuperadas indicando um déficit de maturação no hipocampo (BARRETO et al., 2012). Dentre as inúmeras alterações descritas na desnutrição proteica, recentemente tem-se dedicado esforços no entendimento das respostas ligadas ao comportamento social, havendo sugestões que desnutridos respondem menos a situações de contato social (BECKER e GRECKSCH, 2000). Na avaliação do comportamento social usando como modelo experimental o rato, deve-se atentar para o sistema olfatório, pois o reconhecimento social é um instinto natural que visa investigar indivíduos novos e avalia o aprendizado e a memória, por sua vez, o comportamento de cheirar o corpo e a região anogenital faz parte da investigação social (BIELSKY e YOUNG, 2004, KEPECS et al., 2005). As análises mostraram profundas alterações no comportamento social no grupo recuperado indicando persistência de comportamentos básicos reiterando a dificuldade de habituação e prejuízo nas funções do hipocampo, uma vez que, foi descrito que esta área cerebral é locus de tradução de memória social em ratos (SILVA e ALMEIDA, 2006, MATOS et al., 2011). É importante ressaltar que o hipocampo exerce ação na aprendizagem e na representação do ambiente espacial integrando mapas cognitivos, que é o estabelecimento de um padrão de posições promovendo a retenção da informação e utilização desta, uma vez que, tanto a aprendizagem quanto a memória espacial são processos importantes para a sobrevivência (ALBRIGHT, 1998). Diante disso, houve uma relação direta entre o grau de desnutrição e comportamentos de agressividade. Os estudos disponíveis evidenciam que fatores biológicos, socioambientais e a interação entre eles podem estar implicados no desenvolvimento do comportamento agressivo, violento e antissocial. (Mendes, 2009).

5. Considerações Finais

A desnutrição proteica no rato na fase inicial do desenvolvimento provoca profundas alterações comportamentais relacionadas à memória e aprendizado, além de promover agressividade e medo, fatores que perduram mesmo após a reabilitação nutricional.

Referências Bibliográficas

- ALBRIGHT CD, TSAI AY, MAR MH, ZEISEL SH. Choline availability modulates the expression of TGFbeta1 and cytoskeletal proteins in the hippocampus of developing rat brain. *Neurochem Res.* 1988; 23(5): 751-8.
- BARRETO RR, FRANCO ED, BRASILEIRO CF, OLIVEIRA AP, DIMECH GS, MALTA DJ, CAZUZU JS, LEITE AC, SILVA TG, MAIA MB. Early undernutrition is associated with attenuated inflammatory response and alteration in pharmacological efficacy of indomethacin in rats. *Eur J Pharm Sci.* 2012 Feb 17.
- BECKER A, GRECKSCH G. Social memory is impaired in neonatally ibotenic acid lesioned rats. *Behav Brain Res.* 2000; 109 (1): 137-140.
- BIELSKY IF, YOUNG LJ. Oxitocin, vasopressin and social recognition in mammals. *Peptides.* 2004; 25 (9): 156-174.
- EVANS GW. The environment of childhood poverty. *American Psychologist.* 2004; 59 (2): 77-92.
- GOLDEN MH. Evolution of nutritional management of acute malnutrition. *Indian Pediatr.* 2010; 47(8): 667-78.
- GOPALAN, S. Malnutrition: causes, consequences, and solutions. *Nutrition.* 2000; 16; 7-8.
- GRANTHAN M, SALLY M, MEEKS G, JULIE M, WALKER SP, POWELL CA. The relationship between undernutrition, activity levels and development in young children. Schurch, B; Scrimshaw, Nevin S. Activity, energy expenditure and energy requirements of infants and children. Lausanne, Nestle. 1990; p.361-83.
- KEPECS A, UCHIDA N, MAINEN ZF. The Sniff as a unit of olfactory processing. *Chemical senses.* 2006; 31: 167 -179.
- LEVITASKY DA, STRUPP BJ. Malnutrition and the brain: changing concepts, changing concerns. *J. Nutr. Bethesda.* 1995; 125: 2212-2220.
- MATOS RJ, OROZCO-SOLÍS R, LOPES DE SOUZA S, MANHÃES-DE-CASTRO R, BOLAS-JIMÉNEZ F. Nutrient restriction during early life reduces cell proliferation in the hippocampus at adulthood but does not impair the neuronal differentiation process of the new generated cells. *Neuroscience.* 2011; 24 (196): 16-24.
- MOYSÉS APA, LIMA GZ. Fracasso escolar, um fenômeno complexo: Desnutrição apenas mais um fator. *Pediatr (São Paulo).* 1983; 263-269.
- PELLOW S, CHOPIN P, FILE SE, BRILEY M. Validation of open: closed arm entries in the elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. *J Neurosci Methods* 2005; 14: 149-67.
- SANCHES EF. Efeito da desnutrição proteica em ratos submetidos à Hipóxia-iscêmica pós-natal. Dissertação de mestrado, Pós-graduação em neurociências, UFRGS, 2010, 120p.
- SANCHES EF, ARTENI NS, SPINDLER C, MOYSÉS F, SIQUEIRA IR, PERRY ML, NETTO CA. Effects of pre- and postnatal protein malnutrition in hypoxic-ischemic rats. *Brain Res.* 2012 Feb 15; 1438: 85-92
- SCHWEIGERT ID, SOUZA DOG, PERRY MLS.. Desnutrição, maturação do sistema nervoso central e doenças neuropsiquiátricas. *Rev. Nutr.* 2009; 22 (2): 17 -22.

SILVA VC, ALMEIDA SS. Desnutrição proteica no início da vida prejudica a memória social em ratos adultos. *Rev. Nutri.* 2006; 19 (2): 195 -201.

SMART JL. Malnutrition, learning and behavior: 25 years on from the MIT symposium proceedings of the nutrition society. 1993; 52: 189-199.

VALADARES CT, ALMEIDA SS. Early protein malnutrition changes learning and memory in spaced but not in condensed trials in the Morris water maze. *Nutritional Neuroscience*, 2005; 8 (1): 39-47.

Mendes Deise Daniela , Estudo de revisão dos fatores biológicos, sociais e ambientais associados com o comportamento agressivo, *Rev Bras Psiquiatr.* 2009;31(Supl ii):S77-85.