



16° Congresso de Iniciação Científica

ESTIMULAÇÃO SENSORIAL EM RATAS DURANTE FASE DE CRESCIMENTO: INFLUÊNCIA SOBRE O COMPORTAMENTO

Autor(es)

CAMILA MILIANI CAPELINI

Orientador(es)

CARLOS ALBERTO DA SILVA

1. Introdução

Vários estudos forneceram evidências sugerindo que experiências adversas na infância podem contribuir significativamente para alterações de fundo psico-patológico na vida futura. (Rinne et al., 2000). Por exemplo, pode-se citar que o maltrato infantil, o comportamento negligente por parte dos pais e a separação maternal podem aumentar a suscetibilidade às psicopatologias, principalmente no que se refere a desordens afetivas (Heim e Nemeroff, 2001).

Várias linhas de pesquisa com ratos demonstraram que a separação mãe-filhote dentro das duas primeiras semanas de vida é um evento que leva a mudança comportamental da cria, relatadas pelo estado de estresse emocional de situações manifestadas/encontradas posteriormente na vida. (Sanchez et al., 2001).

Daniels et al. (2004), submeteu ratos à separação maternal e sugeriu que o afastamento entre os pares leva ao desenvolvimento de ansiedade na idade adulta, corroborando com a sugestão de outros pesquisadores, os quais desenharam a hipótese do paradigma de separação.

Os modelos animais são fundamentais para a pesquisa, porque mimetizam algumas características elementares de um estado patológico específico, favorece sua compreensão e o desenvolvimento de terapias eficazes, fornecem uma aproximação simplificada aos complexos fatores relacionados à patologia, simplificam o sistema estudado, reduzindo o número de variáveis cujo controle é inacessível, oferecendo, assim, maior grau de controle experimental e permitindo manipulações experimentais que poderiam ser impossíveis em outras circunstâncias (Thrane et al., 1996).

A ansiedade (em grego, Anseiem) significa estrangular, sufocar, oprimir, termo que se refere à experiência subjetiva característica da condição. A desordem da ansiedade compreende um estado de apreensão que perdura por longo tempo, cuja causa não é identificada, sendo geralmente acompanhada de tensão motora e hiperatividade neurovegetativa, manifestações autonômicas, tais como, palpitação, dificuldade de respirar, transpiração, micção e aumento do peristaltismo (Pedrazza et al., 2006).

O teste de campo aberto (open field) é um teste comportamental empregado na avaliação do comportamento exploratório de ratos (Schmitt e Hiemke, 1998). Por sua vez, o labirinto em cruz elevado é considerado um instrumento válido para medir ansiedade, investigando aspectos comportamentais, fisiológicos e farmacológicos (Anseloni e Brandão, 1997). Considera-se a porcentagem da preferência (entradas e tempo gasto) pelos braços abertos e pelos fechados um índice fidedigno de ansiedade: quanto maiores os níveis de ansiedade, menor a porcentagem de entradas nos braços abertos e de tempo gasto nos mesmos (Pellow e File, 1986).

2. Objetivos

O objetivo deste estudo foi avaliar a influência da estimulação tátil de importantes áreas sensoriais do rato sobre o comportamento indicativo de ansiedade na fase adulta através dos testes de campo aberto e labirinto em cruz elevado.

3. Desenvolvimento

Utilizamos ratas Wistar na fase pós-desmame fornecidos pelo Biotério da UNIMEP. Os animais ficam desde a fase pós-gestação até o final do período de amamentação com a mãe, sendo alojados em gaiolas coletivas, em ambiente climatizado ($23\pm 2^{\circ}\text{C}$), e com ciclo claro/escuro de 12/12 h recebendo durante todo o período, água e ração à vontade. Após o desmame (21º dia) as mães foram separadas dos ratos, os quais permaneceram em gaiolas coletivas.

O estímulo foi do tipo sensorial nas principais regiões ligadas a interpretação das respostas sensitivas, através de toque nas vibrissas e membros anteriores e posteriores. Os animais foram expostos ao "open field" no início da noite, período de maior atividade da espécie, permanecendo no ambiente durante 3 minutos. O "open field" consiste em um quadrado com dimensão de 46x46x25cm, divididos em 9 quadrados com dimensão de 225cm² cada. A observação foi direcionada à movimentação exploratória e adaptação do animal ao ambiente. Como parâmetro avaliativo foi utilizado a contagem de deslocamento a partir do posicionamento de três membros do rato em um quadrado, sendo que o número total de quadrados percorridos será utilizado como índice de deambulação espontânea conforme descrito por Royce (1977).

O teste do labirinto em cruz elevado, no qual os ratos também foram expostos no início da noite, é realizado através de um aparato que consiste de duas superfícies horizontais de acrílico, medindo 50x10 cm, justapostas pelas pontas, com bordas de acrílico de 1 cm de altura, para evitar que os ratos caiam (braços abertos), cruzados em ângulo reto com duas superfícies de igual tamanho, circundadas por paredes de 40cm de altura (braços fechados) exceto na parte central onde os braços se cruzam. Todo o aparato eleva-se a 50 cm do piso.

No protocolo experimental, os animais são colocados no centro do labirinto, de frente para um dos braços fechados e, observados durante 5 minutos (MARCONDES et al., 2001). Todos os animais foram submetidos ao teste comportamental. Foi registrado o tempo de exploração dos braços abertos e fechados e o número de entradas nos braços abertos e fechados. Uma entrada é considerada quando o animal colocar as quatro patas em um braço aberto ou fechado (CRUZ et al., 1994). A porcentagem de tempo nos braços abertos é um índice de medo e ansiedade, enquanto o número de entradas nos braços fechados corresponde a um índice de atividade locomotora (CRUZ et al., 1994). A porcentagem de entradas nos braços abertos está

relacionada tanto à atividade locomotora quanto à ansiedade (MARCONDES et al., 2001).

Também foi avaliado o comportamento de conflito do animal medido pelo número de vezes que o animal se dirige ao centro do labirinto, mas não entra em outro braço. A avaliação de risco está diretamente relacionada com o nível de ansiedade. Para análise estatística foi utilizada análise de variância seguida do teste de Tukey, $p < 0,05$.

4. Resultado e Discussão

Neurofisiologistas tem demonstrado que crianças em orfanatos desenvolvem profundas alterações comportamentais, endócrinas e na homeostasia do sistema imunológico (KRAEMER, 1992). Inicialmente foi avaliada a locomoção de animais ou a reatividade emocional de ratos quando submetido ao teste de campo aberto e foi verificado que o grupo controle deslocou-se por $46 \pm 0,2$ campos enquanto o grupo estimulado deslocou-se $32 \pm 0,9$ indicando redução de 30% na atividade exploratória. O número de campos deslocados pelo grupo controle se deve ao perfil psico-emocional da espécie cuja maior emocionalidade dos animais se manifesta em ambiente amplos, onde os roedores por instinto, se locomovem perto das paredes, onde se sentem mais protegidos (DOLLINGER et al., 1980). Ao avaliar-se o deslocamento do grupo que foi estimulado verificou-se redução e pode refletir uma adaptação diferenciada, onde os animais manifestam maior segurança ao permanecer no recinto a que foram expostos, assim, as emoções básicas, são representados por redes neurais inatas que coordenam as estratégias comportamentais permitindo aos animais interagirem com mudanças contínuas no ambiente (Zangrossi et al., 1992).

A seguir foi realizada a avaliação no teste do labirinto em cruz elevada e foi verificado que o grupo controle permaneceu 54,6% do tempo no braço aberto e 45,4% no braço fechado apresentando também uma avaliação de risco de $3 \pm 0,6$ vezes indicando predomínio na permanência no braço aberto o que indica menor grau de ansiedade do animal à condição que está imposta. Considera-se a porcentagem da preferência (entradas e tempo gasto) pelos braços abertos e pelos fechados um índice fidedigno de ansiedade: quanto maiores os níveis de ansiedade, menor a porcentagem de entradas nos braços abertos e de tempo gasto nos mesmos (Pellow e File, 1986). Por outro lado, o grupo estimulado permaneceu 46% do tempo no braço aberto e 54% no braço fechado indicando que os animais estimulados apresentam um maior grau de ansiedade. Apesar da aparente simplicidade da situação de teste, muitos fatores influenciam a aversão aos braços abertos. Alguns deles são inerentes ao sujeito ou a condição de estímulo a que está submetido (Hogg, 1996).

Por fim, merece destacar que dentro da abordagem da psicobiologia é sabido que a separação mãe/filho deflagra inúmeras alterações neurais e endócrinas com grande reflexo no padrão comportamental e na elevação na concentração plasmática de corticosteróides (KUHN e SCHANBERG, 1998). É neste sentido que sugerimos que cientistas que utilizam na sua prática diária a manipulação de animais também apliquem estímulos nos grupos controle para minimizar os efeitos deflagrados na interface sensorio-comportamental.

5. Considerações Finais

O grupo de ratas que recebeu o estímulo sensorial apresentou ansiedade e mudanças comportamentais significativamente diferentes do grupo controle demonstrando uma importante interface que pode interferir

na análise experimental quando se determina que o grupo controle permanecerá em isolamento .

Referências Bibliográficas

Anseloni, V. Z., Brandão, M.L. (1997). Ethopharmacological analysis of behavior of rats using variations of the elevated plus-maze. **Behavioral Pharmacology**, 8, 533-540.

Cruz, A. P. M., Frei, F., Graeff, F. G. (1994). Ethopharmacological analysis of rat behavior on the elevated plus-maze. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, 49, 171-176.

DANIELS, W. M. U., PIETERSEN, C. Y., CARSTENS, M. E., STEIN, D. J. (2004). Maternal separation in rats leads to anxiety-like behavior and a blunted ACTH response and altered neurotransmitter levels in response to a subsequent stressor. **Metabolic Brain Disease**, 19, 3–14.

DOLLINGER MJ, HOLLOWAY WR, DENENBERG VH. The development of Behavioral competence in the rat. In. *Maternal Influences and early Behavior*, ed. RW Bell and WP Smotherman. SP Medical and Scientific Books. New York, 1980, pp.27-56.

Hogg, S. (1996). A review of the validity and variability of the elevated plus-maze as an animal model of anxiety. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 54, 21-30.

HEIM, C., NEMEROFF, C.B. (2001) . The role of childhood trauma in the neurobiology of mood and anxiety disorders: preclinical and clinical studies. **Biol Psychiatry**, 49, 1023–39.

HUHN CM, SCHANBERG SM. (1998). Responses to maternal separation: mechanism and mediators. **Int J. Devel Neuroscience**. 16(3-4):261-270.

KRAEMER G. A (1992). Psychobiologic theory of attachment. **Behav Brain Sci**. 15:493-541.

MARCONDES FK, MIGUEL KJ, MELO LL, SPADARI-BRATIFISH RC.(2001) Estrous cycle influences the response of female rats in elevated plus-maze. **Physiol Behav**. 74 (4-5): 435-440.

PEDRAZZA EL, RIBOLDI GP, PEREIRA GS, IZQUIERDO IA, BONAN CD. (2006). Habituation to an open field alters ecto-nucleotidase activities in rat hippocampal synaptosomes. **Neurosci Lett**. 11: 212-225.

Pellow, S., File, S. E. (1986). Anxiolytic and anxiogenic drug effects on exploratory activity in elevated plus-maze: a novel test of anxiety in the rat. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**, 24, 525-529.

RINNE, T., WESTENBERG, H.G.M., DEN BOER, J.A., VAN DEN BRINK, W. (2000). Serotonergic blunting to meta-chlorophenylpiperazine (m-CPP) highly correlates with sustained childhood abuse in impulsive and autoaggressive female borderline patients. **Biol. Psychiatry**, 47(6), 548–556.

Royce, J.T. On the construct validity of open field measures (1977). **Psychol Bull**, v.84, p.1098-1106.

SANCHEZ, M., LADDD, C.O., PLOTSKY, P.M., (2001). Early adverse experience as a Developmental risk factor for later psychopathology: evidence from rodent and primate models. **Dev. Psychopathol.**, 13, 419–449.

SCHIMITT U, HIEMKE C. (1998). Strain differences in open-field and elevated plus-maze behavior of rats without and with pretest handling. **Pharmacol Biochem, Behav.**, 59 (4), 807-811. THRANE PS, MAEHLEN J, STOLTENBERG L, BRANDTZAEG P. (1996). Retrograde axonal cytokine transport; a pathway for immunostimulation in the brain inducing hypoxia and sudden infant death. **Med. Hypotheses.**, 44(2), 81-84. ZANGROSSI H, FILE SE. (1992) Behavioral consequences in animal tests of anxiety and exploration of exposure to cat odor. *Brain Res, Bull.* 29 (3-4): 1289-1292.