

**UNIVERSIDADE DO EXTREMO SUL CATARINENSE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**

GUSTAVO ANTUNES MASTELLA

**EFEITO DE ESTRESSORES VARIADOS DURANTE DIFERENTES
FASES DA VIDA EM ANIMAIS: PARÂMETROS COMPORTAMENTAIS
E INFLAMATÓRIOS**

CRICIÚMA, DEZEMBRO DE 2021

GUSTAVO ANTUNES MASTELLA

**EFEITO DE ESTRESSORES VARIADOS DURANTE DIFERENTES
FASES DA VIDA EM ANIMAIS: PARÂMETROS COMPORTAMENTAIS
E INFLAMATÓRIOS**

Tese de Doutorado apresentada ao Programa
de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da
Universidade do Extremo Sul Catarinense –
UNESC.

Orientadora: Prof. Dr. Alexandra Ioppi Zugno
Co-Orientador: Prof. Dr. João Luciano de
Quevedo

CRICIÚMA, DEZEMBRO DE 2021

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação

M423e Mastella, Gustavo Antunes.

Efeito de estressores variados durante diferentes fases da vida em animais : parâmetros comportamentais e inflamatórios / Gustavo Antunes Mastella. - 2021.

91 p. : il.

Tese (Doutorado) - Universidade do Extremo Sul Catarinense, Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Criciúma, 2021.

Orientação: Alexandra Ioppi Zugno.

1. Estresse. 2. Comportamento - Modificação - Avaliação. 3. Inflamação. 4. Transtornos mentais. I. Título.

CDD 23. ed. 616.89



UNIVERSIDADE DO EXTREMO SUL CATARINENSE – UNESC
 PRÓ-REITORIA ACADÊMICA - PROACAD
 DIRETORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
 Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde (Mestrado e Doutorado)
 Recomendado pela CAPES – Homologado pelo CNE – Portaria N° 609 de 14.03.2019

PARECER

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado de Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde (Mestrado e Doutorado) reuniram-se para realizar a arguição da Tese de **DOUTORADO** apresentada pelo candidato **GUSTAVO ANTUNES MASTELLA**, sob o título **“EFEITO DE ESTRESSORES VARIADOS DURANTE A DIFERENTES FASES DA VIDA EM ANIMAIS: PARÂMETROS COMPORTAMENTAIS E INFLAMATÓRIOS”** do Curso de Pós-graduação em Ciências da Saúde da Universidade do Extremo Sul Catarinense – UNESC.

Após haver analisado o referido trabalho e arguido o candidato, os membros são de parecer pela **“APROVAÇÃO”** da Tese.

Criciúma, SC, 20 de dezembro de 2021.

Prof. Dr. EDUARDO PACHECO RICO
 Membro Relator – UNESC

Prof. Dr. RICARDO ANDREZ MACHADO DE ÁVILA
 Membro Interno – UNESC

Profa. Dra. VANESSA IRIBARREM AVENA MIRANDA
 Membro Externo – UNESC

Profa. Dra. PATRICIA FERNANDA SCHUCK
 Membro Externo – UFRJ

Alexandra Zugno

Profa. Dra. Alexandra Ioppi Zugno
Orientadora

Emilio Luiz Streck

Prof. Dr. Emilio Luiz Streck
Coordenador do PPGCS

FOLHA INFORMATIVA

A tese foi elaborada seguindo a resolução 07/2015 do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde na Universidade do Extremo Sul Catarinense – UNESC. Este trabalho foi realizado nas instalações do Laboratório de Psiquiatria Translacional do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde na Universidade do Extremo Sul Catarinense - UNESC.

AGRADECIMENTOS

Agradeço especialmente a minha família. Aos meus pais, Andréia e Miguel, aos meus irmãos Maria Julia e Arthur e Lua por todo o apoio, durante essa jornada. Aos meus avós Carmem e Valdir, que já não se encontram mais neste plano, mas meu muito obrigado por não medirem esforços por mim e por todos os ensinamentos proporcionados, as minhas madrinhas, tias e todos da família que diretamente ou indiretamente contribuíram para que eu chegasse até aqui.

A minha parceira de vida, Amanda Barcellos, muito obrigado por todo apoio, incentivo e amor durante essa caminhada que sabemos que não foi fácil, agradeço também a sua família Dona Lena, Lala, Lau, Bento, Apolo e Maria.

A minha orientadora Alexandra Ioppi Zugno, que me orienta desde os 17 anos de idade e acabou se tornando muito mais do que uma orientadora, mas sim uma amiga e conselheira, muito obrigado por me orientar e me aturar durante toda a minha jornada acadêmica, quem diria que já se passaram 10 anos.

Aos membros da Banca de qualificação e de defesa da tese, professores Felipe Dal Pizzol, Ricardo Andrez, Patricia Schuck, Vanessa Iribarrem e Eduardo Rico, meu muito obrigado por terem aceitado o convite de participar desta etapa.

A Universidade do Extremo Sul Catarinense onde iniciei a minha jornada acadêmica desde a graduação como aluno de Biomedicina e iniciação Científica até o doutorado, bem como a FAPESC pelo apoio através da concessão de bolsa de estudos.

A todos os colegas de universidade e laboratório que durante todos estes anos se fizeram presente de alguma forma. Em especial aos colegas de laboratório, Louyse, Patricia e Lara. Aos amigos de biotério e conversa, Deivid e Heron. As amigas que a universidade me deu Giulia e Bruna por todo o tempo dedicado, seja fazendo ELISA ou jogando conversa fora.

Aos meus amigos da vida, que podem não saber, mas contribuíram muito para que eu chegasse até aqui, Luiz e Thami, Possa e Carol, André e Tai.

Meu muito obrigado a todos vocês!

RESUMO

O estresse vem sendo definido como uma ameaça à homeostase de um indivíduo, podendo este ser qualquer estímulo intrínseco ou extrínseco que gere uma resposta biológica. O cérebro é assim o responsável por interpretar o que é ou não estresse. O termo “estresse”, como é usado atualmente, foi “desenvolvido” por Hans Selye em 1936, que o definiu como “a resposta inespecífica do corpo a qualquer demanda de mudança”. Este por sua vez acaba sendo uma condição natural da vida, no entanto, a possível exposição a diferentes experiências, isto é, condições que afetam o desvio da homeostase durante etapas críticas do desenvolvimento podem contribuir para a vulnerabilidade e aparecimento de transtornos. Diferentes tipos de estressores podem ser observados durante todo o desenvolvimento da vida, desde a gestação até a vida adulta. Diante disso o estudo teve como objetivo avaliar os efeitos de diferentes estímulos estressores em animais durante diferentes fases da vida, expondo os animais a estressores durante as fases gestacional (infecção materna), pós-natal (privação materna) e fase adulta (Estresse Crônico Moderado). Estes animais foram avaliados em diferentes parâmetros comportamentais como, atividade locomotora, teste de consumo de sacarose, teste de nado forçado e *Splash test*. Avaliou-se também as citocinas IL-4, IL-10, IL-1 β e TNF- α nas estruturas cerebrais: córtex frontal, hipocampo e estriado, da prole adulta machos e fêmeas com 60 e 80 dias de vida. Pode se concluir que estes estressores são capazes de induzir comportamentos do tipo ansiolítico como o aumento da atividade locomotora através de protocolo de ativação imune materna utilizando da Poly:IC e demonstrando comportamentos do tipo depressivo, através dos protocolos de PM e ECM. Assim como também mostrou alterações em estruturas cerebrais para parâmetros pró-inflamatórios, IL-1 β e TNF- α , e alterações em parâmetros anti-inflamatórios, IL-4 e IL-10, em diferentes idades da vida.

Palavras chaves: Estressores, comportamento, inflamação, transtornos psiquiátricos.

ABSTRACT

Stress has been defined as a threat to an individual's homeostasis, which can be any intrinsic or extrinsic stimulus that generates a biological response, with the brain being responsible for interpreting what is or is not stress. Stress may often not be a useful term for scientists because it is a highly subjective phenomenon that defies any definition. The term "stress", as it is used today, was 'developed' by Hans Selye in 1936, who defined it as 'the body's non-specific response to any demand for change'. Stress, in turn, ends up being a natural condition of life, however, the possible exposure to different experiences, that is, conditions that affect the deviation of homeostasis during critical developmental windows, can contribute to the vulnerability and appearance of disorders. Different types of stressors can be observed throughout the development of life, from pregnancy to adulthood. Therefore, the study aimed to evaluate the effects of different stressors in animals during different stages of life, exposing the animals to stressors during the gestational (maternal infection), postnatal (maternal deprivation) and adult (Moderate Chronic Stress) stages. These animals were evaluated in different behavioral parameters such as locomotor activity, sucrose consumption test, forced swim test and *Splash* test and evaluated the cytokines IL-4, IL-10, IL-1B and TNF-a in brain structures: cortex frontal, hippocampus and striatum of adult offspring males and females aged 60 and 80 days. This study investigated behavioral and inflammatory parameters in animals that were exposed to different stressors at different ages of life. It can be concluded that these stressors are capable of inducing anxiolytic-like behaviors such as increased locomotor activity through a maternal immune activation protocol using Poly:IC and demonstrating depressive-like behaviors through the PM and ECM protocols. It also showed changes in brain structures for pro-inflammatory parameters, IL-1b and TNF-a, and changes in anti-inflammatory parameters, IL-4 and IL-10, at different ages of life.

Key words: Stressors, behavior, inflammation, psychiatric disorders.

LISTA DE ABREVIATURAS

ACTH - Hormônio adrenocorticotrófico
AIM – Ativação Imune materna
ANOVA – Análise de Variância
CONCEA – Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal
ECM – Estresse Crônico Moderado
HPA – Hipotálamo-Hipófise-Adrenal
IFN – Interferons
IL – Interleucina
IL-10 - Interleucina 10
IL-4 – Interleucina 4
IL-6 – Interleucina 6
LPS – Lipopolissacarídeo
OMS – Organização Mundial da Saúde
PM – Privação Materna
Poly:IC – Ácido Poliriboinosínico-Poliribocítidílico
SNC – Sistema Nervoso Central
TBS- Tampão Fosfato Salina
TDM – Transtorno Depressivo Maior
TEPT – Transtorno de estresse pós-traumático
TLR7 – Receptor Toll-Like 7
TLR9 – Receptor Toll-Like 9
TrkB – Receptor tirosina Quinase
UNESC- Universidade do Extremo Sul Catarinense

LISTA DE FIGURAS

| | |
|--|----|
| FIGURA 1: DESENHO EXPERIMENTAL. FONTE: O AUTOR..... | 33 |
| FIGURA 2: LINHA DO TEMPO RESUMIDA DEMONSTRANDO AS FASES DE INDUÇÃO DOS DIFERENTES ESTRESSORES. | 35 |
| FIGURA 3: REPRESENTA A DISTÂNCIA TOTAL PERCORRIDA EM CM PELA PROLE DE RATOS MACHOS NOS DIAS 30(A), 45(B), 60(C) E 80(D) EXPOSTOS A DIFERENTES ESTRESSORES (POLY:IC, PRIVAÇÃO MATERNA E ESTRESSE CRÔNICO MODERADO). OS VALORES FORAM EXPRESSOS COMO MÉDIA ± EPM (ERRO PADRÃO DA MÉDIA), SENDO CONSIDERADOS SIGNIFICATIVOS VALORES DE $P \leq 0,05$, $N=8$. * DIFERENTE DO GRUPO CONTROLE, SEGUNDO ANOVA DE UMA VIA; FONTE: DADOS DO AUTOR, 2021..... | 42 |
| FIGURA 4: REPRESENTA A DISTÂNCIA TOTAL PERCORRIDA EM CM PELA PROLE DE RATAS FÊMEAS NOS DIAS 30(A), 45(B), 60(C) E 80(D) EXPOSTOS A DIFERENTES ESTRESSORES (POLY:IC, PRIVAÇÃO MATERNA E ESTRESSE CRÔNICO MODERADO). OS VALORES FORAM EXPRESSOS COMO MÉDIA ± EPM (ERRO PADRÃO DA MÉDIA), SENDO CONSIDERADOS SIGNIFICATIVOS VALORES DE $P \leq 0,05$, $N=8$. * DIFERENTE DO GRUPO CONTROLE, SEGUNDO ANOVA DE UMA VIA; FONTE: DADOS DO AUTOR, 2021..... | 43 |
| FIGURA 5: REPRESENTA A O TEMPO TOTAL EM SEGUNDOS DE IMOBILIDADE DA PROLE DE RATOS MACHOS NOS DIAS 30(A), 45(B), 60(C) E 80(D) EXPOSTOS A DIFERENTES ESTRESSORES (POLY:IC, PRIVAÇÃO MATERNA E ESTRESSE CRÔNICO MODERADO). OS VALORES FORAM EXPRESSOS COMO MÉDIA ± EPM (ERRO PADRÃO DA MÉDIA), SENDO CONSIDERADOS SIGNIFICATIVOS VALORES DE $P \leq 0,05$, $N=8$. * DIFERENTE DO GRUPO CONTROLE, SEGUNDO ANOVA DE UMA VIA; FONTE: DADOS DO AUTOR, 2021. | 44 |
| FIGURA 6: REPRESENTA A O TEMPO TOTAL EM SEGUNDOS DE IMOBILIDADE DA PROLE DE RATAS FÊMEAS NOS DIAS 30(A), 45(B), 60(C) E 80(D) EXPOSTOS A DIFERENTES ESTRESSORES (POLY:IC, PRIVAÇÃO MATERNA E ESTRESSE CRÔNICO MODERADO). OS VALORES FORAM EXPRESSOS COMO MÉDIA ± EPM (ERRO PADRÃO DA MÉDIA), SENDO CONSIDERADOS SIGNIFICATIVOS VALORES DE $P \leq 0,05$, $N=8$. * DIFERENTE DO GRUPO CONTROLE, SEGUNDO ANOVA DE UMA VIA; FONTE: DADOS DO AUTOR, 2021. | 45 |
| FIGURA 7: REPRESENTA A O TEMPO TOTAL EM SEGUNDOS DE ESCALADA DA PROLE DE RATOS MACHOS NOS DIAS 30(A), 45(B), 60(C) E 80(D) EXPOSTOS A DIFERENTES ESTRESSORES (POLY:IC, PRIVAÇÃO MATERNA E ESTRESSE CRÔNICO MODERADO). OS VALORES FORAM EXPRESSOS COMO MÉDIA ± EPM (ERRO PADRÃO DA MÉDIA), SENDO CONSIDERADOS SIGNIFICATIVOS VALORES DE $P \leq 0,05$, $N=8$. * DIFERENTE DO GRUPO CONTROLE, SEGUNDO ANOVA DE UMA VIA; FONTE: DADOS DO AUTOR, 2021. | 46 |
| FIGURA 8: REPRESENTA A O TEMPO TOTAL EM SEGUNDOS DE ESCALADA DA PROLE DE RATAS FÊMEAS NOS DIAS 30(A), 45(B), 60(C) E 80(D) EXPOSTOS A DIFERENTES ESTRESSORES (POLY:IC, PRIVAÇÃO MATERNA E ESTRESSE CRÔNICO MODERADO). OS VALORES FORAM EXPRESSOS COMO MÉDIA ± EPM (ERRO PADRÃO DA MÉDIA), SENDO CONSIDERADOS SIGNIFICATIVOS VALORES DE $P \leq 0,05$, $N=8$. * DIFERENTE DO GRUPO CONTROLE, SEGUNDO ANOVA DE UMA VIA; FONTE: DADOS DO AUTOR, 2021. | 47 |
| FIGURA 9: REPRESENTA A O TEMPO TOTAL EM SEGUNDOS DE NADO DA PROLE DE RATOS MACHOS NOS DIAS 30(A), 45(B), 60(C) E 80(D) EXPOSTOS A DIFERENTES ESTRESSORES (POLY:IC, PRIVAÇÃO MATERNA E ESTRESSE CRÔNICO MODERADO). OS VALORES FORAM EXPRESSOS COMO MÉDIA ± EPM (ERRO PADRÃO DA MÉDIA), SENDO CONSIDERADOS SIGNIFICATIVOS VALORES DE $P \leq 0,05$, $N=8$. * DIFERENTE DO GRUPO CONTROLE, SEGUNDO ANOVA DE UMA VIA; FONTE: DADOS DO AUTOR, 2021..... | 48 |
| FIGURA 10: REPRESENTA A O TEMPO TOTAL EM SEGUNDOS DE NADO DA PROLE DE RATAS FÊMEAS NOS DIAS 30(A), 45(B), 60(C) E 80(D) EXPOSTOS A DIFERENTES ESTRESSORES (POLY:IC, PRIVAÇÃO MATERNA E ESTRESSE CRÔNICO MODERADO). OS VALORES FORAM EXPRESSOS COMO MÉDIA ± EPM (ERRO PADRÃO DA MÉDIA), SENDO CONSIDERADOS SIGNIFICATIVOS VALORES DE $P \leq 0,05$, $N=8$. * DIFERENTE DO GRUPO CONTROLE, SEGUNDO ANOVA DE UMA VIA; FONTE: DADOS DO AUTOR, 2021..... | 49 |
| FIGURA 11: REPRESENTA A O TEMPO TOTAL EM SEGUNDOS DO TEMPO DE LIMPEZA DA PROLE DE RATOS MACHOS NOS DIAS 30(A), 45(B), 60(C) E 80(D) EXPOSTOS A DIFERENTES ESTRESSORES (POLY:IC, | |

PRIVAÇÃO MATERNA E ESTRESSE CRÔNICO MODERADO). OS VALORES FORAM EXPRESSOS COMO MÉDIA \pm EPM ((ERRO PADRÃO DA MÉDIA), SENDO CONSIDERADOS SIGNIFICATIVOS VALORES DE $P \leq 0,05$, $N=8$. * DIFERENTE DO GRUPO CONTROLE, SEGUNDO ANOVA DE UMA VIA; FONTE: DADOS DO AUTOR, 2021.

- 50
- FIGURA 12: REPRESENTA A O TEMPO TOTAL EM SEGUNDOS DO TEMPO DE LIMPEZA DA PROLE DE RATAS FÊMEAS NOS DIAS 30(A), 45(B), 60(C) E 80(D) EXPOSTOS A DIFERENTES ESTRESSORES (POLY:IC, PRIVAÇÃO MATERNA E ESTRESSE CRÔNICO MODERADO). OS VALORES FORAM EXPRESSOS COMO MÉDIA \pm EPM ((ERRO PADRÃO DA MÉDIA), SENDO CONSIDERADOS SIGNIFICATIVOS VALORES DE $P \leq 0,05$, $N=8$. * DIFERENTE DO GRUPO CONTROLE, SEGUNDO ANOVA DE UMA VIA; FONTE: DADOS DO AUTOR, 2021.
- 51
- FIGURA 13: REPRESENTA O CONSUMO DE ÁGUA X SACAROSE EM ML DA PROLE DE RATOS MACHOS NOS DIAS 30(A), 45(B), 60(C) A DIFERENTES ESTRESSORES (POLY:IC, PRIVAÇÃO MATERNA). OS VALORES FORAM EXPRESSOS COMO MÉDIA \pm EPM ((ERRO PADRÃO DA MÉDIA), SENDO CONSIDERADOS SIGNIFICATIVOS VALORES DE $P \leq 0,05$, $N=8$. * DIFERENTE DO GRUPO CONTROLE, SEGUNDO ANOVA DE UMA VIA; FONTE: DADOS DO AUTOR, 2021.
- 53
- FIGURA 14: REPRESENTA O CONSUMO DE ÁGUA X SACAROSE EM ML DA PROLE DE RATAS FÊMEAS DIAS 30(A), 45(B), 60(C) A DIFERENTES ESTRESSORES (POLY:IC, PRIVAÇÃO MATERNA). OS VALORES FORAM EXPRESSOS COMO MÉDIA \pm EPM ((ERRO PADRÃO DA MÉDIA), SENDO CONSIDERADOS SIGNIFICATIVOS VALORES DE $P \leq 0,05$, $N=8$. * DIFERENTE DO GRUPO CONTROLE, SEGUNDO ANOVA DE UMA VIA; FONTE: DADOS DO AUTOR, 2021.
- 55
- FIGURA 15: REPRESENTA OS NÍVEIS DE IL-1B EM BULBO, CÓRTEX, HIPOCAMPO E ESTRIADO EM FÊMEAS (A) E MACHOS (B) COM 60 DIAS. * DIFERENÇA SIGNIFICATIVA EM RELAÇÃO AO CONTROLE DA MESMA ESTRUTURA. OS VALORES FORAM EXPRESSOS COMO MÉDIA \pm EPM ((ERRO PADRÃO DA MÉDIA), SENDO CONSIDERADOS SIGNIFICATIVOS VALORES DE $P \leq 0,05$, $N=8$. * DIFERENTE DO GRUPO CONTROLE, SEGUNDO ANOVA DE UMA VIA; FONTE: DADOS DO AUTOR, 2021.
- 56
- FIGURA 16: REPRESENTA OS NÍVEIS DE IL-1B EM BULBO, CÓRTEX, HIPOCAMPO E ESTRIADO EM FÊMEAS (A) E MACHOS (B) COM 80 DIAS. * DIFERENÇA SIGNIFICATIVA EM RELAÇÃO AO CONTROLE DA MESMA ESTRUTURA. OS VALORES FORAM EXPRESSOS COMO MÉDIA \pm EPM ((ERRO PADRÃO DA MÉDIA), SENDO CONSIDERADOS SIGNIFICATIVOS VALORES DE $P \leq 0,05$, $N=8$. * DIFERENTE DO GRUPO CONTROLE, SEGUNDO ANOVA DE UMA VIA; FONTE: DADOS DO AUTOR, 2021.
- 57
- FIGURA 17: REPRESENTA OS NÍVEIS DE IL-4 EM BULBO, CÓRTEX, HIPOCAMPO E ESTRIADO EM FÊMEAS (A) E MACHOS (B) COM 60 DIAS. * DIFERENÇA SIGNIFICATIVA EM RELAÇÃO AO CONTROLE DA MESMA ESTRUTURA. OS VALORES FORAM EXPRESSOS COMO MÉDIA \pm EPM ((ERRO PADRÃO DA MÉDIA), SENDO CONSIDERADOS SIGNIFICATIVOS VALORES DE $P \leq 0,05$, $N=8$. * DIFERENTE DO GRUPO CONTROLE, SEGUNDO ANOVA DE UMA VIA; FONTE: DADOS DO AUTOR, 2021.
- 57
- FIGURA 18: REPRESENTA OS NÍVEIS DE IL-4 EM BULBO, CÓRTEX, HIPOCAMPO E ESTRIADO EM FÊMEAS (A) E MACHOS (B) COM 80 DIAS. * DIFERENÇA SIGNIFICATIVA EM RELAÇÃO AO CONTROLE DA MESMA ESTRUTURA. TESTE ANOVA ONE WAY, SEGUIDO PELO TESTE POST HOC DE TUKEY QUANDO $P > 0,05$. OS VALORES FORAM EXPRESSOS COMO MÉDIA \pm EPM ((ERRO PADRÃO DA MÉDIA), SENDO CONSIDERADOS SIGNIFICATIVOS VALORES DE $P \leq 0,05$, $N=8$. * DIFERENTE DO GRUPO CONTROLE, SEGUNDO ANOVA DE UMA VIA; FONTE: DADOS DO AUTOR, 2021.
- 58
- FIGURA 19: REPRESENTA OS NÍVEIS DE IL-10 EM BULBO, CÓRTEX, HIPOCAMPO E ESTRIADO EM FÊMEAS (A) E MACHOS (B) COM 60 DIAS. * DIFERENÇA SIGNIFICATIVA EM RELAÇÃO AO CONTROLE DA MESMA ESTRUTURA. TESTE ANOVA ONE WAY, SEGUIDO PELO TESTE POST HOC DE TUKEY QUANDO $P > 0,05$. OS VALORES FORAM EXPRESSOS COMO MÉDIA \pm EPM ((ERRO PADRÃO DA MÉDIA), SENDO CONSIDERADOS SIGNIFICATIVOS VALORES DE $P \leq 0,05$, $N=8$. * DIFERENTE DO GRUPO CONTROLE, SEGUNDO ANOVA DE UMA VIA; FONTE: DADOS DO AUTOR, 2021.
- 58
- FIGURA 20: REPRESENTA OS NÍVEIS DE IL-10 EM BULBO, CÓRTEX, HIPOCAMPO E ESTRIADO EM FÊMEAS (A) E MACHOS (B) COM 80 DIAS. * DIFERENÇA SIGNIFICATIVA EM RELAÇÃO AO CONTROLE DA MESMA ESTRUTURA. TESTE ANOVA ONE WAY, SEGUIDO PELO TESTE POST HOC DE TUKEY QUANDO $P > 0,05$. OS VALORES FORAM EXPRESSOS COMO MÉDIA \pm EPM ((ERRO PADRÃO DA MÉDIA), SENDO CONSIDERADOS

- SIGNIFICATIVOS VALORES DE $P \leq 0,05$, $N=8$. * DIFERENTE DO GRUPO CONTROLE, SEGUNDO ANOVA DE UMA VIA; FONTE: DADOS DO AUTOR, 2021..... 59
- FIGURA 21: NÍVEIS DE TNF-A EM BULBO, CÓRTEX, HIPOCAMPO E ESTRIADO EM FÊMEAS (A) E MACHOS (B) COM 60 DIAS. * DIFERENÇA SIGNIFICATIVA EM RELAÇÃO AO CONTROLE DA MESMA ESTRUTURA. TESTE ANOVA ONE WAY, SEGUIDO PELO TESTE POST HOC DE TUKEY QUANDO $P > 0,05$. OS VALORES FORAM EXPRESSOS COMO MÉDIA \pm EPM ((ERRO PADRÃO DA MÉDIA), SENDO CONSIDERADOS SIGNIFICATIVOS VALORES DE $P \leq 0,05$, $N=8$. * DIFERENTE DO GRUPO CONTROLE, SEGUNDO ANOVA DE UMA VIA; FONTE: DADOS DO AUTOR, 2021. 60
- FIGURA 22: NÍVEIS DE TNF-A EM BULBO, CÓRTEX, HIPOCAMPO E ESTRIADO EM FÊMEAS (A) E MACHOS (B) COM 80 DIAS. * DIFERENÇA SIGNIFICATIVA EM RELAÇÃO AO CONTROLE DA MESMA ESTRUTURA. TESTE ANOVA ONE WAY, SEGUIDO PELO TESTE POST HOC DE TUKEY QUANDO $P > 0,05$. OS VALORES FORAM EXPRESSOS COMO MÉDIA \pm EPM ((ERRO PADRÃO DA MÉDIA), SENDO CONSIDERADOS SIGNIFICATIVOS VALORES DE $P \leq 0,05$, $N=8$. * DIFERENTE DO GRUPO CONTROLE, SEGUNDO ANOVA DE UMA VIA; FONTE: DADOS DO AUTOR, 2021. 60

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Cronograma dos agentes estressores que foram utilizados durante o tratamento. (33)

SUMÁRIO

| | |
|--|----|
| 1. INTRODUÇÃO | 17 |
| 1.1 DEFINIÇÃO DE ESTRESSE E SUA INFLUÊNCIA DURANTE A VIDA..... | 17 |
| 1.1 ESTÍMULOS ESTRESSORES DURANTE O PERÍODO GESTACIONAL | 19 |
| 1.2 ESTÍMULOS ESTRESSORES DURANTE O PERÍODO PÓS-NATAL | 25 |
| 1.3 ESTÍMULOS ESTRESSORES DURANTE A VIDA ADULTA | 28 |
| 2. JUSTIFICATIVA | 31 |
| 3. OBJETIVO GERAL | 32 |
| 3.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS | 32 |
| 4. MATERIAIS E MÉTODOS | 32 |
| 4.1 ESTRESSORES | 35 |
| 4.1.1 Injeção Poly:IC | 35 |
| 4.1.2 Protocolo Privação Materna | 35 |
| 4.1.3 Protocolo Estresse Crônico Moderado | 36 |
| 4.2 TESTES COMPORTAMENTAIS | 36 |
| 4.2.1 Consumo de Sacarose | 36 |
| 4.2.2 Teste da Atividade Locomotora | 36 |
| 4.2.3 Teste do Nado Forçado | 37 |
| 4.2.4 <i>Splash</i> Teste | 37 |
| 4.3 DOSAGEM DE CITOCINAS | 38 |
| 4.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA | 38 |
| 5. RESULTADOS | 40 |
| 5.1 ATIVIDADE LOCOMOTORA | 40 |
| 5.1.1 Atividade Locomotora Machos | 40 |
| | 42 |
| 5.1.2 Atividade Locomotora Fêmeas | 42 |
| 5.2 TESTE DO NADO FORÇADO | 43 |
| 5.2.1 Tempo de Imobilidade Machos | 43 |
| 5.2.2 Tempo de Imobilidade Fêmeas | 44 |
| 5.2.3 Tempo de Escalada Machos | 45 |
| 5.2.6 Tempo de Nado Fêmeas | 48 |

| | |
|--|----|
| 5.3 <i>SPLASH</i> TESTE | 49 |
| 5.3.1 Tempo de Limpeza Machos | 49 |
| 5.3.2 Tempo de Limpeza Fêmeas | 51 |
| 5.4 TESTE DO CONSUMO DE SACAROSE | 52 |
| 5.4.1 Consumo de Água x Sacarose Machos | 52 |
| 5.4.2 Consumo de água X sacarose Fêmeas | 54 |
| 6. DISCUSSÃO | 61 |
| 7. CONCLUSÃO | 72 |
| ANEXO | 91 |

1. INTRODUÇÃO

1.1 DEFINIÇÃO DE ESTRESSE E SUA INFLUÊNCIA DURANTE A VIDA

O estresse vem sendo definido como uma ameaça à homeostase de um indivíduo podendo ele ser qualquer estímulo intrínseco ou extrínseco que gere uma resposta biológica (Banny et al. 2013, Yaribeygi et al. 2017), sendo ainda o cérebro o responsável a interpretar o que é ou não estresse (Oken et al. 2015). Estresse pode muitas vezes não ser um termo útil para cientistas pois é um fenômeno altamente subjetivo que desafia qualquer definição. O termo “estresse”, como é usado atualmente, foi “desenvolvido” por Hans Selye em 1936, o qual o definiu como “a resposta inespecífica do corpo a qualquer demanda de mudança”.

Ao longo da vida, indivíduos estão sujeitos a vivenciar inúmeras situações adversas. Estas adversidades podendo então assumir a forma de diferentes eventos tais como, um evento estressor, um episódio traumático ou uma adversidade crônica. Os eventos estressores incluem as perturbações do cotidiano, como: dificuldades financeiras, problemas no trabalho e divórcio. Os eventos traumáticos são aquelas experiências críticas e extremamente dolorosas fisicamente e/ou emocionalmente, como: estar em uma guerra, sofrer um acidente ou presenciar um desastre natural. Já as adversidades crônicas incluem situações por um período prolongado, como: maus-tratos, negligência infantil, abuso sexual, abuso físico, abuso emocional e violência doméstica (Felitti et al. 1998, Viola et al. 2011, Angeler et al. 2018). Estas adversidades podem ter impacto na estrutura e função cerebral, podendo resultar no desenvolvimento de diferentes transtornos psiquiátricos, como o transtorno de estresse pós-traumático, depressão, ansiedade, autismo e esquizofrenia (Wu et al. 2013).

Na maioria das espécies, alguns períodos são considerados de maior risco e sensibilidade sendo eles os períodos fetal, perinatal e pós-natal, porque são caracterizados por extensa plasticidade neuronal, organização sináptica e atividade de remodelação. O desenvolvimento cerebral pode ser determinado por fatores genéticos, eventos ambientais e epigenéticos. A alta plasticidade neural durante esses estágios, faz com que os mecanismos de maturação cerebral respondam e se adaptem a fatores externos e internos (Kerman et al. 2015). No entanto, como o aumento da neuroplasticidade também implica em uma alta sensibilidade à

remodelação através de fatores ambientais, a exposição a adversidades durante o desenvolvimento pós-natal precoce pode levar a alterações neuroquímicas, neuroendócrinas e comportamentais persistentes (Simpson and Kelly 2012).

O estresse por sua vez é considerado uma condição natural da vida, no entanto, a possível exposição a diferentes experiências, isto é, condições que afetam o equilíbrio da homeostase durante janelas críticas do desenvolvimento podem contribuir para a vulnerabilidade e aparecimento de transtornos (Banny et al. 2013). Estas adversidades precoces podem afetar a suscetibilidade a distúrbios psiquiátricos futuramente na vida, porém dependendo de muitas características externas diferentes, como a natureza dos estressores, tempo de exposição durante o desenvolvimento, gravidade da exposição e fatores biológicos como sexo, idade e polimorfismos genéticos predisponentes em genes associados a regulação do humor, resposta ao estresse e processos inflamatórios (Jawahar et al. 2015).

As características dos estressores em geral é o que determina a magnitude e a duração das respostas ao estresse. A intensidade do estressor por exemplo, é um importante fator na determinação da trajetória geral da resposta do indivíduo, onde estressores de alta intensidade e longa duração (por exemplo, estímulos inflamatórios) normalmente causam respostas prolongadas. Uma única injeção de lipopolissacarídeo (LPS), uma endotoxina ou interleucina 1- β (IL-1 β), uma citocina, causam aumento dos níveis de ACTH prolongando também a sua duração (pico de elevação em 1–2 horas, 4 horas até o retorno aos níveis basais) e corticosterona (pico de elevação em 1 hora, sustentado por até 6 horas) (Schotanus et al. 1993, Turnbull and Rivier 1999). Respostas mais curtas são normalmente observadas após a exposição a estressores psicológicos, tais como um ambiente ou situação estranha ou ameaçadora. A contenção, um estressor comumente usado em roedores, produz um pico inicial de ACTH (normalmente 15-20 após o início do estresse; as respostas de corticosterona de pico ocorrem normalmente entre 30-60 min e terminam dentro de 2-3 horas após o início (Vahl et al. 2005, Choi et al. 2007).

A distinção entre estressores homeostáticos e psicológicos foi observada por vários investigadores. Desse modo recebeu assim várias designações diferentes: físico vs. psicológico (ou emocional) (Dayas et al. 2001, Jacobson 2005) interoceptivo vs. exteroceptivo (Sawchenko et al. 2000); sistêmico vs. processivo (Herman and Cullinan 1997); e mais recentemente, reativo vs. antecipatório (Herman et al. 2003).

Além dos fatores ambientais e genéticos, as alterações epigenéticas induzidas por experiências de vida precoce também são um mecanismo-chave dos efeitos duradouros desses eventos na suscetibilidade à doença (Jawar et al., 2013; Jawar et al., 2015). Estudos em modelos animais forneceram importantes informações sobre como a manipulação do ambiente inicial pode induzir efeitos neurobiológicos e comportamentais crônicos, buscando assim estabelecer uma conexão entre as experiências iniciais e processos posteriores na vida (Boksa.,2010)

Durante a vida pós-natal, particularmente nos dias pós-natal iniciais (1 a 15 dias de vida), a prole possui um perfil comportamental limitado devido à sua imaturidade. Além disso, para um indivíduo recém-nascido, sua mãe é quase exclusivamente o principal elemento ambiental com o qual interage e, portanto, tem uma função crítica em seu desenvolvimento. A contribuição materna através do comportamento e do cuidado orientado para o filhote regula a interação entre mãe e filhote, sendo este vínculo necessário para que o cérebro do filhote se desenvolva adequadamente (Abelaira et al., 2013)

Em geral, quanto mais "severo" o regime de estresse, uma maior resposta do organismos é necessária (Natelson et al. 1988).

1.1 ESTÍMULOS ESTRESSORES DURANTE O PERÍODO GESTACIONAL

O desenvolvimento do cérebro ocorre desde a gestação até a maturação do cérebro adulto, por volta dos 25 anos (Giedd 2009). Durante esse desenvolvimento, há os chamados períodos críticos, nos quais alguns sistemas neuronais estão mais vulneráveis (Meyer and Feldon 2010, Marco et al. 2011, Andersen et al. 2018). Desta forma, experiências estressoras nestes períodos podem ter consequências deletérias

para o neurodesenvolvimento e a saúde mental futura do indivíduo (Boulanger-Bertolus et al. 2018).

O adequado desenvolvimento fetal durante a gestação é de suma importância, visto que a presença de algum fator estressor na fase pré-natal pode levar a sérias consequências ao longo da vida na prole (Nunes and Madhi 2015). De fato, evidências apontam que a infecção viral ou bacteriana durante o 1º ou 2º trimestre de gravidez está fortemente associada à predisposição de transtornos afetivos e psiquiátricos na prole (Boksa 2010).

A etiologia dos transtornos neurodesenvolvimentais como esquizofrenia, autismo, ansiedade e depressão envolve alterações na formação cerebral (Brandon and Sawa 2011), assim, eventos adversos no útero podem influenciar os processos críticos do desenvolvimento do cérebro dos filhos e predispor o aparecimento de doenças mentais na idade jovem-adulta (Brown, 2006). Um dos mais significativos fatores de risco ambientais principalmente para a esquizofrenia e autismo é a infecção no 1º (Brown 2006, Penner and Brown 2007) e 2º trimestre de gestação (Clarke et al. 2006), a qual pode afetar o desenvolvimento cerebral, devido a liberação de hormônios relacionados ao estresse, hipóxia, hipertermia ou desnutrição e desencadear, por conseguinte, o aumento de citocinas pró-inflamatórias na mãe, placenta e no feto (Patterson 2007).

Com base nisso, modelos animais têm sido estabelecidos a fim compreender a relação entre infecção materna e transtornos psiquiátricos. Déficits relacionados a estes transtornos são observados na prole adulta de modelos animais, incluindo alterações comportamentais (atividade locomotora e inibição do reflexo de sobressalto), anormalidades em regiões cerebrais e o desequilíbrio em sistemas de neurotransmissores (Liu et al. 2013).

Dos agentes estressores durante o período pré-natal destaca-se a PolyI:C caracteriza-se como um análogo viral sintético de cadeia dupla de RNA que leva à produção pronunciada, mas por tempo limitado de citocinas pró-inflamatórias e estimula reações fisiológicas induzidas por infecção viral sendo, por este motivo, amplamente usada para mimetizar a Ativação imune materna (AIM) em modelos animais (Alexopoulou et al. 2001).

De modo geral, a administração de PolyI:C em ratas *Wistar* durante a gravidez tem levado ao comprometimento da prole, indicando um efeito transplacentário da AIM no feto em desenvolvimento (Boksa 2010, Meyer and Feldon

2010). Assim, ambas as infecções, tanto por LPS quanto por PolyI:C, aumentam a liberação de citocinas pró-inflamatórias na mãe (placenta e líquido amniótico) e no cérebro do feto, sendo que a PolyI:C ainda induz uma resposta aguda a infecções virais, aumentando consideravelmente a liberação de interferons (IFN): IFN α e IFN γ (Winter et al. 2009). Desse modo, pelo fato de as citocinas direcionarem a resposta imune inata, foi atribuído a estas o papel de candidatas à interrupção do desenvolvimento cérebro-fetal (Smith et al. 2007, Reisinger et al. 2015).

É sabido que fatores estressores durante a gestação, como a presença de infecções, deficiência de nutrientes, uso de drogas, aumentam o risco de parto prematuro e podem também comprometer a saúde materna, o neurodesenvolvimento do feto e predispor o aparecimento de transtornos psiquiátricos na vida jovem-tardia da prole (Dammann et al. 2002). Além disso, ativadores imunológicos e inflamatórios, tais como PolyI:C, IFN- γ e LPS, que são induzidos por eventos estressores especialmente em períodos críticos (fase gestacional) e por acontecimentos diversos ao longo da vida, ativam a microglia no sistema nervoso central (SNC).

O desenvolvimento adequado da placenta é essencial durante a gravidez, uma vez que essa constitui a interface entre as circulações materno-fetal, sendo fundamental para a nutrição e oxigenação do feto. Assim, durante a vida fetal ocorre o chamado período crítico do desenvolvimento, época de fragilidade na qual os tecidos e os órgãos se desenvolvem, em especial o cérebro (Nunes and Madhi 2015). Neste sentido, a plasticidade neuronal permite que o cérebro se adapte estruturalmente perante mudanças ambientais ou agentes estressores, sendo a resposta imune periférica, um estressor neuro etiológico para este processo (Dantzer et al. 2008).

A ativação microglial tem sido associada com doenças do cérebro (Najjar et al. 2013), visto que a microglia é uma célula imune residente no SNC, ativada em resposta à lesão cerebral (Stertz et al. 2013). Assim, a ativação da microglia libera citocinas pró-inflamatórias e radicais livres que podem causar degeneração neuronal, anormalidades na substância branca e diminuição da neurogênese materna e fetal. Esta interação, neurônio-microglia, pode levar a lesão e perda neuronal, sendo inclusive um importante fator envolvido na fisiopatologia dos transtornos neurodesenvolvimentais (Monji et al. 2009, Réus et al. 2015).

As citocinas são peptídeos produzidos e liberados pelas células imunes, capazes de interferir no metabolismo de sistemas de neurotransmissores, nas

atividades neuroendócrina e neuronal, na regulação do crescimento e da proliferação das células da glia (Hava et al. 2006). São produzidas por inúmeros tipos de células no sítio da lesão, bem como por células do sistema imunológico, através da ativação de proteinoquinas ativadas por mitógenos (de Oliveira et al. 2011). Em geral, as citocinas atuam no organismo, a fim de combater diversos patógenos, sendo que no sistema imune reconhecem partículas invasoras e ainda participam de respostas adaptativas ou reações homeostáticas (Shavit et al. 1998, Aderem and Ulevitch 2000). Estes peptídeos estão implicados tanto na resposta imune como na mediação de vários eventos do SNC, tendo uma ação imuno-reguladora vital nas funções e sobrevivência neuronal (Vizi and Kiss 1998).

Deste modo, a ativação das citocinas pró-inflamatórias como o fator de necrose tumoral (TNF- α), a (IL-1 β) e a interleucina-6 (IL-6) pode estar associada à infecção intra-uterina, parto prematuro, infecções neonatais, deficiência nutricional materna e dano cerebral neonatal. No cérebro, essas proteínas são expressas nas células gliais e nos neurônios. Em adição à sua função na resposta imune, estes mediadores modulam a função e o desenvolvimento neuronal, representando um papel crucial no neurodesenvolvimento (Hava et al. 2006). A IL-1 β , IL-6 e TNF- α são consideradas pró-inflamatórias pelo fato de aumentar a resposta imunitária à infecção e inflamação, por promover o recrutamento de leucócitos até os locais de inflamação e/ou pela ativação inflamatória celular (Potvin et al. 2008). O TNF- α está envolvido na regulação do crescimento dos neuritos (Golan et al. 2004), na sobrevivência neuronal (Barker et al. 2001) e na regulação da expressão do receptor AMPA (Beattie Eric et al. 2002). A IL-1 β e o TNF- α também estão relacionados à regulação da plasticidade sináptica (Butler et al., 2004). As citocinas anti-inflamatórias, IL-4 e IL-10, se destacam por contribuir para atenuar a resposta imune e inflamatória (Potvin et al. 2008), enquanto o fator de transformação de crescimento-beta (TGF- β) é considerado uma das citocinas mais importantes para o crescimento celular, diferenciação e regulação da função imune (Graciarena 2019).

Em resumo, as citocinas regulam a inflamação e coordenam as respostas inata e adaptativa do sistema imunológico (Miller et al. 2011, Müller et al. 2015), sendo importantes mediadores da comunicação entre o SNC e o sistema imune, o que pode ter implicações para a psiquiatria clínica (Kapczinski et al. 2010, Kapczinski et al. 2011). De fato, os processos imunológicos inflamatórios têm sido fortemente implicados nos mecanismos fisiopatológicos da esquizofrenia, depressão, transtorno

bipolar, dentre outros (Francesconi et al. 2011, Kapczinski et al. 2011).

Está bem descrito que a administração de LPS ou PolyI:C leva à ativação da microglia e ainda induz a inflamação via fator de transcrição nuclear- κ B (NF κ B) no cérebro do feto (Saadani-Makki et al. 2008). Como consequência da AIM, há um aumento da inflamação no útero materno e a consequente perda de células precursoras de oligodendrócitos, hipomielinização e neuroinflamação materno-fetal, o que pode acarretar em alterações comportamentais, cognitivas e neuroquímicas na mãe e na vida tardia da prole (Svedin et al. 2005, Monji et al. 2009). A AIM com PolyI:C pode também comprometer o desenvolvimento do sistema límbico e do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HPA) através da liberação de corticotrofina materna e no cérebro-fetal, resultando em comportamento ansiogênico e depressivo, além de déficits de atenção e aprendizagem, particularmente, na vida jovem-adulta da prole (Enayati et al. 2012).

Ademais, a diferença de sexos entre homens e mulheres (machos e fêmeas), tem despertado a atenção no mundo científico (Hegarty et al. 2017), uma vez que gêneros distintos podem diferir quanto à sensibilidade das áreas cerebrais em desenvolvimento e aos hormônios do estresse e manifestar diferentes respostas mediante a exposição a uma mesma situação estressora materna (Weinstock 2007, Schwendener et al. 2009). Sabe-se que até a última década, animais fêmeas raramente eram utilizadas em pesquisas científicas, exceto para fins de reprodução sexual ou investigações específicas, devido ao ciclo estral, que por sua vez poderia interferir nos parâmetros comportamentais (Simpson and Kelly 2012). Todavia, evidências têm comprovado diferenças cerebrais e comportamentais nos gêneros, tanto nos estudos clínicos quanto pré-clínicos (Weinstock 2007, Schwendener et al. 2009, Hegarty et al. 2017). Os hormônios sexuais são capazes de influenciar na aprendizagem e memória, podendo afetar a capacidade de respostas aos tratamentos (Gobinath et al. 2017), sendo relatado que homens apresentam uma maior incidência e predisposição para o desenvolvimento de autismo, transtorno de hiperatividade e atenção e tem maior habilidade na memória espacial (Wooten et al. 2004, Ramtekkar et al. 2010, Rucklidge 2010). Enquanto isso, mulheres parecem mais predispostas ao desenvolvimento de depressão e doença de Alzheimer e têm maior habilidade na memória verbal (Werling and Geschwind 2015).

Dados da literatura apontam ainda que diferentes gêneros (masculino e feminino) podem manifestar distintas respostas imunes. Klein (2012) verificou que o

gene do receptor Toll-like 7 (TLR7) pode sofrer inativação e ser mais expresso em mulheres do que em homens. Assim, a exposição ao TLR7 aumentou os níveis de interferon- α (IFN- α) em mulheres quando comparado aos homens em culturas celulares sanguíneas mononucleares (Pisitkun et al. 2006). Porém, a ativação de receptor toll-like 9 (TLR9) por resposta viral, aumentou os níveis de IL-10 em homens quando comparado às mulheres (Torcia et al. 2012).

Estudos demonstram que o comprometimento comportamental e cognitivo materno e na prole jovem-adulta de mães expostas à AIM pode ser resultante da exposição aguda e crônica de citocinas pró-inflamatórias induzidas por agentes estressores (Meyer and Feldon 2010, Garay et al. 2013), as quais levam a alterações neuroquímicas e morfológicas. Adicionalmente, a desregulação dos sistemas dopaminérgico (Meyer and Feldon 2010), serotoninérgico (Fatemi et al. 2008), (Meyer and Feldon 2010) e GABAérgico foi observada em descendentes de AIM (Samuelsson et al. 2006). Morfologicamente, a AIM causa lesões corticais cerebrais durante a fase neonatal (Girard et al. 2010), e aumento da apoptose em ambos os neurônios e células da glia em várias regiões cerebrais (Boksa 2010). No mais, sabe-se que a neurogênese é controlada por fatores intrínsecos e extrínsecos, incluindo estas citocinas que têm um papel crítico nos processos cognitivos, tais como plasticidade sináptica e neuromodulação (Balu and Lucki 2009). Diante disso, as interleucinas (IL-1 β , IL-6 e TNF- α) podem comprometer a neurogênese adulta e, geralmente, encontram-se elevadas pela AIM (Spooren et al. 2011, Gonzalez-Perez et al. 2012).

Todavia, de que forma e por quais mecanismos a AIM pode impactar nestes parâmetros comportamentais e neuroquímicos no cérebro da prole pós-natal ainda deve ser pesquisado, a fim de permitir uma maior compreensão destas alterações conjuntas.

Como consequência a este estressor, há um aumento da inflamação no útero, perda de células precursoras de oligodendrócitos, hipomielinização e neuroinflamação no feto, acarretando alterações comportamentais, cognitivas e neuroquímicas na vida tardia da prole (Svedin et al. 2005). Além disso, o tratamento com PolyI: C gestacional pode comprometer o desenvolvimento do sistema límbico e do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HPA), este eixo sendo citado como um dos responsáveis pelo desenvolvimento da resiliência (Meyer and Feldon 2010). Através da liberação de corticotrofina no cérebro-fetal, resultando em comportamento ansiogênico e depressivo, além de déficits de aprendizagem e atenção na vida tardia

da prole. Ademais, os gêneros (masculino e feminino) podem diferir quanto à sensibilidade das áreas cerebrais em desenvolvimento e aos hormônios do estresse e manifestar diferentes respostas mediante a exposição de uma mesma situação estressora (Weinstock 2007, Schwendener et al. 2009).

1.2 ESTÍMULOS ESTRESSORES DURANTE O PERÍODO PÓS-NATAL

As experiências durante o período neonatal têm um forte impacto no neurodesenvolvimento (Rana et al. 2015), por ser um período altamente sensível aos estímulos ambientais (Meyer and Feldon 2010, Marco et al. 2011). Uma das manipulações experimentais mais bem documentadas para analisar a influência de experiências adversas no início da vida é a privação materna (PM) em ratos (Lehmann et al. 2002, Abelaira et al. 2013).

Durante a história evolutiva da humanidade, a sobrevivência de um recém-nascido dependia do contato materno íntimo e contínuo (Császár-Nagy and Bókkon 2018). Os primeiros dias de vida moldam as respostas comportamentais, emocionais e fisiológicas na idade adulta (Kaffman and Meaney 2007). Sendo assim, eventos adversos no início da vida, particularmente interrupções na relação mãe-filho, causam distúrbios agudos e podem levar a efeitos duradouros. Esses efeitos, tanto agudos quanto de longa duração, se desenvolvem devido à ativação repetida de mediadores de estresse, como glicocorticóides e catecolaminas, que foram descritos por (McEwen 2003) como carga alostática. A carga alostática afeta o comportamento e a neuroquímica ao longo da vida do mamífero, e as consequências de uma carga excessiva no comportamento animal podem ser consideradas modelos para algumas doenças psiquiátricas.

Como o contato próximo com a mãe é muito importante, a separação materna precoce resulta em uma forte reação de protesto e desespero do neonato (Hofer 2005) e precipita uma carga alostática considerável, resultando em distúrbios agudos das funções fisiológicas e neuro-hormonais com consequências importantes

para o comportamento social e características neuroquímicas na idade adulta. A presença da mãe e seu comportamento criam um ambiente no qual muitos fatores podem influenciar especificamente o desenvolvimento do neonato (Morgan et al. 2011).

Independentemente das diferenças transculturais, a negligência ou maus-tratos de crianças no início do desenvolvimento períodos aumentam o risco de ansiedade, depressão e psicoses na idade adulta (Kaufman and Charney , Mullen et al. 1996, Bebbington et al. 2004, Gilbert et al. 2009), que muitas vezes são resistentes ao tratamento (Nemeroff et al. 2003). Os mecanismos envolvidos na influência do cuidado materno distorcido sobre o desenvolvimento neuropsicofisiológico de uma criança e as psicopatologias resultantes na idade adulta, não são ainda totalmente reconhecidos.

O rato neonatal depende da mãe para termorregulação, nutrição, estimulação da micção e proteção para as duas primeiras semanas de vida (Sánchez et al. 2001), particularmente porque seu cérebro no nascimento é aproximadamente equivalente a um cérebro humano em idades gestacionais 23-24 semanas. A entrada sensorial tátil da mãe, particularmente o contato pele a pele, aumenta nos filhotes as concentrações de ocitocina hipotalâmica (Kojima et al. 2012), que são necessárias para a expressão da preferência filial de amontoamento (Kojima and Alberts 2011), um elemento de reconhecimento da mãe (Alberts 2007). Além disso, lamber e cuidar dos filhotes durante os primeiros dez dias de vida estimulam o desenvolvimento hipocampal da prole, o aprendizado espacial e a memória (Liu et al. 2000) e a reduzir o hipotálamo-hipófise-adrenal (HPA) e respostas do eixo ao estresse (Liu et al. 1997). A presença de estresse é evidenciada não só por evidências comportamentais (imobilidade e vocalização) e a elevação dos hormônios do estresse (Stahl et al. 2002), mas também porque os efeitos comportamentais distantes do manuseio são prevenidos por tratamento ansiolítico (D'Amato et al. 1998). A privação materna (PM) completa (remoção de filhotes e criá-los artificialmente com alimentação intragástrica) causa déficits na aprendizagem social, mas não espacial (Lévy et al. 2003).

Quando o cuidado materno é interrompido no início da vida, uma série de alterações fisiológicas são desencadeadas. Estas levam a efeitos que podem trazer consequências duradouras na vida do indivíduo, como o aumento do comportamento ansioso (Lippmann et al. 2007), comportamentos do tipo depressivo (Gardner et al.,

2005), hiperatividade do eixo HPA (Plotsky and Meaney 1993) e alterações de citocinas (Marco et al. 2011).

O comportamento dos genitores durante a vida pós-natal, como lambe e arrumar os filhotes, amamentar e deixar o ninho, geralmente ocorre em um padrão e sequência que são adaptáveis ao relacionamento entre pais e filhos. Comportamentos maternos ativos, já foram identificados como modeladores da reatividade do eixo HPA (Suchecki et al. 1993). Ademais ((Davis et al. 2017), mostraram que a fragmentação, ou desorganização abreviada desses comportamentos de cuidado, resultam em déficits cognitivos e aumenta comportamentos semelhantes à ansiedade mais tarde na vida.

A PM oferece uma combinação de estressores cruciais para o modelo animal de estresse precoce. A falta de cuidados maternos, a falta de nutrientes e a diminuição da temperatura corporal (Marco et al. 2011) constituem uma boa estratégia para revelar mecanismos neurobiológicos complexos causadas pela exposição a estressores (Teicher et al. 2006, Cirulli et al. 2009, Nestler and Hyman 2010, Branchi and Cirulli 2014).

Além disso, as relações entre os sistemas nervoso central, imunológico e endócrino tem sido um importante foco da pesquisa psiquiátrica, particularmente em depressão e esquizofrenia (Steinberg et al. 2015). Estudos vem apontando para uma associação entre moléculas imunes e comportamentos do tipo depressivo em ratos submetidos ao modelo de PM (Réus et al. 2013).

Vários quadros teóricos foram propostos para examinar como as experiências desafiadoras do início da vida - em particular aquelas que envolvem a figura do apego - levam a efeitos difusos e duradouros mais tarde na vida. Como a vida pós-natal precoce é caracterizada pela estreita relação entre filhote e mãe (o aspecto mais importante do ambiente durante as primeiras semanas após o nascimento), o vínculo mãe-filho tem sido o foco de todos os modelos conceituais. A “hipótese da mediação materna” (Marco et al. 2011, Marco et al. 2013) postula que, de todas as pistas ambientais iniciais, o cuidado materno é fundamental para direcionar o desenvolvimento infantil. De fato, a mãe produz pistas do futuro ambiente e, conseqüentemente, os filhotes começarão a regular suas estratégias comportamentais consistentes com esses sinais (Marco et al. 2013). No entanto, é difícil imaginar (e anteriormente rejeitado) que algum efeito aparentemente pequeno no início da vida pode impactar o indivíduo ao longo da vida.

1.3 ESTÍMULOS ESTRESSORES DURANTE A VIDA ADULTA

Com o aumento da pressão competitiva na sociedade moderna, os indivíduos que sofrem de Transtorno Depressivo Maior estão aumentando rapidamente (Mitchell and Ronzio 2011). Até o momento, foi observado uma grande variedade de diferenças individuais no enfrentamento ao estresse, e apenas uma fração dos indivíduos expostos a eventos estressantes da vida desenvolvem distúrbios psiquiátricos, como TDM, ansiedade e TEPT. O estresse leve imprevisível e crônico (UCMS) é um procedimento bem estabelecido para induzir um comportamento depressivo e semelhante ao da ansiedade em roedores (Willner 2016). O estresse agudo, pelo contrário, demonstrou melhorar a neurogênese em hipocampo de ratos adultos e melhorar também a memória (Katz 2011). Assim, os efeitos gerais do estresse podem ser altamente dependentes do contexto e variar com a intensidade, duração ou previsibilidade. Estressores graves e incontroláveis são prejudiciais; no entanto, o estresse tolerável com intensidade leve e de duração apropriada pode promover a saúde.

No modelo de Estresse Crônico Moderado (ECM), ratos ou camundongos são expostos cronicamente a um bombardeio constante de microestressores imprevisíveis, resultando no desenvolvimento de uma infinidade de mudanças comportamentais, incluindo resposta diminuída às recompensas, um correlato comportamental do sintoma clínico central da depressão, a anedonia. Na versão canônica do modelo, a sensibilidade da recompensa é rastreada por testes periódicos nos quais o animal tem acesso a uma solução doce altamente preferida ou a uma escolha entre uma solução doce e água pura. O consumo ou a preferência pelo doce (recompensa) diminui ao longo de semanas de exposição, mas pode ser restaurado aos níveis normais por tratamento crônico com medicamentos antidepressivos.

O principal sistema responsivo ao estresse é o eixo HPA. O papel crítico deste sistema nos efeitos do ECM é demonstrado por experimentos que mostram que o desenvolvimento de um fenótipo depressivo durante a exposição ao ECM

(diminuição da preferência pela sacarose e outras alterações comportamentais típicas) é bloqueado pelo antagonista do receptor de glicocorticóide mifepristona (Wu et al. , 2007), o inibidor da síntese de corticosterona metirapona (Thompson et al. 2015) ou adrenalectomia (Goshen and Yirmiya 2009). Por outro lado, os efeitos comportamentais e fisiológicos do ECM podem ser imitados pela administração exógena crônica de corticosterona (Kvarta et al. 2015), demonstrando que a atividade elevada do eixo HPA é necessária e suficiente para os efeitos comportamentais do ECM. Embora o ECM normalmente aumente os níveis plasmáticos de corticosterona (Goshen and Yirmiya 2009, Kvarta et al. 2015), também há muitos relatos de CMS induzindo anedonia e outros comportamentos semelhantes aos depressivos na ausência de um comportamento detectável com a elevação da corticosterona plasmática (Willner et al. 1987, Remus et al. 2015). A diferença entre ECM, que induz anedonia, e administração repetida do mesmo estressor, é que sob a apresentação repetida do mesmo estressor, a atividade HPA se habitua, enquanto sob ECM o HPA agudo a resposta a cada novo estressor permanece intacta (Radley and Sawchenko 2015).

Talvez mais importante do que a neurogênese para os estágios iniciais de recuperação do ECM é o efeito da sinaptogênese. Os antidepressivos, tanto inibidores da absorção de monoamina quanto inibidores da enzima monoamina oxidase (MAO), restauram a árvore dendrítica atrofiada dos neurônios do hipocampo em animais submetidos a ECM (Bessa et al. 2009, Licznarski and Duman 2013). Este efeito está associado a uma recuperação da função sináptica (Kallarackal et al. 2013) e uma restauração do volume do hipocampo (Bessa et al. 2009). O crescimento neuronal é promovido pelo BDNF e outras neurotrofinas e as respostas comportamentais ao tratamento antidepressivo crônico (em outros modelos experimentais) são bloqueadas em camundongos mutantes com comprometimento total ou específico do prosencéfalo de BDNF ou de seu receptor, TrkB (Saarelainen et al. 2003, Monteggia et al. 2004).

A importância da anedonia como sintoma central da depressão, tanto no passado como nos tempos de hoje (American Psychiatric Association, 2013), incentivou a pesquisa a desenvolver e validar um modelo de anedonia induzida por estresse como uma ferramenta inicialmente, para estudar os mecanismos de ação antidepressiva de fármacos.

Evidências indicam que o estresse psicológico é um importante fator contribuinte para o desenvolvimento de doenças depressivas em parte devido a uma desregulação no eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HPA) (Barden 2004). A disfunção do eixo HPA é um mecanismo importante que tem sido associado às alterações comportamentais e fisiológicas observadas na depressão e outros transtornos como também em dislipidemia, obesidade e diabetes. Vários modelos pré-clínicos de depressão foram desenvolvidos na tentativa de replicar o mecanismo de atividade do eixo HPA alterado, esses modelos fornecem um meio validado para investigar as alterações comportamentais, neurológicas e fisiológicas associadas ao estresse crônico e agudo em animais.

O importante papel do eixo HPA foi enfatizado após a descoberta do papel anti-inflamatório do cortisol e, posteriormente, androgênios supra-renais (Suchecki et al. 1993, Barden 2004). Isso foi apoiado por estudos que mostram que os defeitos do eixo HPA podem até induzir doenças inflamatórias crônicas em modelos animais (Thomas G et al., 2010; Andreas Y et al.,2019). Logo ficou claro que o eixo HPA desempenhava um papel importante em doenças reumáticas crônicas humanas, como a artrite reumatoide (Jurueña et al. 2004, DeMorrow 2018).

2. JUSTIFICATIVA

O estresse ao longo da vida vem sendo caracterizado como um fator de risco para o desenvolvimento de transtornos psiquiátricos, especialmente ansiosos e depressivos, e até mesmo a sua causa. Portanto, o estudo das alterações bioquímicas no cérebro e comportamentais induzidas por um estressor tendo como ferramentas, os modelos animais de ansiedade e depressão.

Os eventos estressores são complexos e multifatoriais, e associam-se a fatores relacionados ao sexo, hereditariedade e ao ambiente. Dessa forma, estudos que investiguem a influência destes fatores nas respostas emocionais ao estresse são necessários, para assim avançarmos no entendimento das psicopatologias relacionadas ao estresse.

Biomarcadores obtidos a partir de sangue podem fornecer informações úteis de diagnóstico, podendo ser medidas em muitos contextos clínicos, incluindo doenças cardiovasculares, câncer e transtornos psiquiátricos. Eles também podem ser usados em ciência básica para avaliar o "estado" de um organismo, incluindo o grau de inflamação, ou a presença de um estresse.

3. OBJETIVO GERAL

Avaliar os efeitos de diferentes estímulos estressores em animais durante as diferentes fases da vida.

3.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Expor os animais a estressores durante a fase gestacional (infecção materna).
- Expor os animais a estressores pós-natal (privação materna).
- Expor os animais a estressores na fase adulta (Estresse Crônico Moderado).
- Avaliar parâmetros comportamentais relacionados com sintomas tipo depressão/ansiedade através da atividade locomotora.
- Avaliar parâmetros comportamentais relacionados com sintomas tipo depressão/ansiedade através do teste de consumo de sacarose.
- Avaliar parâmetros comportamentais relacionados com sintomas tipo depressão/ansiedade através do teste de nado forçado.
- Avaliar parâmetros comportamentais relacionados com sintomas tipo depressão/ansiedade através do teste de *Splash*.
- Avaliar os níveis de citocinas (IL-4, IL-10, IL-1 β e TNF- α) nas estruturas cerebrais: córtex frontal, hipocampo e estriado, da prole adulta machos e fêmeas com 60 e 80 dias de vida.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

Todos os procedimentos experimentais foram realizados de acordo com as recomendações internacionais para o cuidado e o uso de animais de laboratório, além das recomendações para o uso de animais do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), lei Arouca nº 11.794/2008. Este projeto foi aprovado pela Comissão de Ética para o Uso de Animais (CEUA) da Universidade do Extremo Sul Catarinense (UNESC), seguido do protocolo 010/2018-2 (Anexo). O experimento utilizou um total de 40 ratas fêmeas *Wistar* para acasalamento, obtidos do Centro de Experimentação Animal da UNESC. Os animais foram alojados em caixas de polietileno, com comida padrão e água controlada e mantidos em um ciclo de 12 horas claro - escuro (a luz é ligada às 7h da manhã), com temperatura controlada de $23 \pm 1^\circ\text{C}$, o desenho experimental do trabalho está descrito na Figura 1.

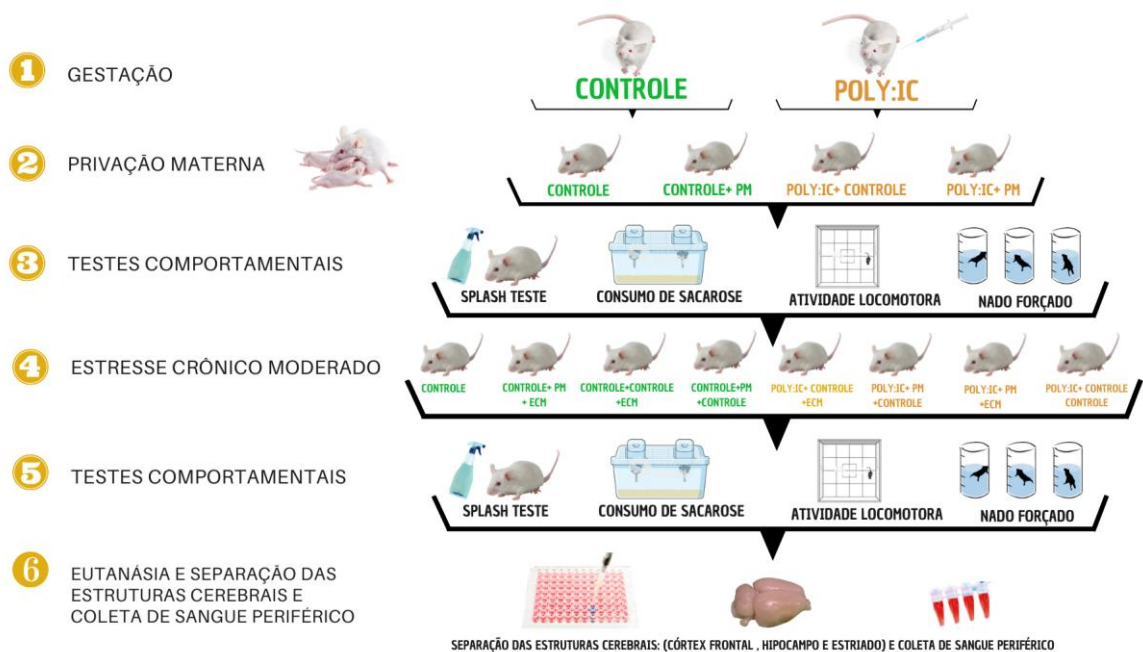


Figura 1: Desenho experimental. Fonte: o autor.

As injeções de Poly:IC e salina intravenosa (i.v) foram realizadas no 9º dia de gestação sendo considerado então o primeiro estressor para os animais dos grupos 2 e 4, após o nascimento os animais dos grupos 3 e 4 foram expostos ao protocolo de privação materna que consiste em separar os filhotes da mãe 3 horas por dia, durante os primeiros 10 dias de vida. Enquanto isso, os animais dos grupos 1 e 2 permaneceram sob os cuidados maternos integralmente. O desmame ocorrerá no

21º dia de vida, após o desmame a prole de machos e fêmeas serão então separadas em caixas de cinco animais, e a cada 15 dias (dias 30, 45, 60 e 80) serão realizados os testes comportamentais de consumo de sacarose e atividade locomotora. A partir do 60º dia de vida os animais então serão divididos novamente para que possa ser iniciado o protocolo de Estresse Crônico Moderado que ocorrerá durante um período de 20 dias.

Cronograma dos agentes estressores que foram utilizados durante o tratamento.

| Dia de tratamento | Estressor utilizado | Duração |
|--------------------------|--------------------------------|----------------|
| Dia 1 | Privação de água | 24 h |
| Dia 2 | Privação de comida | 24 h |
| Dia 3 | Isolamento | 24 h |
| Dia 4 | Isolamento | 24 h |
| Dia 5 | Isolamento | 24 h |
| Dia 6 | Exposição à luz estroboscópica | 3 h |
| Dia 7 | Privação de comida | 24 h |
| Dia 8 | Privação de água | 10 min |
| Dia 9 | Contenção | 1 h |
| Dia 10 | Privação de água | 24 h |
| Dia 11 | Nenhum estressor | - |
| Dia 12 | Nenhum estressor | - |
| Dia 13 | Contenção + frio | 2 h |
| Dia 14 | Exposição à luz estroboscópica | 2.5 h |
| Dia 15 | Privação de comida | 24 h |
| Dia 16 | Contenção | 15 min |
| Dia 17 | Isolamento | 24 h |

| | | |
|--------|------------------|------|
| Dia 18 | Isolamento | 24 h |
| Dia 19 | Isolamento | 24 h |
| Dia 20 | Privação de água | 24 h |

Tabela 1: Cronograma dos agentes estressores que foram utilizados durante o tratamento.



Figura 2: Linha do tempo resumida demonstrando as fases de indução dos diferentes estressores.

4.1 ESTRESSORES

4.1.1 Injeção Poly:IC

As ratas gestantes foram divididas em dois grupos: controle e Poly:IC conforme mencionado acima. Sabe-se que o período de gestação para o rato e o ser humano é aproximadamente de 20 dias e 40 semanas, respectivamente. Portanto, cada dia de gestação de uma rata pode ser equivalente a um período de 2 semanas de gestação de um humano. Dada à importância desta analogia, pode-se concluir que a duração ou a gravidade da exposição ao estresse ou infecção durante a gravidez e o tempo de uma resposta inflamatória ou do estresse são fundamentais para determinar a natureza dos efeitos comportamentais ou neuroquímicos na prole em seus estágios de vida jovem-adulta (Enayati et al., 2012).

4.1.2 Protocolo Privação Materna

No primeiro dia pós-natal os filhotes foram privados da mãe durante 3 horas por dia, durante os 10 primeiros dias de vida. A privação consiste em retirar a mãe da caixa e manter os filhotes na caixa original, para ficarem na presença do odor materno.

Os animais não privados permaneceram imperturbáveis na gaiola original com sua mãe. As caixas em ambos os grupos só foram trocadas no 11º dia após o período pré-natal. Os ratos foram desmamados apenas no 21º dia pós-natal e machos e fêmeas foram utilizados para o estudo.

4.1.3 Protocolo Estresse Crônico Moderado

Ao atingirem 60 dias de vida, os animais então foram expostos ao protocolo de estresse crônico moderado, este protocolo consiste em aplicar diferentes estressores aos animais em dias alternados levando assim a alterações comportamentais e neuroquímicas nestes animais, o protocolo deste experimento ocorreu durante 20 dias corridos, onde os estressores para cada dia já foram descritos na Tabela 1.

4.2 TESTES COMPORTAMENTAIS

4.2.1 Consumo de Sacarose

Foi realizado o TCS, como descrito por Eagle, Mazei-Robison e Robison (2016), para avaliar a anedonia. O teste consisti em um protocolo de livre escolha entre água e sacarose, na concentração de 1%. O consumo das duas soluções será medido através da diferença de volume das garrafas, em dois dias alternados. A cada 24 horas, as garrafas foram invertidas para evitar efeitos de preferência lateral (Bolaños et al., 2003). O consumo de líquidos nos dias será somado e a preferência pela sacarose sobre a água será calculada pela seguinte fórmula: $[\text{consumo de sacarose} / \text{consumo total de líquido (sacarose + água)}] \times 100$ (Akinfiresoye e Tizabi, 2013).

4.2.2 Teste da Atividade Locomotora

Os animais foram submetidos a análise de sua capacidade locomotora / exploratória, uma vez que este teste é considerado um modelo sensível à atividade ansiolítica (Prut e Belzunc, 2003). O teste será realizado em uma sala escura com luz branda apenas na caixa, onde os ratos machos e fêmeas foram individualmente

inseridos em uma caixa de acrílico com dimensões (80 x 80 x 30 cm). Utilizando do equipamento da Insight (Ribeirão Preto SP).

4.2.3 Teste do Nado Forçado

Para avaliar sintomas semelhantes à depressão em animais submetidos à PM, foi usado o teste do nado forçado, esse teste é frequentemente usado em modelo animal para pesquisar sinais de depressão. Este teste consiste em dois dias de procedimentos no qual cada rato é posto em um cilindro com água a 23 °C, a água deve ser suficiente para o animal não conseguir apoiar o rabo no fundo do cilindro. No primeiro dia, os ratos foram forçados a nadar por 15 minutos. No segundo dia (24 horas após o teste), cada animal é novamente forçado a nadar durante 5 minutos. Foram avaliados os parâmetros de imobilidade, nos quais se incluem imobilidade total ou movimentos para manter a cabeça fora da água sem intenção de escapar (Porsolt et al. 1977).

4.2.4 *Splash* Teste

O *Splash* teste tem por finalidade avaliar o comportamento anedônico dos animais. Os animais foram colocados individualmente no campo aberto (*open field*) e o tempo gasto pelo animal com seu autocuidado, tais como o tempo gasto em lambidas (*grooming*) e o número de lambidas, foi cronometrado por um período de 5 minutos. Estes parâmetros representam um índice de autocuidado (*grooming*) e comportamentos motivacionais, considerados comparáveis a alguns sintomas depressivos, como o comportamento anedônico (Willner 2005). Para isso, foi esguichada uma solução de sacarose a 10% sobre o dorso do rato, macho ou fêmea, antes de colocá-lo no campo aberto. A solução de sacarose foi levemente esguichada e espalhada manualmente pelo dorso, para que o animal não respingue nas paredes ao se sacudir, enquanto estiver dentro do campo aberto (Willner 2005). Depois de aplicar a solução de sacarose, o tempo total gasto em lambidas, bem como a quantidade de lambidas foi registrado. Foram consideradas lambidas em todas as partes do animal, inclusive nas patas.

4.3 DOSAGEM DE CITOCINAS

Os níveis de citocinas foram determinados no bulbo, córtex frontal, hipocampo e estriado. As estruturas cerebrais foram homogeneizadas em solução tampão de fosfato (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EUA), centrifugadas a 3.000 g por 5 min e o sobrenadante foi utilizado para as determinações. Os níveis das citocinas em tecidos cerebrais foram determinados utilizando kits ELISA comerciais de (Thermo Fisher, Invitrogen Inc., EUA) seguindo as recomendações do fabricante. Os níveis de proteína foram determinados usando o método de Lowry (1951), com albumina de soro bovino usada como padrão.

4.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

O teste comportamental do campo aberto, será avaliado separadamente através da análise de variância (ANOVA) de uma via, corrigido pelo teste robusto de Welch, quando o teste de Levene foi $p < 0,05$, seguido pelo *post hoc* Tukey ou C de Dunnet, quando significativo.

Em geral, os dados foram expressos como média (\pm) e erro padrão da média (média \pm E.P.M). A significância estatística foi considerada para valores de $p \leq 0,05$. O teste de normalidade *Shapiro-Wilk* foi realizado para confirmar se os dados possuíam uma distribuição normal. As análises estatísticas foram realizadas através do programa *Statistical Package for the Social Science* (SPSS versão 20.0) e utilizou-se o programa *GraphPad Prism 5* para a elaboração dos gráficos.

Os dados coletados foram analisados com auxílio do software IBM *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS) versão 21.0. As variáveis quantitativas foram expressas por meio de mediana e amplitude interquartil (com correção de Tukey) quando não apresentaram distribuição Normal e por média e desvio padrão quando seguiram esse tipo de distribuição. As variáveis qualitativas foram expressas por meio de frequência e porcentagem.

Os testes estatísticos foram realizados com um nível de significância $\alpha = 0,05$ e, portanto, confiança de 95%. A distribuição dos dados quanto à normalidade foi avaliada por meio da aplicação do teste de Shapiro-Wilk ($n < 50$) e Kolmogorov-Smirnov ($n \geq 50$). A investigação da variabilidade das variáveis quantitativas entre as

categorias das variáveis qualitativas foi investigada por meio da aplicação do teste de Levene.

A comparação da média da atividade locomotora entre as categorias das variáveis qualitativas politômicas dos grupos (nos casos em que foi observada distribuição Normal) foi realizada por meio da aplicação da análise de variância de uma via, ANOVA, seguida do post hoc teste de Tukey quando observada significância estatística. Nos casos em que a variável quantitativa não apresentou distribuição Normal, foi empregado o teste H de Kruskal-Wallis seguido do post hoc teste de Dunn quando observada significância estatística.

A comparação pareada da média da atividade locomotora entre as categorias das variáveis qualitativas politômicas dos grupos (nos casos em que foi observada distribuição Normal) foi realizada por meio da aplicação da ANOVA de medidas repetidas, seguida do post hoc de Sidak quando observada significância estatística. Nos casos em que a variável quantitativa não apresentou distribuição Normal, foi empregado o teste de Friedman.

A comparação pareada da média da atividade locomotora entre as categorias das variáveis qualitativas dicotômica dos grupos (nos casos em que foi observada distribuição Normal) foi realizada por meio da aplicação do teste t para amostras repetidas. Nos casos em que a variável quantitativa não apresentou distribuição Normal, foi empregado o teste de Wilcoxon.

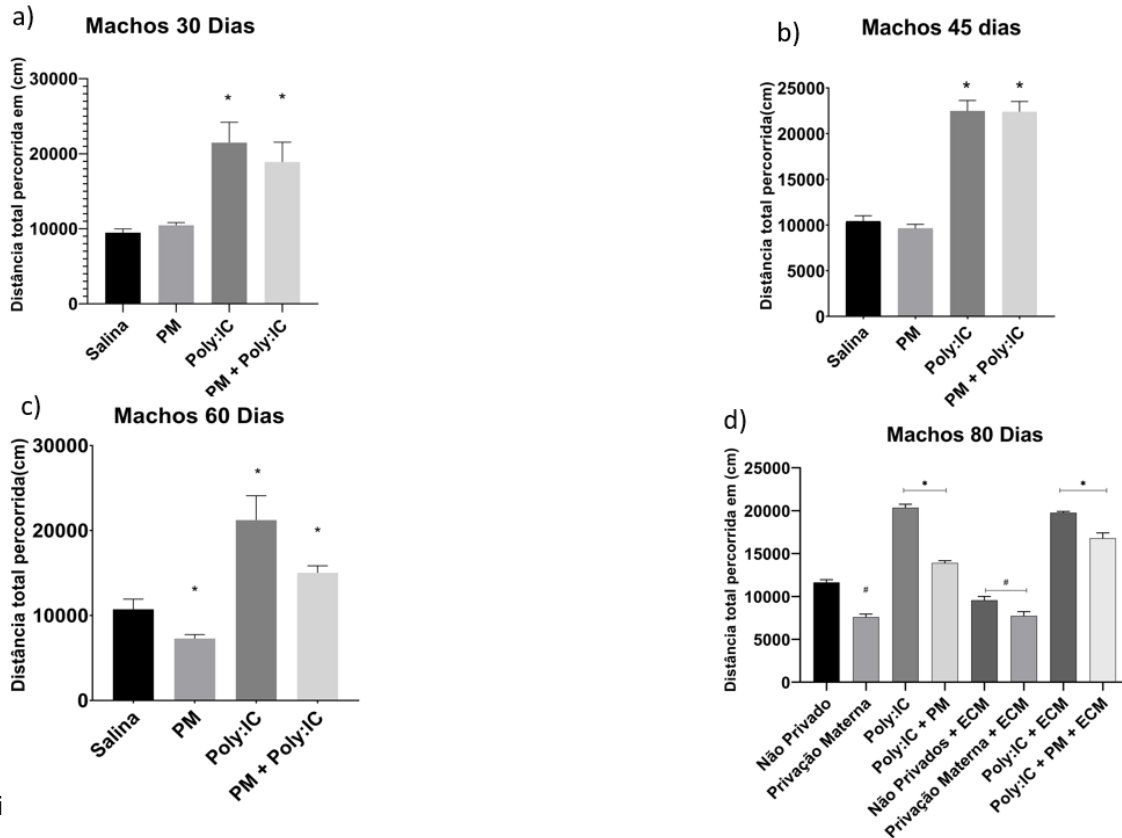
5. RESULTADOS

5.1 ATIVIDADE LOCOMOTORA

5.1.1 Atividade Locomotora Machos

A figura 3 representa a distância total percorrida em cm pela prole de ratos machos em diferentes fases da vida, 30 dias (A), 45 dias (B), 60 dias (C) e 80 dias (D), os quais foram expostos ao estressores de Poly:IC, Privação Materna e Estresse Crônico Moderado. Na figura 3A, ANOVA de uma via demonstrou uma diferença significativa neste parâmetro comportamental. Foi observado uma hiperlocomoção

nos grupos Poly:IC e PM+Poly:IC quando comparado ao grupo controle. Na figura 3B, ANOVA de uma via demonstrou uma hiperlocomoção nos grupos Poly:IC e PM+Poly:IC quando comparado ao grupo controle. Na figura 3C, ANOVA de uma via nos mostra uma hiperlocomoção nos grupos Poly:IC e PM+Poly:IC e uma diminuição no grupo PM quando comparados ao grupo controle. Na figura 3D ANOVA de uma via nos mostra uma hiperlocomoção nos grupos Poly:IC, PM+Poly:IC, Poly:IC + ECM, Poly:IC + PM + ECM, e uma diminuição na atividade locomotora nos grupos PM, Controle + ECM, PM + ECM.



5.1.2

Fi e (c), respectivamente, em diferentes fases da vida (30 dias (A), 45 dias (B), 60 dias (C) e 80 dias (D)). Os valores foram expressos como média \pm EPM (Erro Padrão da Média), sendo considerados significativos valores de $p \leq 0,05$, $n=8$. * diferente do grupo controle, segundo ANOVA de uma via; Fonte: dados do autor, 2021.

Atividade Locomotora Fêmeas

A figura 4 representa a distância total percorrida em cm pela prole de ratos machos em diferentes fases da vida, 30 dias (A), 45 dias (B), 60 dias (C) e 80 dias (D), os quais foram expostos ao estressores de Poly:IC, Privação Materna e Estresse Crônico Moderado. De acordo com as figuras abaixo ANOVA de uma via nos demonstrou uma diferença significativa. Diante disso a figura 4A nos mostra um aumento na hiperlocomoção nos grupos Poly:IC e PM+Poly:IC similarmente a figura 4B que também nos mostra uma hiperlocomoção nestes grupos. A figura 4C não nos mostrou nenhuma diferença significativa, diferentemente da figura 4D onde ANOVA nos mostrou uma hiperlocomoção apenas no grupo Poly:IC e uma diminuição nesta locomoção nos grupos PM, Controle + ECM e PM + ECM.

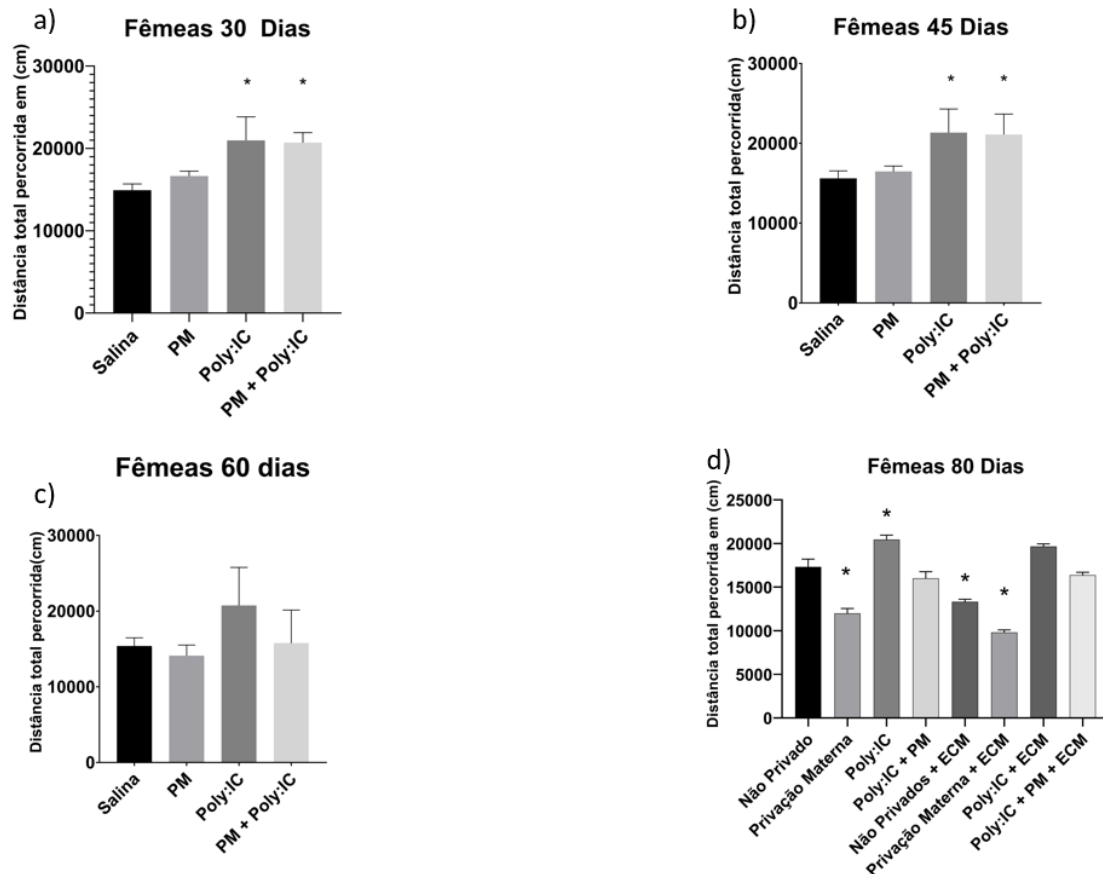


Figura 4: Representa a distância total percorrida em cm pela prole de ratas Fêmeas nos dias 30(A), 45(B), 60(C) e 80(D) expostas a diferentes estressores (Poly:IC, Privação Materna e Estresse Crônico Moderado). Os valores foram expressos como média \pm EPM (Erro Padrão da Média), sendo considerados significativos valores de $p \leq 0,05$, $n=8$. * diferente do grupo controle, segundo ANOVA de uma via; Fonte: dados do autor, 2021.

5.2 TESTE DO NADO FORÇADO

5.2.1 Tempo de Imobilidade Machos

A figura 5 representa o tempo total de imobilidade na prole de ratos machos em diferentes fases da vida 30 dias (A), 45 dias (B), 60 dias (C) e 80 dias (D), os quais foram expostos aos estressores de Poly:IC, Privação Materna e Estresse Crônico Moderado. De acordo com a figura 5A ANOVA de uma via nos demonstrou uma diferença significativa entre grupos. A figura 5A não demonstrou nenhuma alteração significativa, similarmente a figura 5B. A figura 5C demonstra um aumento no tempo de imobilidade para os ratos machos dos grupos PM e Poly:IC + PM. A figura 5D nos

mostra um aumento do tempo de imobilidade para os grupos Controle + ECM, PM + ECM, Poly:IC + ECM e Poly:IC + PM + ECM.

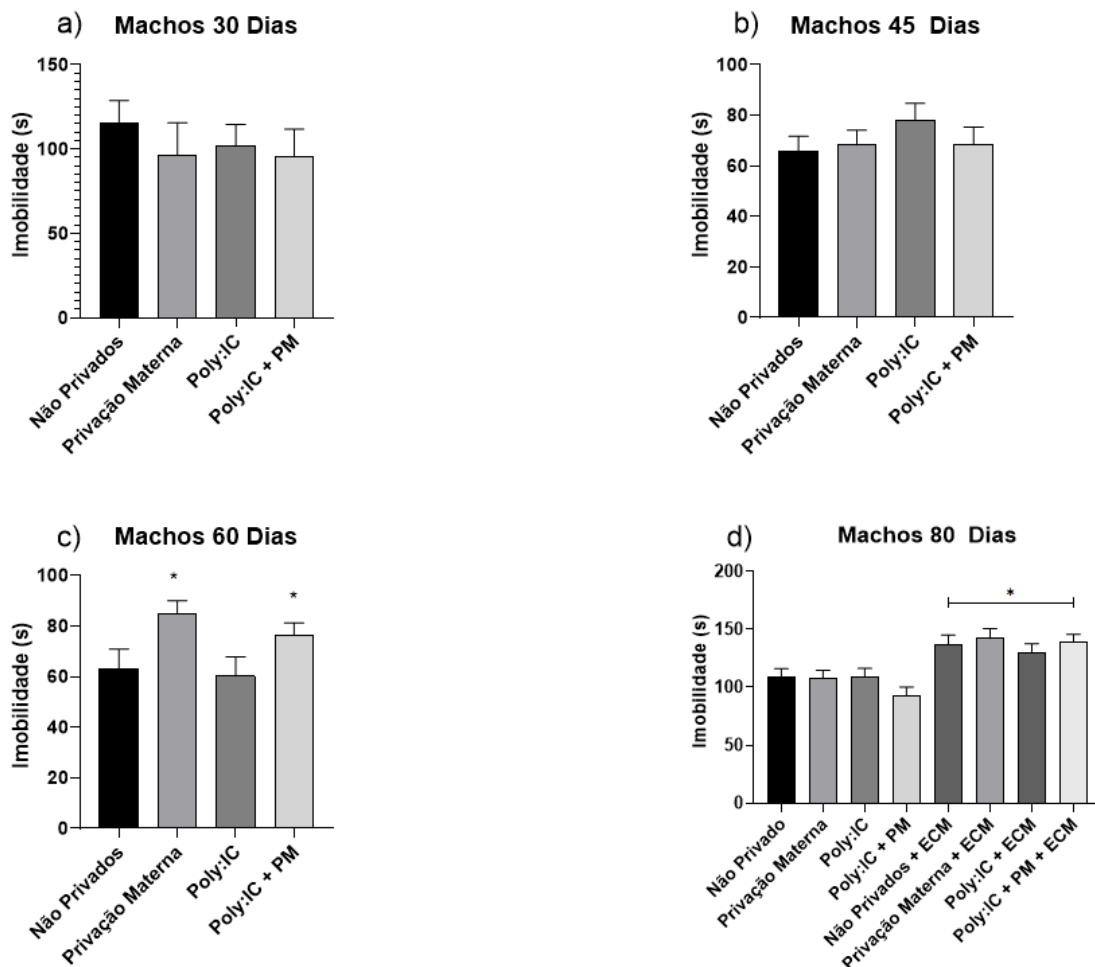


Figura 5: Representa a o tempo total em segundos de imobilidade da prole de ratos machos nos dias 30(A), 45(B), 60(C) e 80(D) expostos a diferentes estressores (Poly:IC, Privação Materna e Estresse Crônico Moderado). Os valores foram expressos como média \pm EPM (Erro Padrão da Média), sendo considerados significativos valores de $p \leq 0,05$, $n=8$. * diferente do grupo controle, segundo ANOVA de uma via; Fonte: dados do autor, 2021.

5.2.2 Tempo de Imobilidade Fêmeas

A figura 6 representa o tempo total de imobilidade na prole de ratas fêmeas em diferentes fases da vida 30 dias (A), 45 dias (B), 60 dias (C) e 80 dias (D), os quais foram expostos aos estressores de Poly:IC, Privação Materna e Estresse Crônico Moderado. A figura 6A nos mostra um aumento do tempo de imobilidade no grupo PM quando comparado ao grupo controle. A figura 6B não nos mostrou nenhuma diferença significativa, diferentemente da figura 6C onde os grupos PM e Poly:IC +

PM tem um aumento significativo no tempo de imobilidade. A figura 6D nos mostrou um aumento no tempo de imobilidade nos grupos Controle + ECM, PM + ECM, Poly:IC + ECM e Poly:IC + PM + ECM.

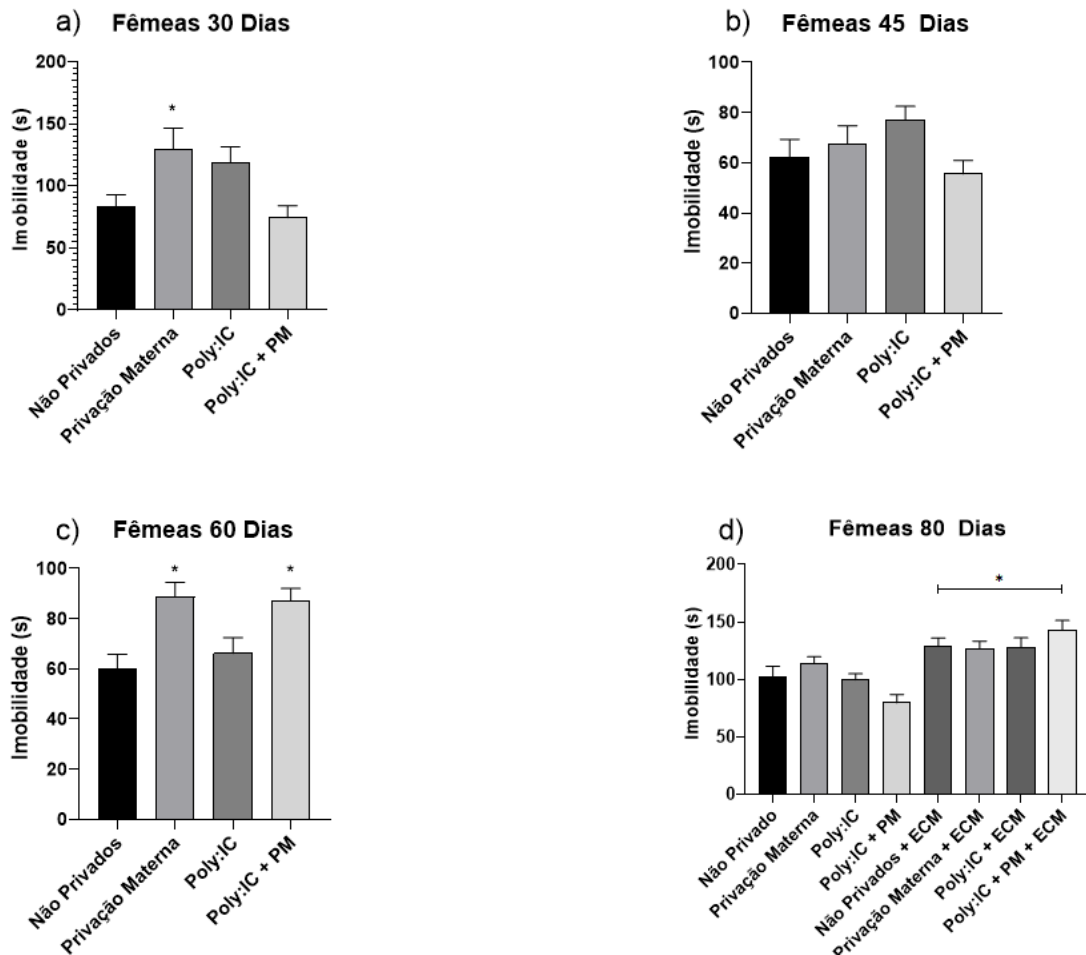


Figura 6: Representa a o tempo total em segundos de imobilidade da prole de ratas fêmeas nos dias 30(A), 45(B), 60(C) e 80(D) expostos a diferentes estressores (Poly:IC, Privação Materna e Estresse Crônico Moderado). Os valores foram expressos como média \pm EPM (Erro Padrão da Média), sendo considerados significativos valores de $p \leq 0,05$, $n=8$. * diferente do grupo controle, segundo ANOVA de uma via; Fonte: dados do autor, 2021.

5.2.3 Tempo de Escalada Machos

A figura 7 representa o tempo total de escalada na prole de ratos machos em diferentes fases da vida 30 dias (A), 45 dias (B), 60 dias (C) e 80 dias (D), os quais foram expostos aos estressores de Poly:IC, Privação Materna e Estresse Crônico Moderado. De acordo com a figura 7 ANOVA de uma via não demonstrou nenhuma diferença significativa entre grupos F e P.

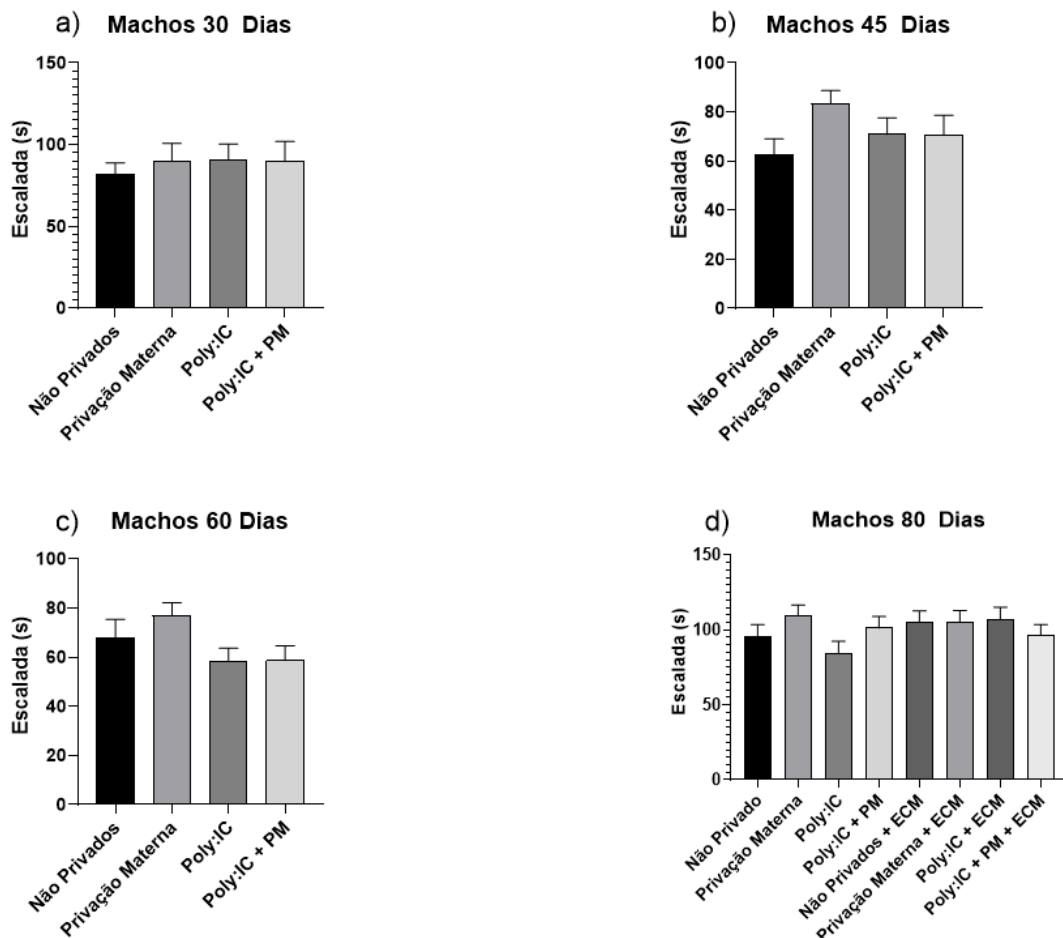


Figura 7: Representa a o tempo total em segundos de escalada da prole de ratos machos nos dias 30(a), 45(b), 60(c) e 80(d) expostos a diferentes estressores (Poly:IC, Privação Materna e Estresse Crônico Moderado). Os valores foram expressos como média \pm EPM (Erro Padrão da Média), sendo considerados significativos valores de $p \leq 0,05$, $n=8$. * diferente do grupo controle, segundo ANOVA de uma via; Fonte: dados do autor, 2021

5.2.4 Tempo de Escalada Fêmeas

A figura 8 representa o tempo total de escalada na prole de ratas fêmeas em diferentes fases da vida 30 dias (A), 45 dias (B), 60 dias (C) e 80 dias (D), os quais foram expostos aos estressores de Poly:IC, Privação Materna e Estresse Crônico Moderado. De acordo com a figura 8 ANOVA de uma via não demonstrou nenhuma diferença significativa entre grupos.

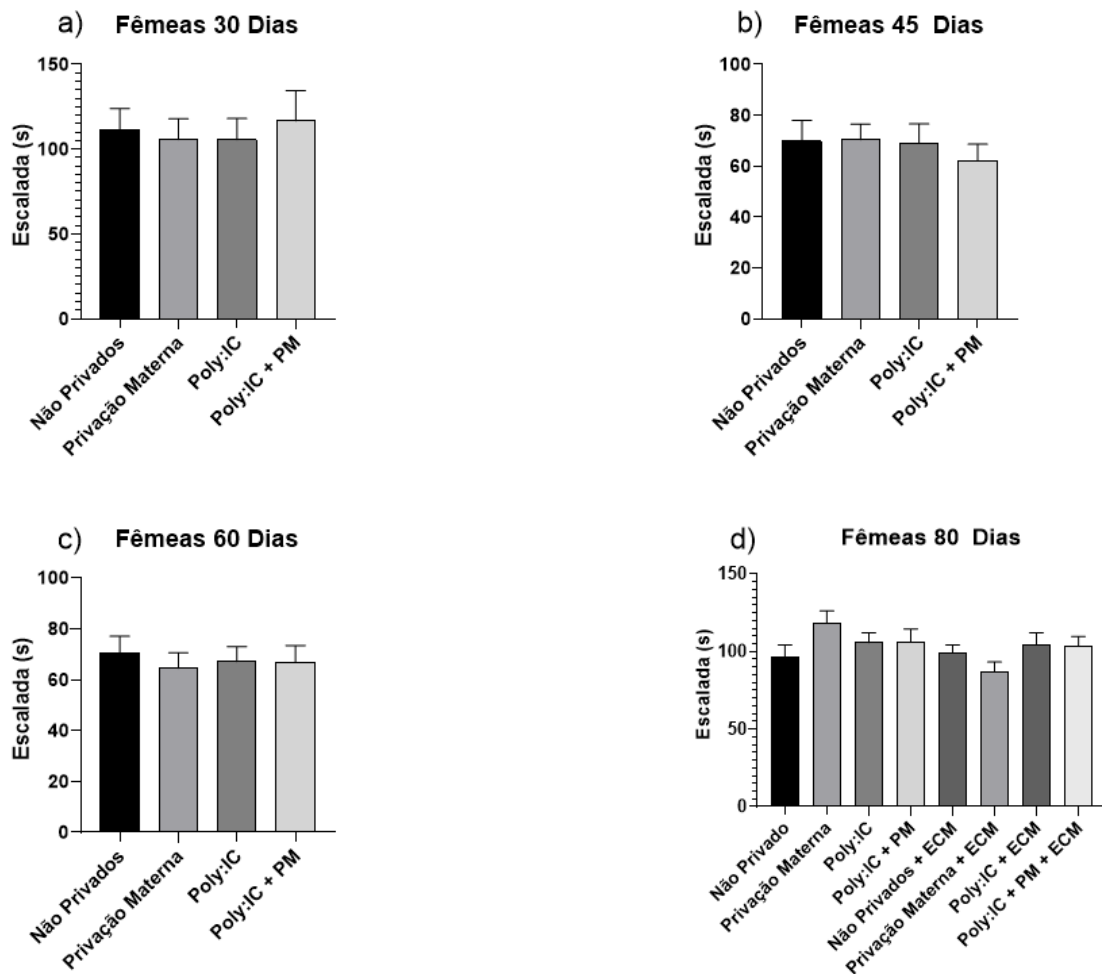


Figura 8: Representa a o tempo total em segundos de escalada da prole de ratas fêmeas nos dias 30(a), 45(b), 60(c) e 80(d) expostas a diferentes estressores (Poly:IC, Privação Materna e Estresse Crônico Moderado). Os valores foram expressos como média \pm EPM (Erro Padrão da Média), sendo considerados significativos valores de $p \leq 0,05$, $n=8$. * diferente do grupo controle, segundo ANOVA de uma via; Fonte: dados do autor, 2021.

5.2.5 Tempo de Nado Machos

A figura 9 representa o tempo total de nado na prole de ratos machos em diferentes fases da vida 30 dias (A), 45 dias (B), 60 dias (C) e 80 dias (D), os quais foram expostos aos estressores de Poly:IC, Privação Materna e Estresse Crônico Moderado. De acordo com a figura 9 ANOVA de uma via não demonstrou nenhuma diferença significativa entre grupos.

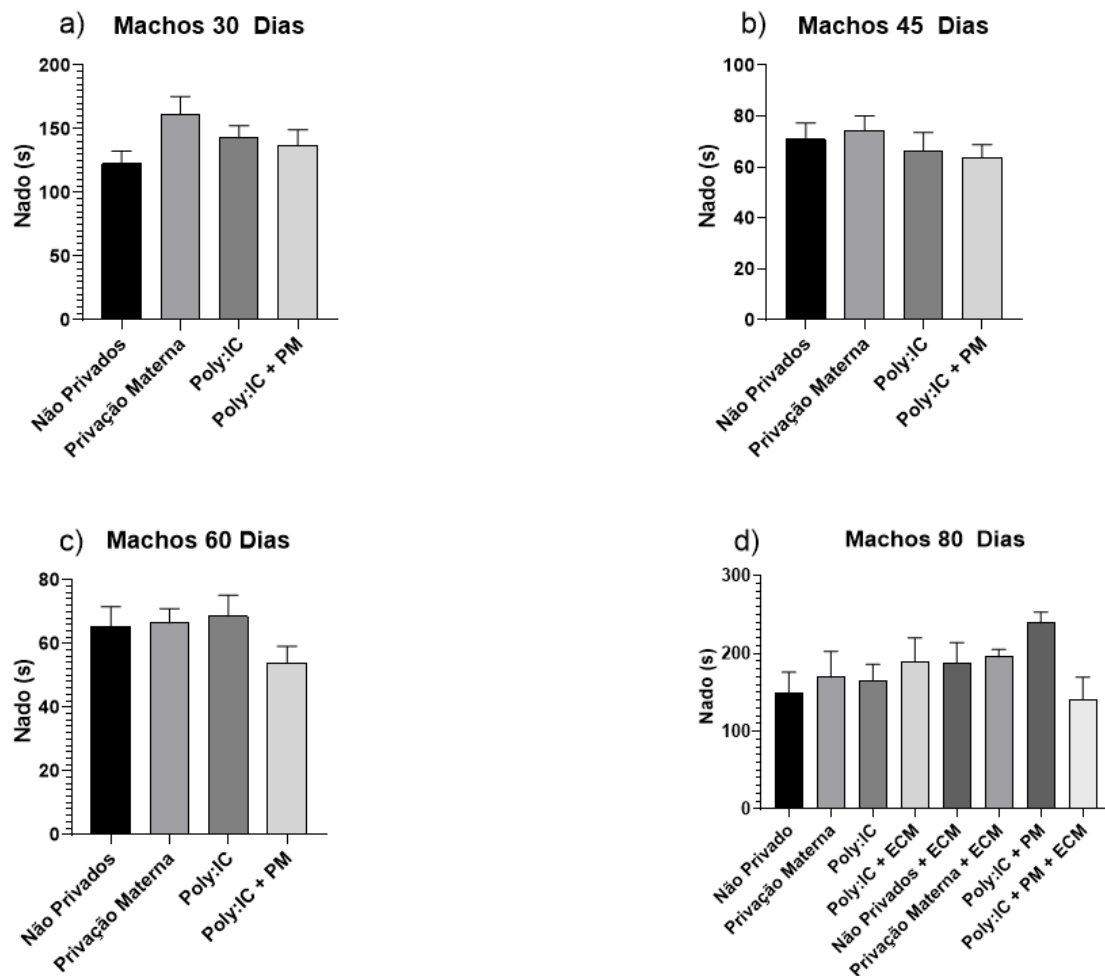


Figura 9: Representa a o tempo total em segundos de nado da prole de ratos machos nos dias 30(a), 45(b), 60(c) e 80(d) expostos a diferentes estressores (Poly:IC, Privação Materna e Estresse Crônico Moderado). Os valores foram expressos como média \pm EPM (Erro Padrão da Média), sendo considerados significativos valores de $p \leq 0,05$, $n=8$. * diferente do grupo controle, segundo ANOVA de uma via; Fonte: dados do autor, 2021

5.2.6 Tempo de Nado Fêmeas

A figura 10 representa o tempo total de nado na prole de ratas fêmeas em diferentes fases da vida 30 dias (A), 45 dias (B), 60 dias (C) e 80 dias (D), os quais foram expostos aos estressores de Poly:IC, Privação Materna e Estresse Crônico Moderado. De acordo com a figura 10 ANOVA de uma via não demonstrou nenhuma diferença significativa entre grupos.

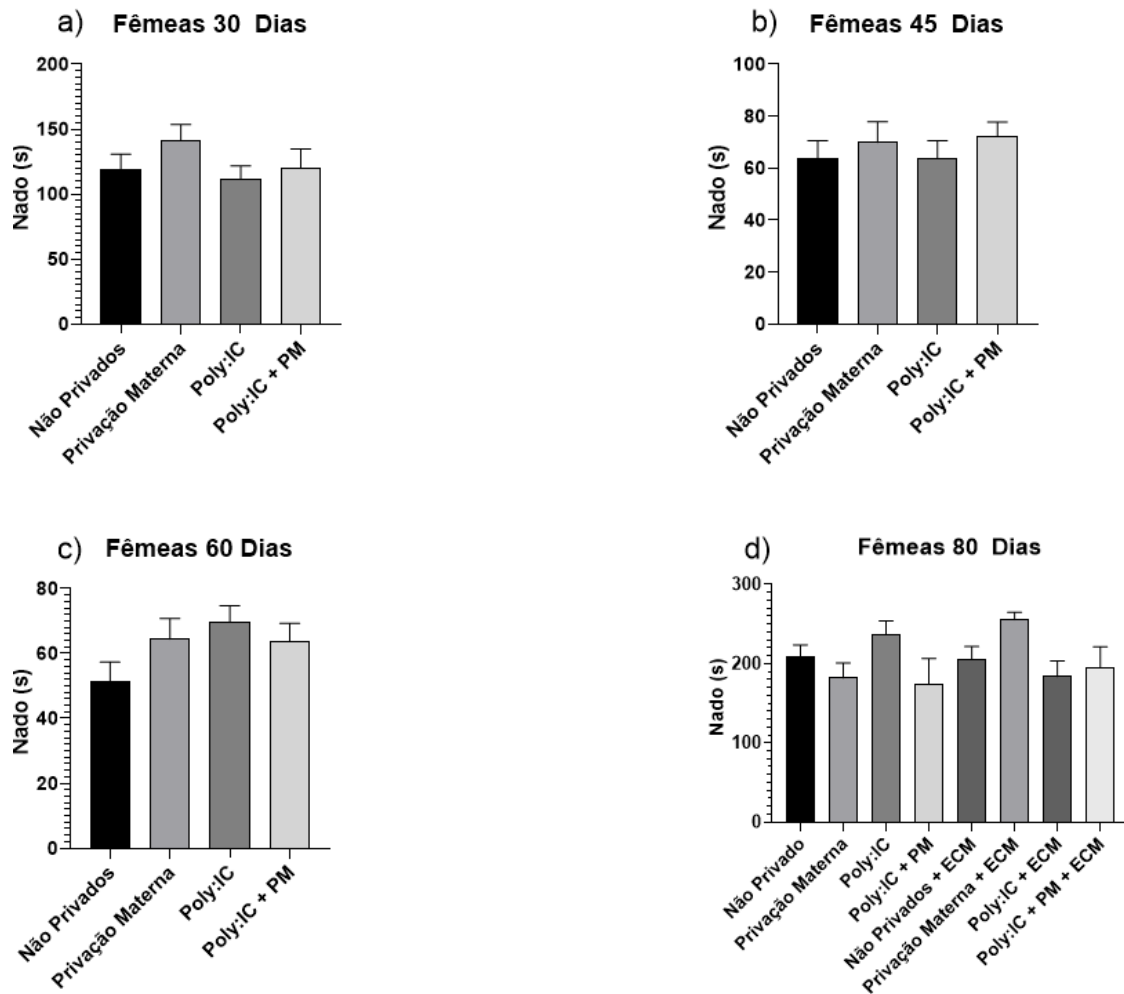


Figura 10: Representa o tempo total em segundos de nado da prole de ratas fêmeas nos dias 30(a), 45(b), 60(c) e 80(d) expostas a diferentes estressores (Poly:IC, Privação Materna e Estresse Crônico Moderado). Os valores foram expressos como média \pm EPM (Erro Padrão da Média), sendo considerados significativos valores de $p \leq 0,05$, $n=8$. * diferente do grupo controle, segundo ANOVA de uma via; Fonte: dados do autor, 2021.

5.3 SPLASH TESTE

5.3.1 Tempo de Limpeza Machos

A figura 11 representa o tempo total de limpeza na prole de ratos machos em diferentes fases da vida 30 dias (A), 45 dias (B), 60 dias (C) e 80 dias (D), os quais foram expostos aos estressores de Poly:IC, Privação Materna e Estresse Crônico Moderado. De acordo com a figura 11 ANOVA de uma via demonstrou uma diferença significativa entre grupos. A figura 11A não nos mostrou nenhuma diferença significativa semelhante a figura 11B. Já a figura 11C nos mostra uma diminuição no

tempo de limpeza nos grupos PM e Poly:IC + PM. A figura 11D nos mostra uma diminuição no tempo de limpeza nos grupos PM, Controle + ECM, PM + ECM e Poly:IC + PM + ECM.

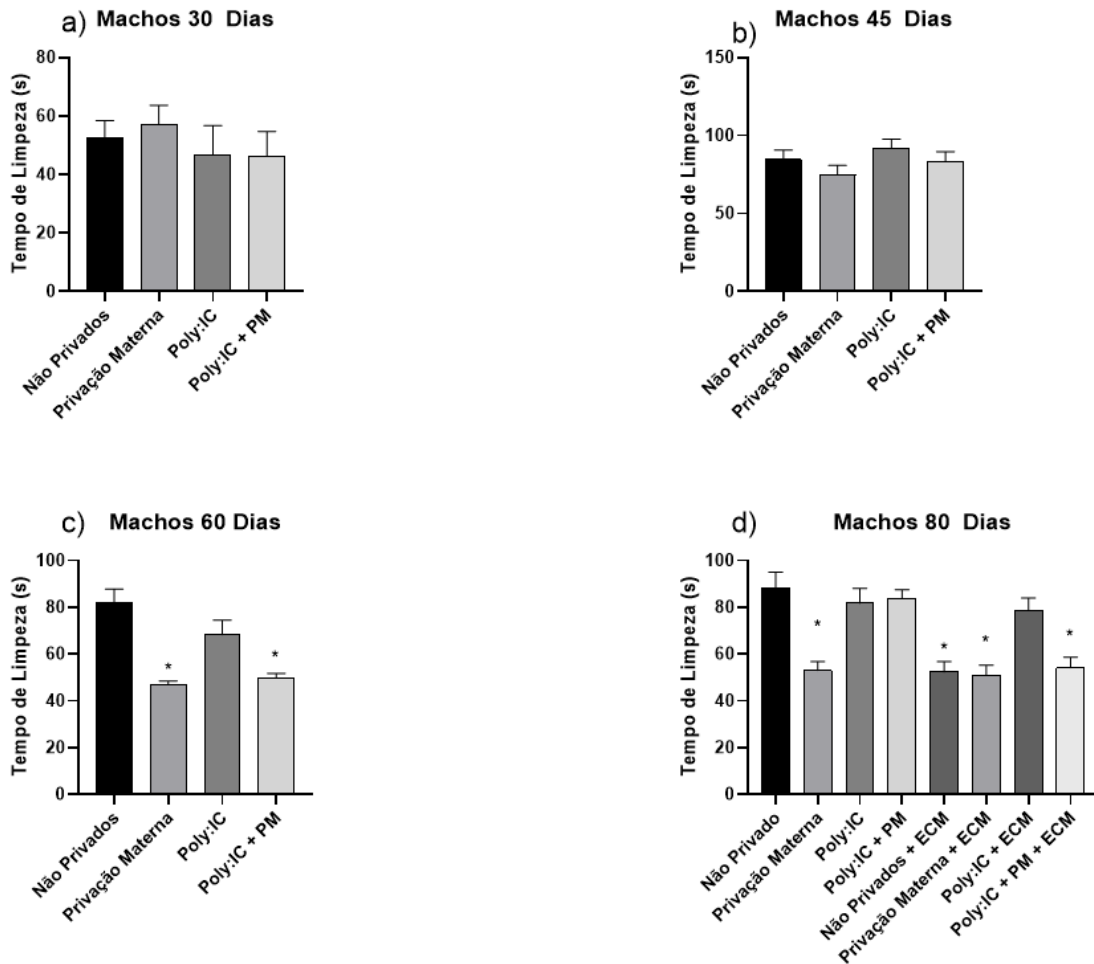


Figura 11: Representa o tempo total em segundos do tempo de limpeza da prole de ratos machos nos dias 30(a), 45(b), 60(c) e 80(d) expostos a diferentes estressores (Poly:IC, Privação Materna e Estresse Crônico Moderado). Os valores foram expressos como média \pm EPM ((Erro Padrão da Média), sendo considerados significativos valores de $p \leq 0,05$, $n=8$. * diferente do grupo controle, segundo ANOVA de uma via; Fonte: dados do autor, 2021.

5.3.2 Tempo de Limpeza Fêmeas

A figura 12 representa o tempo total de limpeza na prole de ratas fêmeas em diferentes fases da vida 30 dias (A), 45 dias (B), 60 dias (C) e 80 dias (D), os quais foram expostos aos estressores de Poly:IC, Privação Materna e Estresse Crônico Moderado. De acordo com a figura 12 ANOVA de uma via demonstrou uma diferença significativa entre grupos. A figura 12A demonstrou uma diminuição nos grupos PM. A figura 12B não demonstrou nenhum resultado significativo. A figura 12C nos mostra uma diminuição no tempo de limpeza nos grupos PM e Poly:IC + PM. A figura 12D nos mostra uma diminuição nos grupos PM e PM + ECM.

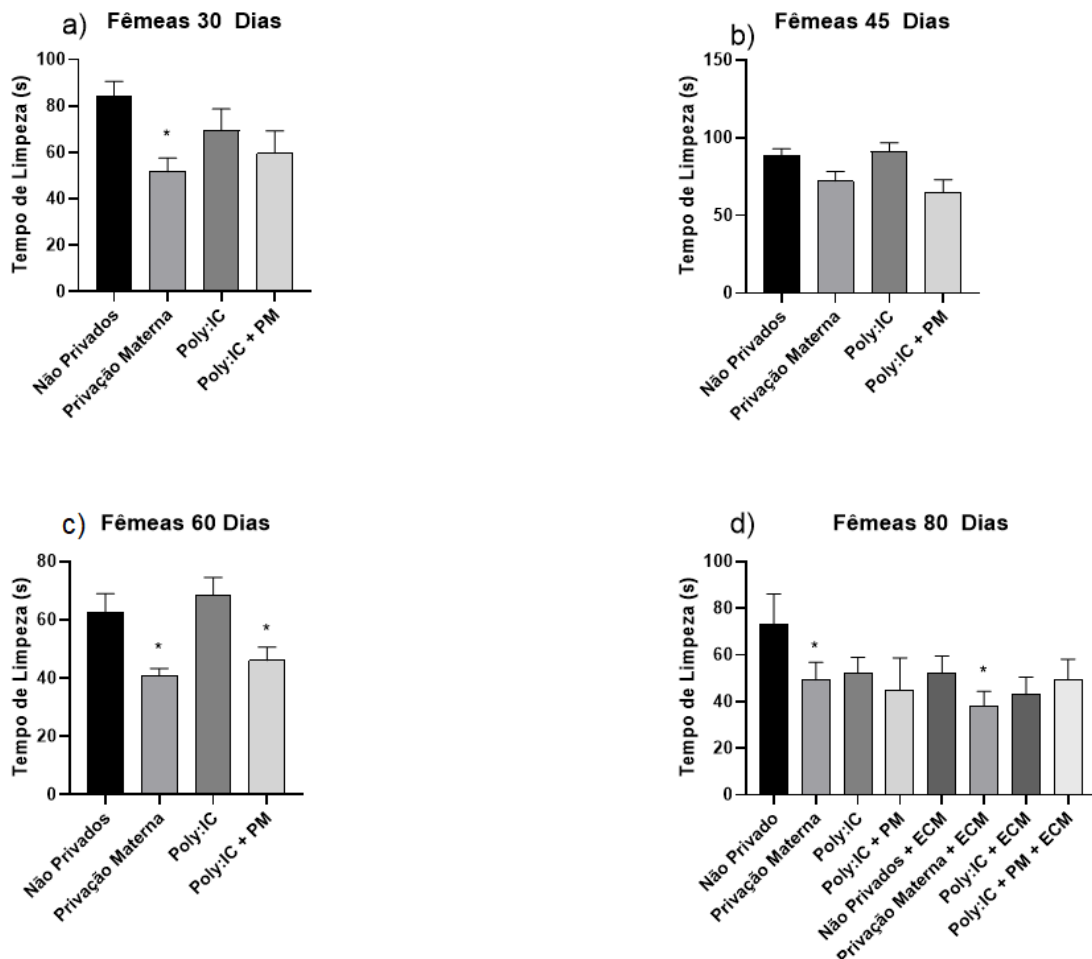


Figura 12: Representa a o tempo total em segundos do tempo de limpeza da prole de ratas fêmeas nos dias 30(a), 45(b), 60(c) e 80(d) expostas a diferentes estressores (Poly:IC, Privação Materna e Estresse Crônico Moderado). Os valores foram expressos como média \pm EPM ((Erro Padrão da Média), sendo considerados significativos valores de $p \leq 0,05$, $n=8$. * diferente do grupo controle, segundo ANOVA de uma via; Fonte: dados do autor, 2021.

5.4 TESTE DO CONSUMO DE SACAROSE

5.4.1 Consumo de Água x Sacarose Machos

A figura 13 representa o consumo de água x sacarose na prole de ratos machos em diferentes fases da vida 30 dias (A), 45 dias (B), 60 dias (C), os quais foram expostos aos estressores de Poly:IC, Privação Materna. De acordo com a figura 13 ANOVA de uma via demonstrou uma diferença significativa entre grupos. A figura 13A demonstrou uma diminuição no consumo de sacarose nos grupos PM e Poly:IC + PM. A figura 13B não mostrou nenhuma diferença significativa, já a figura 13C nos mostra uma diminuição no consumo de sacarose nos grupos Poly:IC + PM.

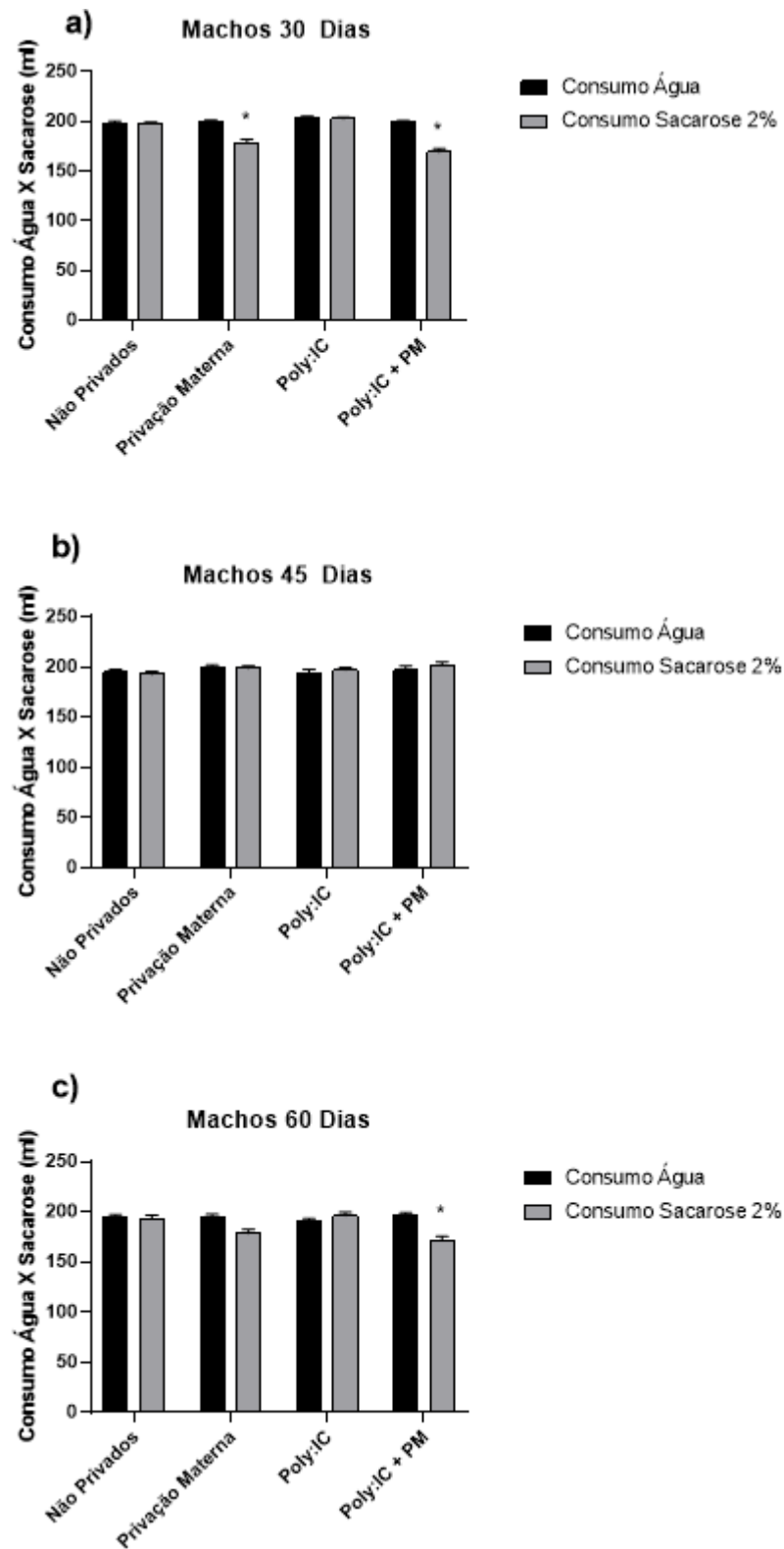


Figura 13: Representa o consumo de água X Sacarose em ml da prole de ratos machos nos dias 30(a), 45(b), 60(c) a diferentes estressores (Poly:IC, Privação Materna). Os valores foram expressos como média \pm EPM ((Erro Padrão da Média), sendo considerados significativos valores de $p \leq 0,05$, $n=8$. * diferente do grupo controle, segundo ANOVA de uma via; Fonte: dados do autor, 2021.

5.4.2 Consumo de água X sacarose Fêmeas

A figura 14 representa o consumo de água x sacarose na prole de ratas fêmeas em diferentes fases da vida 30 dias (A), 45 dias (B), 60 dias (C), os quais foram expostos aos estressores de Poly:IC, Privação Materna. De acordo com a figura 14 ANOVA de uma via demonstrou uma diferença significativa entre grupos. A figura 14A demonstrou uma diminuição no consumo de sacarose nos grupos PM e Poly:IC + PM. A figura 14B não mostrou nenhuma diferença significativa, já a figura 14C nos mostra uma diminuição no consumo de sacarose nos grupos PM e Poly:IC + PM.

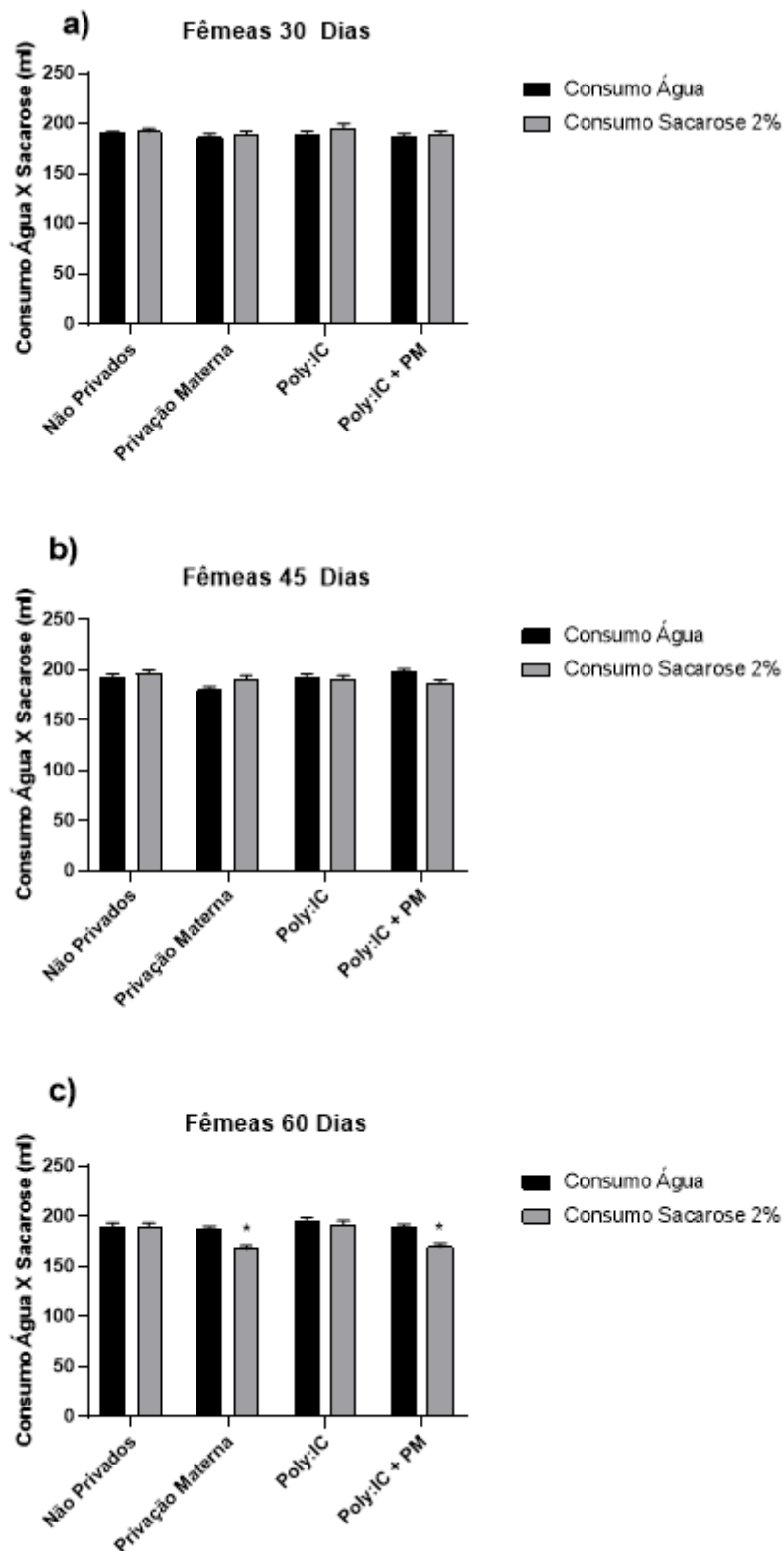


Figura 14: Representa o consumo de água x Sacarose em ml da prole de ratas fêmeas dias 30(A), 45(B), 60(C) a diferentes estressores (Poly:IC, Privação Materna). Os valores foram expressos como média \pm EPM ((Erro Padrão da Média), sendo considerados significativos valores de $p \leq 0,05$, $n=8$. * diferente do grupo controle, segundo ANOVA de uma via; Fonte: dados do autor, 2021.

5.5 NÍVEIS DE CITOCINAS

Os níveis de citocinas foram avaliados no período de 60 e 80 dias de vida, em fêmeas e machos. Após o período de 60 dias, em fêmeas (Figura 15A), os níveis de IL-1 β se mostraram elevados no bulbo em todos os grupos quando comparado ao grupo controle. Já no córtex não houve diferença significativa em nenhum dos grupos. Em relação ao hipocampo e estriado, apenas o grupo PM apresentou níveis mais elevados de IL-1 β quando comparado ao grupo controle. Quando avaliada em machos (Figura 15B), os níveis de IL-1 β se mostraram elevados nas quatro estruturas avaliadas, nos grupos Poly: IC e PM + Poly: IC, quando comparados ao grupo controle. O grupo PM em machos não apresentou diferença significativa quando comparado ao controle.

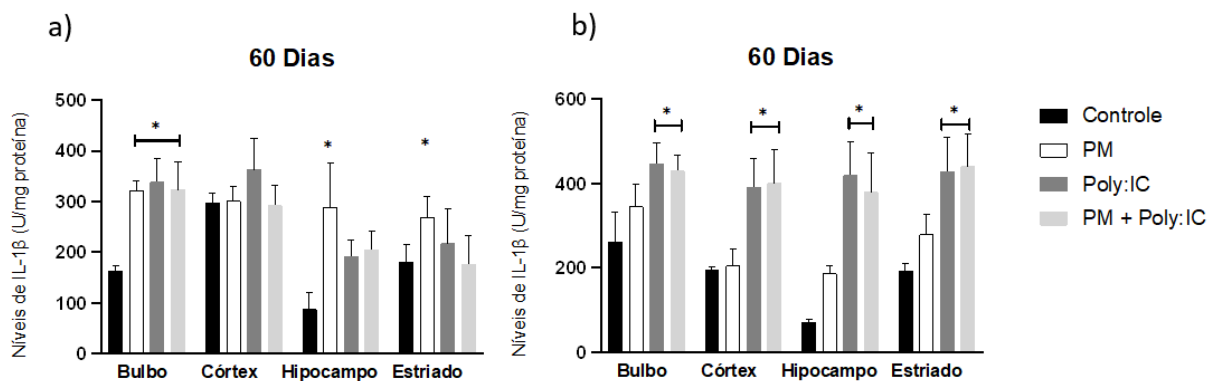


Figura 15: Representa os níveis de IL-1 β em bulbo, córtex, hipocampo e estriado em fêmeas (A) e machos (B) com 60 dias. * Diferença significativa em relação ao controle da mesma estrutura. Os valores foram expressos como média \pm EPM ((Erro Padrão da Média), sendo considerados significativos valores de $p \leq 0,05$, $n=8$. * diferente do grupo controle, segundo ANOVA de uma via; Fonte: dados do autor, 2021.

Após 80 dias os níveis de IL-1 β foram novamente analisados, onde em fêmeas (Figura 16A) os níveis se mostraram elevados no hipocampo e estriado, em todos os grupos, exceto no grupo PM, quando comparados ao grupo controle. No bulbo e córtex não houve diferenças significativas quando comparados ao controle. Em machos (Figura 16B) os níveis de IL-1 β se mostraram elevados em córtex, hipocampo e estriado em todos os grupos, exceto no grupo PM, quando comparados ao grupo controle. No bulbo não houve diferenças significativas quando comparados ao controle.

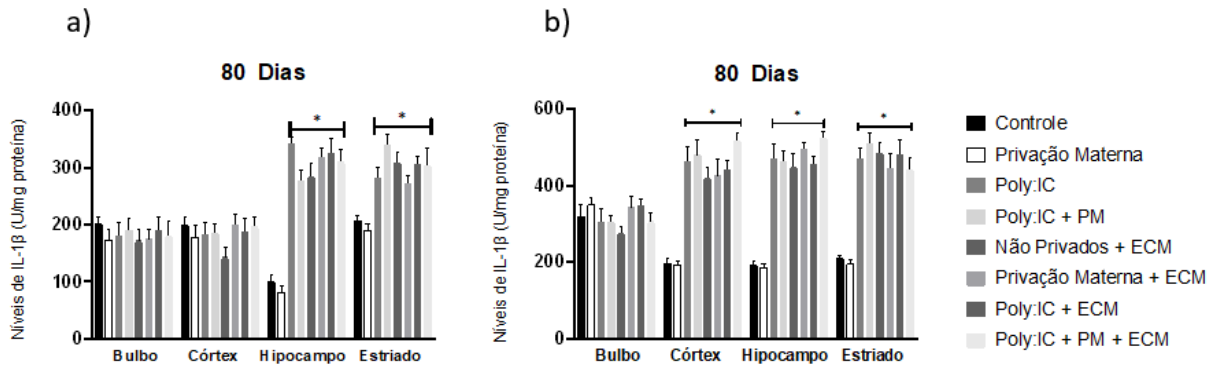


Figura 16: Representa os níveis de IL-1 β em bulbo, córtex, hipocampo e estriado em fêmeas (A) e machos (B) com 80 dias. * Diferença significativa em relação ao controle da mesma estrutura. Os valores foram expressos como média \pm EPM ((Erro Padrão da Média), sendo considerados significativos valores de $p \leq 0,05$, $n=8$. * diferente do grupo controle, segundo ANOVA de uma via; Fonte: dados do autor, 2021

Em seguida, os níveis de IL-4 foram então avaliados. Como pode ser visto na Figura 17, no período de 60 dias em fêmeas (A) e machos (B), os níveis de IL-4 tiveram uma redução significativa no córtex e estriado em todos os grupos quando comparado ao grupo controle. No bulbo e hipocampo não houve diferenças significativas quando comparados ao grupo controle.

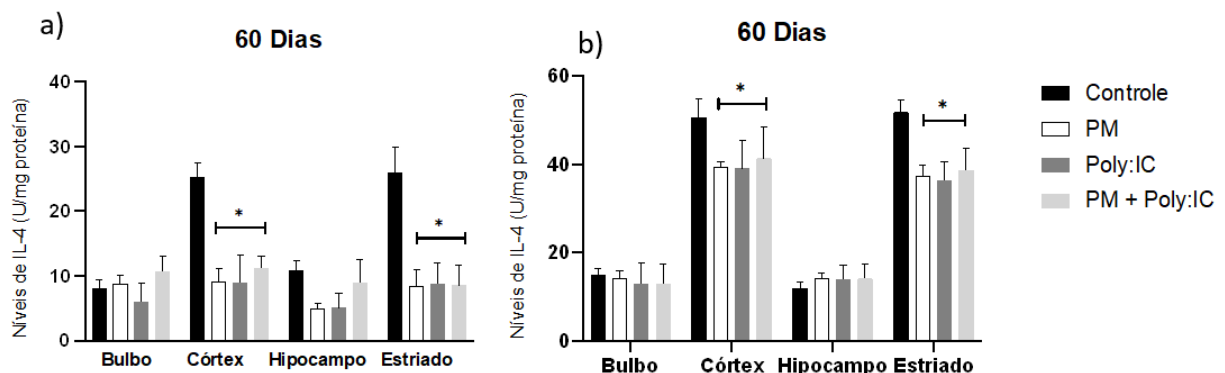


Figura 17: Representa os níveis de IL-4 em bulbo, córtex, hipocampo e estriado em fêmeas (A) e machos (B) com 60 dias. * Diferença significativa em relação ao controle da mesma estrutura. Os valores foram expressos como média \pm EPM ((Erro Padrão da Média), sendo considerados significativos valores de $p \leq 0,05$, $n=8$. * diferente do grupo controle, segundo ANOVA de uma via; Fonte: dados do autor, 2021.

Após 80 dias os níveis de IL-4 foram novamente analisados, onde em fêmeas (Figura 18A) os níveis de IL-4 tiveram uma diminuição significativa nos grupos PM, Poly:IC + PM, não privados +ECM, PM+ ECM e Poly:IC + ECM quando comparados ao grupo controle. No bulbo e hipocampo não houve diferenças significativas quando comparado ao grupo controle. Já em machos (Figura 18B) os

níveis de IL-4 no córtex apresentaram uma diminuição significativa em todos os grupos quando comparado ao grupo controle. No estriado essa diminuição ocorreu em todos os grupos exceto no grupo PM, quando comparado ao grupo controle. No bulbo e hipocampo não houve diferenças significativas quando comparado ao grupo controle.

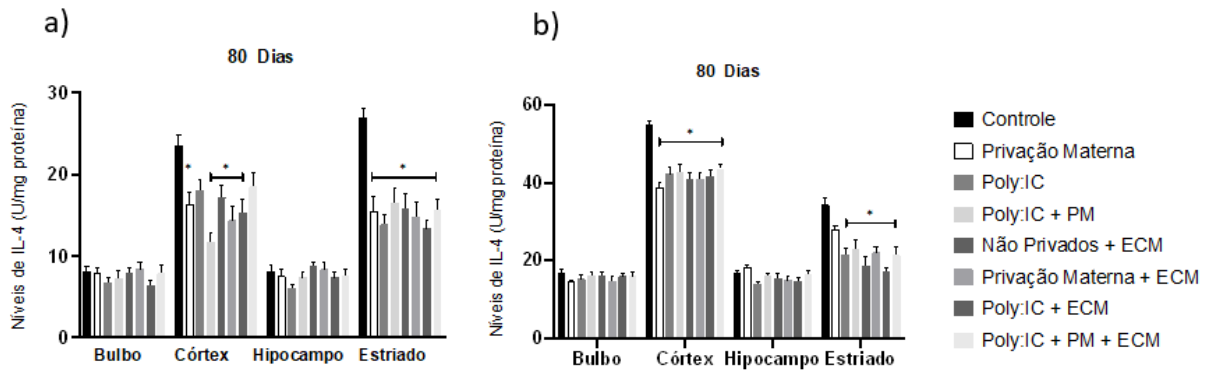


Figura 18: Representa os níveis de IL-4 em bulbo, córtex, hipocampo e estriado em fêmeas (A) e machos (B) com 80 dias. * Diferença significativa em relação ao controle da mesma estrutura. Teste ANOVA one way, seguido pelo teste post hoc de Tukey quando $p > 0,05$. Os valores foram expressos como média \pm EPM ((Erro Padrão da Média), sendo considerados significativos valores de $p \leq 0,05$, $n=8$. * diferente do grupo controle, segundo ANOVA de uma via; Fonte: dados do autor, 2021

A seguir avaliou-se os níveis de IL-10. Os resultados em fêmeas (Figura 19A) e machos (Figura 19B) no período de 60 dias, mostraram que houve uma diminuição significativa nos níveis de IL-10 no córtex e estriado em todos os grupos quando comparados ao grupo controle. No bulbo e hipocampo não houve diferenças significativas quando comparado ao grupo controle.

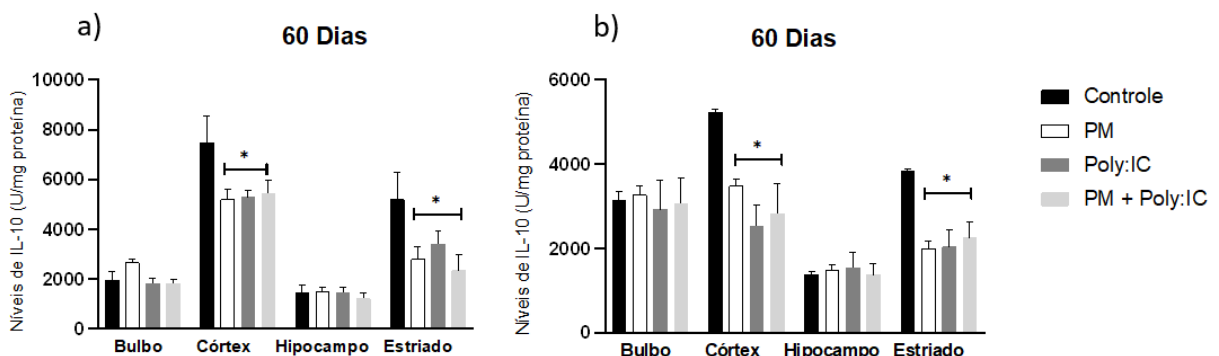


Figura 19: Representa os níveis de IL-10 em bulbo, córtex, hipocampo e estriado em fêmeas (A) e machos (B) com 60 dias. * Diferença significativa em relação ao controle da mesma estrutura. Teste ANOVA one way, seguido pelo teste post hoc de Tukey quando $p > 0,05$. Os valores foram expressos como média \pm EPM ((Erro Padrão da Média), sendo considerados significativos valores de $p \leq 0,05$, $n=8$. * diferente do grupo controle, segundo ANOVA de uma via; Fonte: dados do autor, 2021

Quando avaliados após o período de 80 dias, os níveis de IL-10 continuaram se mostrando reduzidos no córtex e estriado em todos os grupos avaliados, quando comparados ao grupo controle. No bulbo e hipocampo não houve diferenças significativas quando comparado ao grupo controle.

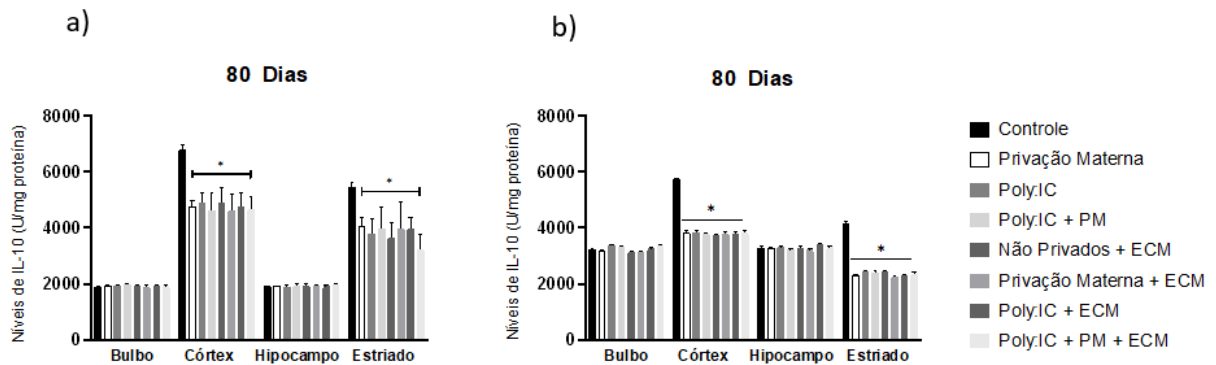


Figura 20: Representa os níveis de IL-10 em bulbo, córtex, hipocampo e estriado em fêmeas (A) e machos (B) com 80 dias. * Diferença significativa em relação ao controle da mesma estrutura. Teste ANOVA one way, seguido pelo teste post hoc de Tukey quando $p > 0,05$. Os valores foram expressos como média \pm EPM ((Erro Padrão da Média), sendo considerados significativos valores de $p \leq 0,05$, $n=8$. * diferente do grupo controle, segundo ANOVA de uma via; Fonte: dados do autor, 2021.

Por fim avaliou-se os níveis de TNF- α . Após o período de 60 dias em fêmeas (Figura 21A) os níveis de TNF- α apresentaram um aumento significativo no bulbo nos grupos Poly:C e PM + Poly:IC quando comparados ao grupo controle. No córtex esse aumento ocorreu apenas no grupo PM em comparação ao grupo controle. Já no hipocampo esse aumento ocorreu nos grupos Poly:IC e PM + Poly:IC em comparação ao grupo controle. No estriado não houve diferenças significativas. Em machos (Figura 21B) os níveis de TNF- α apresentaram um aumento significativo no bulbo nos grupos Poly:C e PM + Poly:IC quando comparados ao grupo controle. No hipocampo e estriado esse aumento nos níveis ocorreu apenas no grupo PM+ Poly:IC em comparação ao grupo controle. O córtex não apresentou diferenças significativas em relação ao grupo controle.

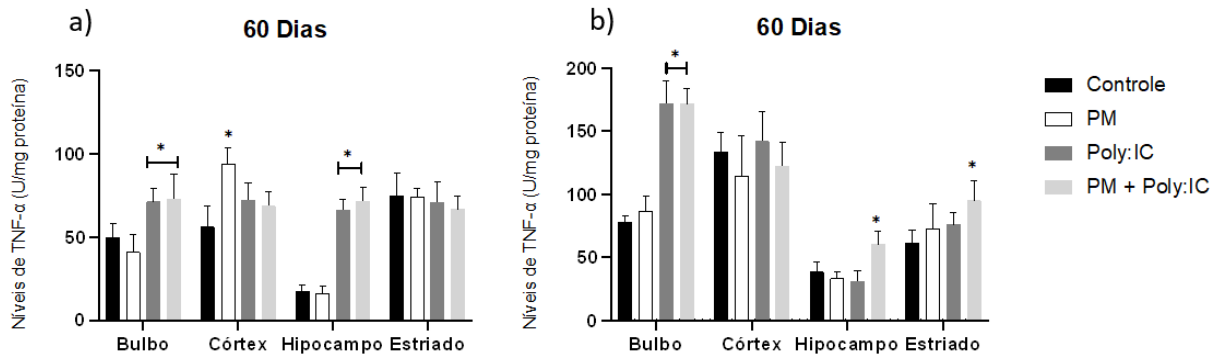


Figura 21: Níveis de TNF- α em bulbo, córtex, hipocampo e estriado em fêmeas (A) e machos (B) com 60 dias. * Diferença significativa em relação ao controle da mesma estrutura. Teste ANOVA one way, seguido pelo teste post hoc de Tukey quando $p > 0,05$. Os valores foram expressos como média \pm EPM ((Erro Padrão da Média), sendo considerados significativos valores de $p \leq 0,05$, $n=8$. * diferente do grupo controle, segundo ANOVA de uma via; Fonte: dados do autor, 2021.

Após 80 dias os níveis de TNF- α foram novamente analisados. Tanto em fêmeas (Figura 22A) quanto em machos (Figura 22B), os níveis de TNF- α não apresentaram diferenças significativas em nenhuma das estruturas analisadas.

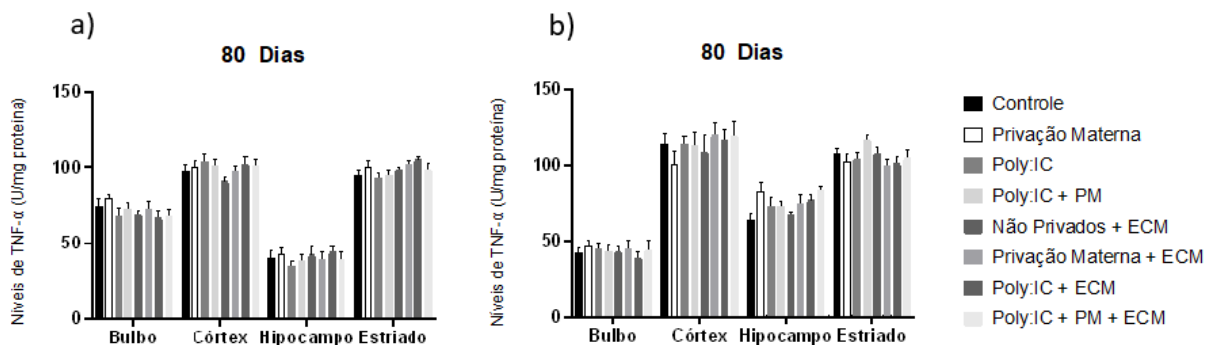


Figura 22: Níveis de TNF- α em bulbo, córtex, hipocampo e estriado em fêmeas (A) e machos (B) com 80 dias. * Diferença significativa em relação ao controle da mesma estrutura. Teste ANOVA one way, seguido pelo teste post hoc de Tukey quando $p > 0,05$. Os valores foram expressos como média \pm EPM ((Erro Padrão da Média), sendo considerados significativos valores de $p \leq 0,05$, $n=8$. * diferente do grupo controle, segundo ANOVA de uma via; Fonte: dados do autor, 2021.

6. DISCUSSÃO

Um crescente número de pesquisas com foco em traumas infantis estabeleceu que, experiências traumáticas no início da vida, estas podendo incluir experiências físicas, psicológicas ou combinadas, alteram a suscetibilidade a transtornos do humor na vida adulta, especialmente depressão maior (Scheller-Gilkey et al. 2004, Brunson et al. 2005, Pietrek et al. 2013). Embora consequências destes traumas durante o início da vida sejam bem documentadas (Kessler et al. 1997), muitos aspectos da vida permanecem ainda desconhecidos. Por exemplo, qual é a idade mais vulnerável? Experiências traumáticas exercem efeitos mais graves e duradouros quando sendo exposto no início da vida? Se este trauma no início da vida causa uma condição psiquiátrica, como ansiedade ou depressão e se uma ou ambas persistirem ao tempo, ou um transtorno acaba se transformando em outro? Se o trauma no início da vida causa déficit de aprendizagem e deficiências de memória a longo prazo? Esses déficits são permanentes? Qual idade tem a maior propensão a mostrar estes sintomas? As respostas para estas perguntas não são facilmente respondidas, pois a realização desses estudos e pesquisas em humanos é bastante desafiadora e rara.

Embora modelos animais não consigam revelar com precisão o impacto dos eventos traumáticos do início da vida sobre sintomas psiquiátricos que ocorrem mais tarde na vida, os modelos em roedores se tornaram excelentes ferramentas para pesquisa. Neste estudo, foram usados diferentes protocolos estressores em diferentes fases da vida da prole. Foi investigado os efeitos de um modelo de ativação imune materna (AIM) expondo durante a gestação a um antagonista viral (Poly:IC) (Vorhees et al. 2015), bem como os efeitos de protocolo de privação materna durante o período pós-natal (Marco et al. 2015) e também os efeitos de um modelo de estresse crônico moderado durante o período jovem-adulto da prole (Forbes et al. 1996). Por fim, mostramos os efeitos de todos estes estressores combinados.

Para avaliação da capacidade motora dos animais, os mesmos foram submetidos ao teste da atividade locomotora que tem como objetivo analisar a sua capacidade locomotora/exploratória, uma vez que este teste é considerado um modelo sensível à atividade ansiolítica (Prut e Belzunc, 2003).

Em nosso estudo em geral, os resultados demonstraram uma hiperlocomoção apenas nos animais dos grupos Poly: C em todas as idades

independente do sexo dos animais. Resultado consistente ao desta pesquisa foi encontrado por (Zhang et al. 2012), o qual verificou que o tratamento pré-natal com PolyI: C aumentou significativamente a atividade locomotora na prole jovem-adulta. Em adição,(Howland et al. 2012) ainda identificou que o gênero da prole foi um determinante crítico das respostas locomotoras, uma vez que as fêmeas apresentaram níveis significativamente mais altos de atividade locomotora do que os machos.

Diferente de quando observados os grupos que foram submetidos ao protocolo de privação materna, onde estes mostraram uma diminuição da atividade locomotora e exploratória mostrando assim um comportamento do tipo depressivo assim como (Vetulani 2013) também mostrou que animais que foram expostos ao protocolo de privação materna desmonstraram uma diminuição da atividade locomotora.

Um fato importante a ser relatado é de que os efeitos da injeção de Poly:IC já podem ser observados em diferentes fases desde a vida jovem até a vida adulta, porém quando observado nos grupos de privação materna seus efeitos parecem ter início em períodos mais tardes da vida. De fato, experimentos realizados por (Meyer et al. 2006, Ozawa et al. 2006, Steain et al. 2009, Fatemi et al. 2012) observam também alterações comportamentais em prole de animais submetidos ao modelo de Poly:IC durante a gestação.

A extensa literatura já nos mostra que existem evidências suficientes para concluir que a PM induz mudanças duradouras nas respostas emocionais e fisiológicas da prole, como aumento da ansiedade e depressão (Kalinichev et al. 2002, Aisa et al. 2007), atenção e memória deficiências (Aisa et al. 2007), e também maior vulnerabilidade a dependência (Moffett et al. 2007), que leva à má adaptação em adultos (Lupien et al. 2009). Os animais que apresentaram um mesmo comportamento durante toda a vida, ao serem expostos ao 3 estressor de ECM onde este demonstrou um déficit na atividade locomotora corroborando com (Kessler et al. 2010, Hu et al. 2017), ao analisar o comportamento do grupo que recebeu os 3 estressores, podemos observar que o efeito da poly:ic parece ser maior e mais duradouro quando em comparação com grupos que sofreram apenas o ECM isto sendo observado em ratos machos, já nas fêmeas os animais destes grupos não demonstraram nenhuma alteração significativa. Isso mostra que estes estressores como PM e ECM parecem

dependem da idade também do sexo dos animais como mostrado por (Willner et al. 1992, Jung et al. 2014, Miragaia et al. 2018).

Este estudo também avaliou alguns parâmetros através do teste do nado forçado, este sendo baseado na observação de que quando os ratos são expostos à água, após comportamento de fuga intensa inicial, como nadando e escalando, eles param de "lutar" e se mostram passivos determinando um comportamento de imobilidade ou imóvel. Acredita-se que o comportamento imóvel reflète ou uma falha em persistir no comportamento direcionado de fuga após o estresse (ou seja, desespero comportamental) ou o desenvolvimento de comportamento passivo que desencadeia no animal de formas ativas de enfrentamento do estresse (Lucki 1997, Cryan et al. 2002, Cryan and Mombereau 2004, Slattery et al. 2005).

Nosso trabalho não demonstrou nenhuma diferença significativa quando avaliando os parâmetros de nado e de escalada em nenhuma das idades analisadas. Porém ao observar o parâmetro de imobilidade conseguimos destacar diferenças significativas em ratos machos e fêmeas que foram submetidos ao protocolo de privação materna, os animais machos parecem sofrer seus efeitos apenas em idades mais avançadas enquanto as fêmeas parecem ser mais suscetíveis em diferentes etapas da vida neste parâmetro também não foram observadas nenhuma alteração significativa quando relatados os grupos Poly:IC. Estes achados vão de encontro com estudos que nos mostram uma diferença significativa entre o comportamento de animais mais jovens e mais velhos no teste do nado forçado (Walker et al. 1995, Petit-Demouliere et al. 2005, Butkevich et al. 2009). A capacidade de flutuar é observada pela primeira vez em filhotes de ratos aos 21 dias de idade e estabilizada a partir dos 26 dias de idade (Abel 1993). Ratos Sprague-Dawley mais velhos (18-20 meses de idade) submetidos ao teste do nado forçado se mostraram mais imóveis no teste do que ratos adultos jovens (3-4 meses de idade (Turner et al. 2012). No estudo de (Martínez-Mota et al. 2011), ratos machos adultos (90 dias de idade) exibem mais imobilidade e menos atividade em comparação com animais adolescentes (35-37 dias) na sessão de pré-teste, mas mais imobilidade e comportamento de escalada na sessão de teste.

Outros estudos, entretanto, indicam que ratas agrupadas nas fases de pró-estro e estro do ciclo e nas fases de meta-estro e diestro não diferiram em seu comportamento, mas ambos os grupos exibiram mais imobilidade do que os machos (Butkevich et al. 2009, Kokras et al. 2012). O estresse crônico de modalidade mista

(consistindo em isolamento, contenção e derrota social) durante a adolescência encurtou o tempo gasto em comportamento ativo no FST apenas em ratos Wistar fêmeas, mas não em ratos Wistar machos (Bourke and Neigh 2011). Em outro estudo (Armario et al. 1995), nenhuma diferença baseada no gênero foi observada no teste do nado forçado entre os sexos.

Variações interindividuais no comportamento do teste de nado forçado em animais podem interferir com o uso consistente deste teste. Por exemplo, camundongos da mesma linhagem que não recebem nenhum tratamento podem ter grandes variações na duração da imobilidade (Petit-Demouliere et al. 2005). Ratos suscetíveis ao teste de natação, que reduziram o esforço no teste do nado forçado e/ou aumentaram tiveram seu tempo de imobilidade aumentado, também demonstraram ter diferenças interindividuais em outros comportamentos: alta ingestão voluntária de etanol, aumento do consumo de etanol induzido pelo estresse (Bertholomey et al. 2011), reações suprimidas em resposta a choque elétrico incontrolável/esquiva ou PPI (Scott et al. 1996) e baixo desempenho em tarefas de memória espacial (Naudon and Jay 2005). Quando os ratos são divididos em grupos de alta e baixa ingestão de sacarose, com base em sua preferência por beber solução de sacarose *versus* água, o comportamento depressivo induzido por estresse de derrota social crônica no teste do nado forçado é visto apenas em ratos com alto ingestão de sacarose (Kanarik et al. 2011). Em outros estudos, o comportamento no teste de nado forçado foi avaliado em ratos divididos em três grupos de acordo com o tempo gasto nos braços abertos de uma câmara de labirinto em cruz elevada. O labirinto em cruz elevado é um teste comportamental amplamente usado para ansiedade assim como o teste de atividade locomotora (Pellow et al. 1985), baseado em uma tendência exibida por ratos em evitar espaços abertos: normalmente, os braços fechados são explorados por um período mais longo do que os braços abertos. Os animais mais ansiosos (aqueles que passaram menos tempo no braço aberto) têm menos imobilidade na segunda sessão em relação à primeira e uma maior latência de imobilidade, enquanto os outros grupos exibem mais imobilidade na segunda sessão de em relação à primeira e uma menor latência para imobilidade (Estanislau et al. 2011).

O teste de nado forçado já pode ser considerado um estressor em diferentes paradigmas experimentais (Jodar et al. 1995, Fischman et al. 1996, Paredes et al. 2005). Alternativamente, tem sido usado para avaliação dos efeitos

depressogênicos de vários tipos de estresse. Eventos estressantes podem aumentar a ocorrência de depressão (Wager-Smith and Markou 2011), e seria de se esperar que tivessem ação conjunta no teste do nado. No entanto, estudos publicados geram resultados comportamentais inconsistentes sobre o efeito do estresse do nado forçado. Estresse leve crônico imprevisível resultou em um comportamento ativo mais frequente durante a sessão de pré-teste, mas também em um declínio maior de comportamentos ativos do pré-teste para a sessão de teste no rato FST (Bielajew et al. 2003). Em outros estudos, o estresse crônico leve reduziu o tempo de imobilidade em Ratos Wistar Machos (Harro et al. 2001, Häidkind et al. 2003), hipoteticamente devido a um aumento da impulsividade. Porém o efeito do estresse crônico leve depende da idade: a exposição a estressores crônicos de modalidade mista durante a adolescência diminuiu a latência para flutuar e o tempo gasto lutando em fêmeas mas não em machos (Bourke and Neigh 2011). O estressor da derrota social acabou aumentou a imobilidade no rato (Becker et al. 2008, Iio et al. 2011) ou não teve impacto no rato comportamento (Calvo et al. 2011).

A variação nestes achados pode ser explicada por diferenças interindividuais na reação a este tipo de estressor (Kanarik et al. 2011, Morley-Fletcher et al. 2011). Estresse crônico por choque nos pés (usado em um modelo de depressão aprendido de desamparo), ou choque inescapável nas patas, aumentou significativamente a duração da imobilidade no FST em camundongos (Chaturvedi et al. 2001). Surpreendentemente, as variações do choque afetam diferentemente os resultados do nado. Um choque elétrico suave aumentou o efeito do antidepressivo tricíclico clomipramina, enquanto choques moderados de maior intensidade ou duração reduziram este (Consoli et al. 2005).

O efeito do estresse crônico de contenção (imobilização por várias horas diárias em um ambiente especial câmara de contenção por vários dias) varia possivelmente devido à influência da hiperlocomoção induzido por este tipo de estressor no rato (Ito et al. 2010): pode diminuir a imobilidade (efeito do tipo antidepressivo) (Swiergiel et al. 2007), produzir comportamento do tipo depressivo, ou seja, um aumento no tempo de imobilidade (Veena et al. 2009, Lee et al. 2012) ou não ter nenhuma alteração no tempo de imobilidade (Suvrathan et al. 2010).

Efeito da privação materna precoce, por exemplo, separação de rato filhotes de suas mães por várias horas por dia no início do período pós-natal pareciam ter uma maior relevância na predisposição genética do que pelo desenho experimental

ou idade dos animais. O procedimento relativamente leve de remoção temporária da mãe (enquanto todos os filhotes deixam sua gaiola) aumentou o tempo de imobilidade e levou a diminuição do tempo de escalada de Wistar adultos ratos machos (Réus et al. 2011).

Em outros estudos, a privação materna não alterou a imobilidade em linhagens de ratos espontaneamente hipertensos (Sterley et al. 2011) ou ratos Wistar adultos (Wigger and Neumann 1999). No estudo de (Marais et al. 2008), comportamento tipo depressivo foi observado em ratos submetidos ao protocolo de privação materna somente após estresse crônico adicional. Ratas mães também mostraram um impacto comportamental de longo prazo de separação de seus filhotes, exibindo aumento da imobilidade e encurtamento da natação (Bölükbas et al. 2020).

Em contrapartida a prole de mães expostas ao estresse durante a gravidez demonstrou comportamento semelhante ao depressivo no teste do nado forçado (Drago et al. 1999, Morley-Fletcher et al. 2003, Abe et al. 2007). No entanto, um estudo de (Rayen et al. 2011), demonstrou que a prole de ratos estressados passou significativamente menos tempo imóvel na adolescência em comparação ao grupo controle. Discrepâncias nas consequências comportamentais do início da vida e estresse pré-natal podem ser produzidas por diferenças nos protocolos experimentais, bem como na linhagem ou idade dos animais (Butkevich et al. 2009).

A análise do consumo de sacarose foi utilizada como forma de mensurar o estresse e a apatia dos animais quando submetidos efeitos estressores diversos conforme as faixas etárias dos animais. O protocolo utilizado por esse presente estudo manteve a comparação entre os animais controle, os quais não foram privados, e os animais submetidos a eventos como: Privação Materna (PM), Poly:IC e Poly:IC associado à (PM). O teste de consumo da sacarose foi utilizado em animais do sexo masculino e feminino, e a coleta de dados ocorreu nos períodos de 30 dias, 45 dias e 60 dias de vida.

Nos animais com 30 dias, apenas as fêmeas submetidas à Poly: IC obtiveram um maior consumo de sacarose 2% quando comparado aos animais não privados e aos demais fatores estressantes. Entretanto, os machos dessa mesma idade que sofreram por privação materna ou por Poly:IC+ PM, passaram a consumir menos sacarose 2%, quando comparado ao consumo de água normal e que o consumo dos não privados. Curiosamente, os machos de 30 dias que estavam sob efeito de Poly: IC, passaram a consumir mais água e sacarose 2% que os não

privados. Na faixa etária de 45 dias, as fêmeas que passaram por privação materna apresentaram consumo de sacarose maior que o consumo de água, mas não maior que os não privados e as fêmeas sujeitadas à Poly:IC + PM apresentaram consumo maior de água que os não privados. Quanto aos machos desse mesmo período, foram notados apenas um sutil aumento do consumo tanto de água quanto de sacarose 2% nos privados de maternidade ou em Poly: IC + PM, dando destaque a um leve consumo maior de sacarose a nestes últimos. Nos animais de 60 dias, foi uma redução no consumo de sacarose de ambos os sexos em privação materna ou em Poly:IC + PM em relação ao grupo controle. Também foi percebido um aumento do consumo de sacarose 2% em machos sujeitos à Poly:IC e aumento do consumo de água e de sacarose 2% em fêmeas também submetidas à Poly:IC.

Os achados evidenciados nos animais utilizados têm como natureza o aumento do consumo de sacarose 2% em relação aos não privados, como podemos ver em machos e fêmeas de 30 dias sob efeito de Poly: IC, nos machos de 45 dias sob privação materna ou Poly:IC + PM, além de ambos os sexos da faixa etária de 60 dias submetidos à Poly: IC. Esses resultados coletados corroboram com as pesquisas realizadas com protocolos análogos de avaliação comportamental por meio do teste de consumo de sacarose, utilizando-se de ratos C57BL/6J, ratos transgênicos e ratos SPF ICR, e conduzidas pelos pesquisadores (Liu et al. 2019, Meyerolbersleben et al. 2020, Yoshizaki et al. 2020). Nesses estudos, foram demonstrados o estado de anedonia animal, assim como de acordo com os resultados obtidos e apresentados pelos animais de 30 dias nessa presente tese, a considerar, como relação direta, os efeitos estressores estudados com o comportamento excêntrico e com as características depressivas por parte destes animais.

Entretanto, nos demais grupos de animais utilizados, os resultados não condizem com as pesquisas supracitadas, divergência esta que pode ser inerente à vieses ou dado às variações protocolais intrínsecas da estrutura de cada um dos estudos citados acima, a podendo conferir certo contraste com os resultados coletados por essa tese em questão.

O *Splash* teste foi utilizado para verificar a capacidade que o animal possui em sentir prazer frente às condições traumáticas propostas pela pesquisa. A comparação realizada por este método revelou uma relevante variação entre os animais Não Privados, considerados controle, e àqueles submetidos a eventos como: Privação Materna (PM), Poly:IC e Poly:IC associado à Privação Materna (PM). Os

dados também foram coletados e comparados entre animais do sexo masculino e feminino, sendo os dados apurados nos períodos de 30 dias, 45 dias, 60 dias e 80 dias de vida.

Tanto os machos quanto as fêmeas de 30 dias, quando submetidos à Poly:IC e à Poly: IC + PM, apresentaram reduções significativas frente ao *Splash* teste, quando comparados ao grupo controle. A privação materna nesta mesma faixa etária reduziu o tempo de limpeza apenas nas fêmeas e não surtiu o mesmo efeito nos machos da mesma idade. Quando analisado os animais com 45 dias, foi percebido, em ambos os sexos, a influência da privação materna. A associação de Poly:IC + PM também se apresentou com redução do tempo de limpeza, caracterizando como um comportamento anedônico. Já nos animais que possuem 60 dias, tanto a privação materna quanto a associação de Poly:IC + PM, reduziram o tempo de limpeza em ambos os sexos, fator que também foi percebido quando administrado Poly:IC em machos. Por fim, nos animais que possuem 80 dias, torna-se nítida a influência, em ambos os sexos, de todos os fatores estressantes impostos sobre os animais, associados ou isolados, tais como nas cobaias em: Privação Materna, Poly: IC, Poly: IC + PM, Não Privados + ECM, Privação Materna + ECM, Poly: IC + ECM e Poly: IC + PM + ECM, a reduzir significativamente o tempo de limpeza em todos os casos relatados nessa faixa etária.

Os resultados obtidos no *Splash test* já foram amplamente validados em estudos de teste comportamental em modelo animal. Em uma pesquisa conduzida por (Pereira et al. 2020), que utilizavam o *Splash* teste como forma de mensurar os níveis de desespero e de enfrentamento do animal após situação estressante. Nesse estudo, foram utilizados 48 camundongos machos no total, mantidos à 22 ± 2 °C, sob 12h de ciclo claro-escuro e com livre acesso à alimento e água. A pesquisa foi dividida em duas partes, e a avaliação inicial contava com a indução de comportamentos depressivos pela administração crônica de corticosterona por 21 dias consecutivos e a avaliação comportamental, 24 horas após a última administração da droga, utilizou como uma de suas ferramentas, o *Splash* teste, para ratificar alterações comportamentais. Achados semelhantes também foram evidenciados em estudos conduzidos por (Karbowska et al. 2020), onde o protocolo consistia com a utilização de ratos albinos Wistar, aclimatados por 7 dias em biotério, com ciclos de 12 horas de claro e escuro, temperatura de 25°C, umidade de $55 \pm 5\%$, alojando-os em gaiolas individuais e com dietas a base de pellets e água. O *Splash* Teste foi realizado sob

luz vermelha e com a administração de solução de sacarose a 10% sobre o dorso do animal. A sua avaliação foi realizada entre o dia 24 e o dia 27 do experimento e obteve resultados que também permitiram perceber alterações psicogênicas. Contata-se, portanto, uma forte relação causal entre os fatores estressantes impostos aos animais ao longo dos 30 dias, 45 dias, 60 dias e 80 dias, ao passo os ensaios aludidos possuíam protocolos semelhantes aos apresentados por essa tese e que também caracterizaram estas alterações no comportamento do *Splash* Teste como apáticas e inexpressivas.

Por fim, em relação a dosagem de citocinas nosso trabalho fez a avaliação de quatro parâmetros inflamatórios em duas idades diferentes. Com isso, conseguimos observar um aumento de citocinas pró-inflamatórias em estruturas cerebrais como bulbo, córtex, hipocampo e estriado, onde uma ou todas acabaram demonstrando alterações mediadas pelos estressores em algumas das idades analisadas. De fato, a injeção de Poly:IC contribui para alterações na neurogênese materno-fetal, na mielinização fetal e está diretamente envolvida na patogênese de transtornos neurodesenvolvimentais na prole, em especial a esquizofrenia e o autismo, além de ansiedade e depressão (Babri et al. 2014). Com base nisso, modelos animais de AIM têm sido estabelecidos a fim de demonstrar a relação entre infecção materna e transtornos psiquiátricos. Déficits relacionados a estes transtornos são observados na prole adulta de modelos animais, incluindo alterações comportamentais, anormalidades em regiões cerebrais e o desequilíbrio na neurotransmissão cerebral (Li et al. 2012).

Vários estudos averiguaram os efeitos da infecção materna durante a gestação em modelos animais utilizando diferentes agentes, como Lipopolissacarídeo (LPS), o vírus influenza humano e Poly:IC (Golan et al. 2005, Fatemi et al. 2008), que consiste em um RNA sintético de fita dupla frequentemente usado como mimético viral que induz a liberação de citocinas pró-inflamatórias. A administração de uma injeção pré-natal de Poly:IC nas progenitoras demonstrou induzir várias mudanças cognitivas e comportamentais na vida adulta de seus filhos (Ozawa et al. 2006), incluindo alterações no comportamento exploratório, inibição de pré-pulso, inibição latente e memória espacial funcional (Meyer et al. 2008).

A liberação de ativadores imunológicos e inflamatórios, tais como Poly:IC, IFN- γ e LPS, são induzidos por eventos estressores e ativam a microglia no sistema nervoso central (SNC). Esses ativadores são mais notórios em períodos críticos da

vida, como no período gestacional. Assim, a ativação da microglia libera citocinas pró-inflamatórias e radicais livres que podem causar degeneração neuronal, anormalidades na substância branca e diminuição da neurogênese materna e fetal. Esta interação, neurônio-microglia, pode levar a lesão e perda neuronal, sendo inclusive um importante fator envolvido na fisiopatologia dos transtornos neurodesenvolvimentais (Monji et al. 2009).

No entanto, houve uma diminuição dos níveis de citocinas anti-inflamatórias (IL-10) e aumento dos níveis de pró-inflamatórias (IL-1 β , IL-6 e TNF- α) no cérebro e soro dos animais. As alterações nos níveis de citocinas parecem ter associação com estados de doença, encontrados em pacientes com histórico de traumas na infância que desenvolveram esquizofrenia e/ou depressão (Tractenberg et al. 2016). Visto que no sistema nervoso central desempenham importante papel na neurogênese, plasticidade sináptica, memória e aprendizagem (Réus et al. 2017) e a regulação entre essas citocinas pró e anti-inflamatórias é necessária para o desenvolvimento e comportamento neuronal adequado.

As citocinas pró-inflamatórias exercem diferentes ações neuroprotetoras e neurotóxicas. A IL-1 β , por exemplo, contribui para a formação da memória no nível fisiológico. No entanto, quando é expressa excessivamente, induz inflamação e inibe a neurogênese hipocampal (Kim et al. 2016). Ademais, as citocinas IL-4 e IL-10 tem um papel crucial na imunidade cerebral com efeitos benéficos na cognição, aprendizagem e memória, atuando na regulação da neurogênese, além de exercer um efeito neuroprotetor via diminuição de citocinas pró-inflamatórias e combatendo alterações psicossomáticas (Gadani et al. 2012, Burmeister and Marriott 2018).

Como a maioria das citocinas pró-inflamatórias compromete a neurogênese e, sabendo-se que a injeção de Poly:IC aumenta a liberação destas, em especial IL-1, IL-6 e TNF- α , é possível que a elevação destes marcadores na vida jovem-adulta da prole desencadeie prejuízos neurogênicos e, conseqüentemente, alterações comportamentais (Gonzalez-Perez et al., 2012).

As respostas ao estresse podem ser, portanto, amigas e inimigas, e os custos e benefícios são equilibrados para proporcionar o melhor resultado de adequação. A extensão em que os custos de longo prazo são importantes em um sentido evolutivo varia entre as espécies. A evolução por meio da seleção natural moldou as características da história de vida dos animais (idade e tamanho na maturidade, padrões de crescimento, número de descendentes, investimento relativo

na autossustentação) para maximizar seu sucesso reprodutivo durante a vida. Para algumas espécies, crescer rápido e ter um único evento reprodutivo importante seguido de morte dá o melhor resultado de adequação, enquanto para outras espécies, a melhor estratégia é crescer lentamente, viver muito tempo e produzir repetidamente um pequeno número de descendentes. Esses tipos de ajustes benéficos de características fenotípicas com base em sinais transmitidos direta ou indiretamente para os animais em desenvolvimento foram inseridos em "respostas adaptativas preditivas" (PARS) (Gluckman et al. 2009).

Isso depende de alguma estabilidade ambiental - ou seja, as condições experimentadas durante o desenvolvimento precisam ser preditivas das condições subsequentes em um período apropriado. Não está claro se as patologias aparentes associadas à exposição precoce ao estresse (Monaghan and Hausmann 2015) são de fato uma consequência de ajustes fenotípicos que fazem o melhor em situações ruins ou representam níveis de estresse fora das capacidades de enfrentamento desenvolvidas.

7. CONCLUSÃO

Este estudo investigou parâmetros comportamentais e inflamatórios em animais que foram expostos a diferentes estressores em diferentes idades da vida. Pode se concluir que estes estressores são capazes de induzir comportamentos do tipo ansiolítico como o aumento da atividade locomotora através de protocolo de ativação imune materna utilizando da Poly:IC e demonstrando comportamentos do tipo depressivo, através dos protocolos de PM e ECM. Assim como também mostrou alterações em estruturas cerebrais para parâmetros pró-inflamatórios, IL-1 β e TNF- α , e alterações em parâmetros anti-inflamatórios, IL-4 e IL-10, em diferentes idades da vida.

Quando se buscando uma relação entre grupos que acabaram sendo submetidos a mais de um protocolo estressor, os resultados nos indicam que pelo menos parcialmente eles não parecem se complementar, ou seja, os estudos indicam que ao menos os estressores testados neste trabalho acabam agindo de maneiras isoladas para cada tipo de sintoma observado no trabalho, não se potencializando ao longo da vida.

Diante disso, enfatiza se a necessidade de novos estudos pré-clínicos que avaliem diferentes parâmetros e utilizem de ferramentas que auxiliem a compreender até que ponto as histórias de desenvolvimento dos indivíduos influenciam sua capacidade de lidar com os desafios ambientais.

REFERÊNCIAS

- Abe, H., N. Hidaka, C. Kawagoe, K. Odagiri, Y. Watanabe, T. Ikeda, Y. Ishizuka, H. Hashiguchi, R. Takeda, T. Nishimori and Y. Ishida (2007). "Prenatal psychological stress causes higher emotionality, depression-like behavior, and elevated activity in the hypothalamo-pituitary-adrenal axis." Neurosci Res **59**(2): 145-151.
- Abel, E. L. (1993). "Ontogeny of immobility and response to alarm substance in the forced swim test." Physiol Behav **54**(4): 713-716.
- Abelaira, H. M., G. Z. Reus and J. Quevedo (2013). "Animal models as tools to study the pathophysiology of depression." Revista Brasileira de Psiquiatria **35**(suppl 2): S112-S120.
- Aderem, A. and R. J. Ulevitch (2000). "Toll-like receptors in the induction of the innate immune response." Nature **406**(6797): 782-787.
- Aisa, B., R. Tordera, B. Lasheras, J. Del Río and M. J. Ramírez (2007). "Cognitive impairment associated to HPA axis hyperactivity after maternal separation in rats." Psychoneuroendocrinology **32**(3): 256-266.
- Alberts, J. R. (2007). "Huddling by rat pups: Ontogeny of individual and group behavior." Developmental Psychobiology **49**(1): 22-32.
- Alexopoulou, L., A. C. Holt, R. Medzhitov and R. A. Flavell (2001). "Recognition of double-stranded RNA and activation of NF- κ B by Toll-like receptor 3." Nature **413**(6857): 732-738.
- Andersen, S. L., S. Andersen, Z. Liew, P. Vestergaard and J. Olsen (2018). "Maternal Thyroid Function in Early Pregnancy and Neuropsychological Performance of the Child at 5 Years of Age." (1945-7197 (Electronic)).
- Angeler, D. G., C. R. Allen and M. L. Persson (2018). "Resilience concepts in psychiatry demonstrated with bipolar disorder." (2194-7511 (Print)).
- Armario, A., A. Gavaldà and J. Martí (1995). "Comparison of the behavioural and endocrine response to forced swimming stress in five inbred strains of rats." Psychoneuroendocrinology **20**(8): 879-890.
- Babri, S., M. H. Doosti and A. A. Salari (2014). "Strain-dependent effects of prenatal maternal immune activation on anxiety- and depression-like behaviors in offspring." Brain Behav Immun **37**: 164-176.
- Balu, D. T. and I. Lucki (2009). "Adult hippocampal neurogenesis: regulation, functional implications, and contribution to disease pathology." Neuroscience and biobehavioral reviews **33**(3): 232-252.
- Banny, A. M., D. Cicchetti, F. A. Rogosch, A. Oshri and N. R. Crick (2013). "Vulnerability to depression: a moderated mediation model of the roles of child maltreatment, peer victimization, and serotonin transporter linked polymorphic region genetic variation among children from low socioeconomic status backgrounds." Dev Psychopathol **25**(3): 599-614.

- Barden, N. (2004). "Implication of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in the physiopathology of depression." Journal of psychiatry & neuroscience : JPN **29**(3): 185-193.
- Barker, V., G. Middleton, F. Davey and A. M. Davies (2001). "TNF α contributes to the death of NGF-dependent neurons during development." Nature Neuroscience **4**(12): 1194-1198.
- Beattie Eric, C., D. Stellwagen, W. Morishita, C. Bresnahan Jacqueline, K. Ha Byeong, M. Von Zastrow, S. Beattie Michael and C. Malenka Robert (2002). "Control of Synaptic Strength by Glial TNF α ." Science **295**(5563): 2282-2285.
- Bebbington, P. E., D. Bhugra, T. Brugha, N. Singleton, M. Farrell, R. Jenkins, G. Lewis and H. Meltzer (2004). "Psychosis, victimisation and childhood disadvantage: Evidence from the second British National Survey of Psychiatric Morbidity." British Journal of Psychiatry **185**(3): 220-226.
- Becker, C., B. Zeau, C. Rivat, A. Blugeot, M. Hamon and J. J. Benoliel (2008). "Repeated social defeat-induced depression-like behavioral and biological alterations in rats: involvement of cholecystokinin." Molecular Psychiatry **13**(12): 1079-1092.
- Bertholomey, M. L., C. H. K. West, M. L. Jensen, T.-k. Li, R. B. Stewart, J. M. Weiss and L. Lumeng (2011). "Genetic propensities to increase ethanol intake in response to stress: studies with selectively bred swim test susceptible (SUS), alcohol-preferring (P), and non-preferring (NP) lines of rats." Psychopharmacology **218**: 157-167.
- Bessa, J. M., D. Ferreira, I. Melo, F. Marques, J. J. Cerqueira, J. A. Palha, O. F. X. Almeida and N. Sousa (2009). "The mood-improving actions of antidepressants do not depend on neurogenesis but are associated with neuronal remodeling." Molecular Psychiatry **14**(8): 764-773.
- Bielajew, C., A. T. Konkle, A. C. Kentner, S. L. Baker, A. Stewart, A. A. Hutchins, L. Santa-Maria Barbagallo and G. Fouriez (2003). "Strain and gender specific effects in the forced swim test: effects of previous stress exposure." Stress **6**(4): 269-280.
- Boksa, P. (2010). "Effects of prenatal infection on brain development and behavior: a review of findings from animal models." (1090-2139 (Electronic)).
- Bölükbas, I., A. Mundorf and N. Freund (2020). "Maternal separation in rats induces neurobiological and behavioral changes on the maternal side." Scientific Reports **10**(1): 22431.
- Boulanger-Bertolus, J., C. Pancaro and G. A. Mashour (2018). "Increasing Role of Maternal Immune Activation in Neurodevelopmental Disorders." (1662-5153 (Print)).
- Bourke, C. H. and G. N. Neigh (2011). "Behavioral effects of chronic adolescent stress are sustained and sexually dimorphic." Horm Behav **60**(1): 112-120.
- Bourke, C. H. and G. N. Neigh (2011). "Behavioral effects of chronic adolescent stress are sustained and sexually dimorphic." Hormones and behavior **60**(1): 112-120.
- Branchi, I. and F. Cirulli (2014). "Early experiences: Building up the tools to face the challenges of adult life." Developmental Psychobiology **56**(8): 1661-1674.

- Brandon, N. J. and A. Sawa (2011). "Linking neurodevelopmental and synaptic theories of mental illness through DISC1." (1471-0048 (Electronic)).
- Brown, A. S. (2006). "Prenatal infection as a risk factor for schizophrenia." (0586-7614 (Print)).
- Brunson, K. L., E. Kramár, B. Lin, Y. Chen, L. L. Colgin, T. K. Yanagihara, G. Lynch and T. Z. Baram (2005). "Mechanisms of late-onset cognitive decline after early-life stress." *J Neurosci* **25**(41): 9328-9338.
- Burmeister, A. R. and I. Marriott (2018). "The Interleukin-10 Family of Cytokines and Their Role in the CNS." *Frontiers in cellular neuroscience* **12**: 458-458.
- Butkevich, I. P., V. A. Mikhailenko, E. A. Vershinina, P. O. Semionov, V. A. Otellin and A. M. Aloisi (2009). "Heterogeneity of the infant stage of rat development: inflammatory pain response, depression-related behavior, and effects of prenatal stress." *Brain Res* **1286**: 53-59.
- Calvo, N., M. Cecchi, M. Kabbaj, S. J. Watson and H. Akil (2011). "Differential effects of social defeat in rats with high and low locomotor response to novelty." *Neuroscience* **183**: 81-89.
- Chaturvedi, H. K., J. S. Bapna and D. Chandra (2001). "Effect of fluvoxamine and N-methyl-D-aspartate receptor antagonists on shock-induced depression in mice." *Indian J Physiol Pharmacol* **45**(2): 199-207.
- Choi, D. C., N. K. Furay Ar Fau - Evanson, M. M. Evanson Nk Fau - Ostrander, Y. M. Ostrander Mm Fau - Ulrich-Lai, J. P. Ulrich-Lai Ym Fau - Herman and J. P. Herman (2007). "Bed nucleus of the stria terminalis subregions differentially regulate hypothalamic-pituitary-adrenal axis activity: implications for the integration of limbic inputs." (1529-2401 (Electronic)).
- Cirulli, F., G. Laviola and L. Ricceri (2009). "Risk factors for mental health: translational models from behavioural neuroscience." *Neuroscience and biobehavioral reviews* **33**(4): 493-497.
- Clarke, M. C., M. Harley M Fau - Cannon and M. Cannon (2006). "The role of obstetric events in schizophrenia." (0586-7614 (Print)).
- Consoli, D., J. Fedotova, V. Micale, N. S. Saprionov and F. Drago (2005). "Stressors affect the response of male and female rats to clomipramine in a model of behavioral despair (forced swim test)." *Eur J Pharmacol* **520**(1-3): 100-107.
- Cryan, J. F., A. Markou and I. Lucki (2002). "Assessing antidepressant activity in rodents: recent developments and future needs." *Trends Pharmacol Sci* **23**(5): 238-245.
- Cryan, J. F. and C. Mombereau (2004). "In search of a depressed mouse: utility of models for studying depression-related behavior in genetically modified mice." *Molecular Psychiatry* **9**(4): 326-357.
- Császár-Nagy, N. and I. Bókkon (2018). "Mother-newborn separation at birth in hospitals: A possible risk for neurodevelopmental disorders?" *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* **84**: 337-351.
- D'Amato, F. R., S. Cabib, R. Ventura and C. Orsini (1998). "Long-term effects of postnatal manipulation on emotionality are prevented by maternal anxiolytic treatment in mice." *Developmental Psychobiology* **32**(3): 225-234.

- Dammann, O., A. Kuban Kc Fau - Leviton and A. Leviton (2002). "Perinatal infection, fetal inflammatory response, white matter damage, and cognitive limitations in children born preterm." (1080-4013 (Print)).
- Dantzer, R., G. G. O'Connor Jc Fau - Freund, R. W. Freund Gg Fau - Johnson, K. W. Johnson Rw Fau - Kelley and K. W. Kelley (2008). "From inflammation to sickness and depression: when the immune system subjugates the brain." (1471-0048 (Electronic)).
- Davis, E. P., S. A. Stout, J. Molet, B. Vegetabile, L. M. Glynn, C. A. Sandman, K. Heins, H. Stern and T. Z. Baram (2017). "Exposure to unpredictable maternal sensory signals influences cognitive development across species." Proc Natl Acad Sci U S A **114**(39): 10390-10395.
- Dayas, C. V., J. W. Buller Km Fau - Crane, Y. Crane Jw Fau - Xu, T. A. Xu Y Fau - Day and T. A. Day (2001). "Stressor categorization: acute physical and psychological stressors elicit distinctive recruitment patterns in the amygdala and in medullary noradrenergic cell groups." (0953-816X (Print)).
- de Oliveira, L., D. B. Fraga, R. D. De Luca, L. Canever, F. V. Ghedim, M. P. P. Matos, E. L. Streck, J. Quevedo and A. I. Zugno (2011). "Behavioral changes and mitochondrial dysfunction in a rat model of schizophrenia induced by ketamine." Metabolic Brain Disease **26**(1): 69-77.
- DeMorrow, S. (2018). "Role of the Hypothalamic-Pituitary-Adrenal Axis in Health and Disease." International journal of molecular sciences **19**(4): 986.
- Drago, F., F. Di Leo and L. Giardina (1999). "Prenatal stress induces body weight deficit and behavioural alterations in rats: the effect of diazepam." Eur Neuropsychopharmacol **9**(3): 239-245.
- Enayati, M., J. Solati, M.-H. Hosseini, H.-R. Shahi, G. Saki and A.-A. Salari (2012). "Maternal infection during late pregnancy increases anxiety- and depression-like behaviors with increasing age in male offspring." Brain Research Bulletin **87**(2): 295-302.
- Estanislau, C., A. C. Ramos, P. D. Ferraresi, N. F. Costa, H. M. de Carvalho and S. Batistela (2011). "Individual differences in the elevated plus-maze and the forced swim test." Behav Processes **86**(1): 46-51.
- Fatemi, S. H., T. D. Folsom, R. J. Rooney, S. Mori, T. E. Kornfield, T. J. Reutiman, R. E. Kneeland, S. B. Liesch, K. Hua, J. Hsu and D. H. Patel (2012). "The viral theory of schizophrenia revisited: abnormal placental gene expression and structural changes with lack of evidence for H1N1 viral presence in placentae of infected mice or brains of exposed offspring." Neuropharmacology **62**(3): 1290-1298.
- Fatemi, S. H., T. J. Reutiman, T. D. Folsom, H. Huang, K. Oishi, S. Mori, D. F. Smee, D. A. Pearce, C. Winter, R. Sohr and G. Juckel (2008). "Maternal infection leads to abnormal gene regulation and brain atrophy in mouse offspring: implications for genesis of neurodevelopmental disorders." Schizophr Res **99**(1-3): 56-70.
- Fatemi, S. H., T. J. Reutiman, T. D. Folsom, H. Huang, K. Oishi, S. Mori, D. F. Smee, D. A. Pearce, C. Winter, R. Sohr and G. Juckel (2008). "Maternal infection leads to abnormal gene regulation and brain

atrophy in mouse offspring: implications for genesis of neurodevelopmental disorders." Schizophrenia research **99**(1-3): 56-70.

Felitti, V. J., D. Anda Rf Fau - Nordenberg, D. F. Nordenberg D Fau - Williamson, A. M. Williamson Df Fau - Spitz, V. Spitz Am Fau - Edwards, M. P. Edwards V Fau - Koss, J. S. Koss Mp Fau - Marks and J. S. Marks (1998). "Relationship of childhood abuse and household dysfunction to many of the leading causes of death in adults. The Adverse Childhood Experiences (ACE) Study." (0749-3797 (Print)).

Fischman, H. K., R. W. Pero and D. D. Kelly (1996). "Psychogenic stress induces chromosomal and DNA damage." Int J Neurosci **84**(1-4): 219-227.

Forbes, N. F., C. A. Stewart, K. Matthews and I. C. Reid (1996). "Chronic Mild Stress and Sucrose Consumption: Validity as a Model of Depression." Physiology & Behavior **60**(6): 1481-1484.

Francesconi, L. P., K. M. Ceresér, R. Mascarenhas, L. Stertz, C. S. Gama and P. Belmonte-de-Abreu (2011). "Increased annexin-V and decreased TNF-alpha serum levels in chronic-medicated patients with schizophrenia." Neuroscience Letters **502**(3): 143-146.

Gadani, S. P., J. C. Cronk, G. T. Norris and J. Kipnis (2012). "IL-4 in the brain: a cytokine to remember." J Immunol **189**(9): 4213-4219.

Garay, P. A., E. Y. Hsiao, P. H. Patterson and A. K. McAllister (2013). "Maternal immune activation causes age- and region-specific changes in brain cytokines in offspring throughout development." Brain, Behavior, and Immunity **31**: 54-68.

Giedd, J. N. (2009). "Linking adolescent sleep, brain maturation, and behavior." (1879-1972 (Electronic)).

Gilbert, R., C. S. Widom, K. Browne, D. Fergusson, E. Webb and S. Janson (2009). "Burden and consequences of child maltreatment in high-income countries." The Lancet **373**(9657): 68-81.

Girard, M. P., J. S. Tam, O. M. Assossou and M. P. Kieny (2010). "The 2009 A (H1N1) influenza virus pandemic: A review." Vaccine **28**(31): 4895-4902.

Gluckman, P. D., M. A. Hanson, P. Bateson, A. S. Beedle, C. M. Law, Z. A. Bhutta, K. V. Anokhin, P. Bournès, G. R. Chandak, P. Dasgupta, G. D. Smith, P. T. Ellison, T. E. Forrester, S. F. Gilbert, E. Jablonka, H. Kaplan, A. M. Prentice, S. J. Simpson, R. Uauy and M. J. West-Eberhard (2009). "Towards a new developmental synthesis: adaptive developmental plasticity and human disease." The Lancet **373**(9675): 1654-1657.

Gobinath, A. R., E. Choleris and L. A. M. Galea (2017). "Sex, hormones, and genotype interact to influence psychiatric disease, treatment, and behavioral research." Journal of Neuroscience Research **95**(1-2): 50-64.

Golan, H., T. Levav, A. Mendelsohn and M. Huleihel (2004). "Involvement of Tumor Necrosis Factor Alpha in Hippocampal Development and Function." Cerebral Cortex **14**(1): 97-105.

- Golan, H. M., V. Lev, M. Hallak, Y. Sorokin and M. Huleihel (2005). "Specific neurodevelopmental damage in mice offspring following maternal inflammation during pregnancy." Neuropharmacology **48**(6): 903-917.
- Gonzalez-Perez, O., F. Gutierrez-Fernandez, V. Lopez-Virgen, J. Collas-Aguilar, A. Quinones-Hinojosa and J. M. Garcia-Verdugo (2012). "Immunological regulation of neurogenic niches in the adult brain." Neuroscience **226**: 270-281.
- Goshen, I. and R. Yirmiya (2009). "Interleukin-1 (IL-1): A central regulator of stress responses." Frontiers in Neuroendocrinology **30**(1): 30-45.
- Graciarena, M. (2019). "Cytokines and Chemokines in Novel Roles: Exploring Their Potential as Predictors of Autism Spectrum Disorder." Biological Psychiatry **86**(4): e11-e12.
- Häidkind, R., M. Eller, M. Harro, A. Kask, A. Rincken, L. Oreland and J. Harro (2003). "Effects of partial locus coeruleus denervation and chronic mild stress on behaviour and monoamine neurochemistry in the rat." Eur Neuropsychopharmacol **13**(1): 19-28.
- Harro, J., M. Tönissaar, M. Eller, A. Kask and L. Oreland (2001). "Chronic variable stress and partial 5-HT denervation by parachloroamphetamine treatment in the rat: effects on behavior and monoamine neurochemistry." Brain Res **899**(1-2): 227-239.
- Hava, G., L. Vered, M. Yael, H. Mordechai and H. Mahoud (2006). "Alterations in behavior in adult offspring mice following maternal inflammation during pregnancy." Developmental Psychobiology **48**(2): 162-168.
- Hegarty, S. V., A. M. Sullivan and G. W. O'Keefe (2017). "Endocytosis contributes to BMP2-induced Smad signalling and neuronal growth." Neuroscience Letters **643**: 32-37.
- Herman, J. P. and W. E. Cullinan (1997). "Neurocircuitry of stress: central control of the hypothalamo-pituitary-adrenocortical axis." (0166-2236 (Print)).
- Herman, J. P., N. K. Figueiredo H Fau - Mueller, Y. Mueller Nk Fau - Ulrich-Lai, M. M. Ulrich-Lai Y Fau - Ostrander, D. C. Ostrander Mm Fau - Choi, W. E. Choi Dc Fau - Cullinan and W. E. Cullinan (2003). "Central mechanisms of stress integration: hierarchical circuitry controlling hypothalamo-pituitary-adrenocortical responsiveness." (0091-3022 (Print)).
- Hofer, M. A. (2005). "The psychobiology of early attachment." Clinical Neuroscience Research **4**(5): 291-300.
- Howland, J. G., B. N. Czakoff and Y. Zhang (2012). "Altered object-in-place recognition memory, prepulse inhibition, and locomotor activity in the offspring of rats exposed to a viral mimetic during pregnancy." Neuroscience **201**: 184-198.
- Hu, C., Y. Luo, H. Wang, S. Kuang, G. Liang, Y. Yang, S. Mai and J. Yang (2017). "Re-evaluation of the interrelationships among the behavioral tests in rats exposed to chronic unpredictable mild stress." PloS one **12**(9): e0185129-e0185129.

- lio, W., N. Matsukawa, T. Tsukahara, D. Kohari and A. Toyoda (2011). "Effects of chronic social defeat stress on MAP kinase cascade." Neurosci Lett **504**(3): 281-284.
- Ito, H., M. Nagano, H. Suzuki and T. Murakoshi (2010). "Chronic stress enhances synaptic plasticity due to disinhibition in the anterior cingulate cortex and induces hyper-locomotion in mice." Neuropharmacology **58**(4-5): 746-757.
- Jacobson, L. (2005). "Hypothalamic-pituitary-adrenocortical axis regulation." (0889-8529 (Print)).
- Jawahar, M. C., C. Murgatroyd, E. L. Harrison and B. T. Baune (2015). "Epigenetic alterations following early postnatal stress: a review on novel aetiological mechanisms of common psychiatric disorders." Clin Epigenetics **7**: 122.
- Jodar, L., M. Takahashi and H. Kaneto (1995). "Effects of footshock-, psychological- and forced swimming-stress on the learning and memory processes: involvement of opioidergic pathways." Jpn J Pharmacol **67**(2): 143-147.
- Jung, Y.-H., S.-I. Hong, S.-X. Ma, J.-Y. Hwang, J.-S. Kim, J.-H. Lee, J.-Y. Seo, S.-Y. Lee and C.-G. Jang (2014). "Strain differences in the chronic mild stress animal model of depression and anxiety in mice." Biomolecules & therapeutics **22**(5): 453-459.
- Juruena, M. F., A. J. Cleare and C. M. Pariante (2004). "O eixo hipotálamo-pituitária-adrenal, a função dos receptores de glicocorticóides e sua importância na depressão." Revista Brasileira de Psiquiatria **26**(3): 189-201.
- Kaffman, A. and M. J. Meaney (2007). "Neurodevelopmental sequelae of postnatal maternal care in rodents: clinical and research implications of molecular insights." Journal of Child Psychology and Psychiatry **48**(3-4): 224-244.
- Kalinichev, M., K. W. Easterling, P. M. Plotsky and S. G. Holtzman (2002). "Long-lasting changes in stress-induced corticosterone response and anxiety-like behaviors as a consequence of neonatal maternal separation in Long-Evans rats." Pharmacology Biochemistry and Behavior **73**(1): 131-140.
- Kallarackal, A. J., M. D. Kvarta, E. Cammarata, L. Jaber, X. Cai, A. M. Bailey and S. M. Thompson (2013). "Chronic stress induces a selective decrease in AMPA receptor-mediated synaptic excitation at hippocampal temporoammonic-CA1 synapses." The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience **33**(40): 15669-15674.
- Kanarik, M., A. Althoa, D. Matrov, K. Kõiv, T. Sharp, J. Panksepp and J. Harro (2011). "Brain responses to chronic social defeat stress: effects on regional oxidative metabolism as a function of a hedonic trait, and gene expression in susceptible and resilient rats." Eur Neuropsychopharmacol **21**(1): 92-107.
- Kapczinski, F., F. Dal-Pizzol, A. L. Teixeira, P. V. S. Magalhaes, M. Kauer-Sant'Anna, F. Klamt, M. A. de Bittencourt Pasquali, J. Quevedo, C. S. Gama and R. Post (2010). "A systemic toxicity index developed to assess peripheral changes in mood episodes." Molecular Psychiatry **15**(8): 784-786.

- Kapczinski, F., F. Dal-Pizzol, A. L. Teixeira, P. V. S. Magalhaes, M. Kauer-Sant'Anna, F. Klamt, J. C. F. Moreira, M. Augusto de Bittencourt Pasquali, G. R. Fries, J. Quevedo, C. S. Gama and R. Post (2011). "Peripheral biomarkers and illness activity in bipolar disorder." Journal of Psychiatric Research **45**(2): 156-161.
- Karbowska, M., J. M. Hermanowicz, A. Tankiewicz-Kwedlo, B. Kalaska, T. W. Kaminski, K. Nosek, R. J. Wisniewska and D. Pawlak (2020). "Neurobehavioral effects of uremic toxin-indoxyl sulfate in the rat model." Sci Rep **10**(1): 9483.
- Katz, P. S. (2011). "Neural mechanisms underlying the evolvability of behaviour." Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences **366**(1574): 2086-2099.
- Kaufman, J. and D. Charney "Effects of early stress on brain structure and function: implications for understanding the relationship between child maltreatment and depression." (0954-5794 (Print)).
- Kerman, B. E., H. J. Kim, K. Padmanabhan, A. Mei, S. Georges, M. S. Joens, J. A. Fitzpatrick, R. Jappelli, K. J. Chandross, P. August and F. H. Gage (2015). "In vitro myelin formation using embryonic stem cells." Development **142**(12): 2213-2225.
- Kessler, R. C., H. Birnbaum, E. Bromet, I. Hwang, N. Sampson and V. Shahly (2010). "Age differences in major depression: results from the National Comorbidity Survey Replication (NCS-R)." Psychol Med **40**(2): 225-237.
- Kessler, R. C., C. G. Davis and K. S. Kendler (1997). "Childhood adversity and adult psychiatric disorder in the US National Comorbidity Survey." Psychol Med **27**(5): 1101-1119.
- Kim, Y. K., K. S. Na, A. M. Myint and B. E. Leonard (2016). "The role of pro-inflammatory cytokines in neuroinflammation, neurogenesis and the neuroendocrine system in major depression." Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry **64**: 277-284.
- Kojima, S. and J. R. Alberts (2011). "Oxytocin mediates the acquisition of filial, odor-guided huddling for maternally-associated odor in preweanling rats." Hormones and behavior **60**(5): 549-558.
- Kojima, S., R. Stewart, G. Demas and J. Alberts (2012). "Maternal Contact Differentially Modulates Central and Peripheral Oxytocin in Rat Pups During a Brief Regime of Mother-Pup Interaction that Induces a Filial Huddling Preference." Journal of neuroendocrinology **24**: 831-840.
- Kokras, N., C. Dalla, A. C. Sideris, A. Dendi, H. G. Mikail, K. Antoniou and Z. Papadopoulou-Daifoti (2012). "Behavioral sexual dimorphism in models of anxiety and depression due to changes in HPA axis activity." Neuropharmacology **62**(1): 436-445.
- Kvarta, M. D., K. E. Bradbrook, H. M. Dantrassy, A. M. Bailey and S. M. Thompson (2015). "Corticosterone mediates the synaptic and behavioral effects of chronic stress at rat hippocampal temporoammonic synapses." Journal of neurophysiology **114**(3): 1713-1724.

- Lee, B., H. Y. Yun, I. Shim, H. Lee and D. H. Hahm (2012). "Bupleurum falcatum prevents depression and anxiety-like behaviors in rats exposed to repeated restraint stress." *J Microbiol Biotechnol* **22**(3): 422-430.
- Lehmann, J., C. R. Pryce, A. L. Jongen-Rêlo, T. Stöhr, H. H. J. Pothuizen and J. Feldon (2002). "Comparison of maternal separation and early handling in terms of their neurobehavioral effects in aged rats¹² ¹Present address: Max Planck Institute for Evolutionary Anthropology, Inselstr. 22, D-04103 Leipzig, Germany. ²Present address: Janssen Research Foundation, Turnhoutseweg 30, B-2340 Beerse Belgium." *Neurobiology of Aging* **23**(3): 457-466.
- Lévy, F., A. I. Melo, B. G. Galef Jr, M. Madden and A. S. Fleming (2003). "Complete maternal deprivation affects social, but not spatial, learning in adult rats." *Developmental Psychobiology* **43**(3): 177-191.
- Li, M., F. R. Dai, X. P. Du, Q. D. Yang, X. Zhang and Y. Chen (2012). "Infusion of BDNF into the nucleus accumbens of aged rats improves cognition and structural synaptic plasticity through PI3K-ILK-Akt signaling." *Behav Brain Res* **231**(1): 146-153.
- Licznerski, P. and R. S. Duman (2013). "Remodeling of axo-spinous synapses in the pathophysiology and treatment of depression." *Neuroscience* **251**: 33-50.
- Lippmann, M., A. Bress, C. B. Nemeroff, P. M. Plotsky and L. M. Monteggia (2007). "Long-term behavioural and molecular alterations associated with maternal separation in rats." *European Journal of Neuroscience* **25**(10): 3091-3098.
- Liu, D., J. Diorio, J. C. Day, D. D. Francis and M. J. Meaney (2000). "Maternal care, hippocampal synaptogenesis and cognitive development in rats." *Nature Neuroscience* **3**(8): 799-806.
- Liu, D., J. Diorio, B. Tannenbaum, C. Caldji, D. Francis, A. Freedman, S. Sharma, D. Pearson, M. Plotsky Paul and J. Meaney Michael (1997). "Maternal Care, Hippocampal Glucocorticoid Receptors, and Hypothalamic-Pituitary-Adrenal Responses to Stress." *Science* **277**(5332): 1659-1662.
- Liu, L., Y. Dong, X. Shan, L. Li, B. Xia and H. Wang (2019). "Anti-Depressive Effectiveness of Baicalin In Vitro and In Vivo." *Molecules* **24**(2).
- Liu, L., Y. Zhang, J. Wang, H. Zhao, L. Jiang, Y. Che, H. Shi, R. Li, Z. Mo, T. Huang, Z. Liang, Q. Mao, L. Wang, C. Dong, Y. Liao, L. Guo, E. Yang, J. Pu, L. Yue, Z. Zhou and Q. Li (2013). "Study of the integrated immune response induced by an inactivated EV71 vaccine." *PloS one* **8**(1): e54451-e54451.
- Lucki, I. (1997). "The forced swimming test as a model for core and component behavioral effects of antidepressant drugs." *Behav Pharmacol* **8**(6-7): 523-532.
- Lupien, S. J., B. S. McEwen, M. R. Gunnar and C. Heim (2009). "Effects of stress throughout the lifespan on the brain, behaviour and cognition." *Nature Reviews Neuroscience* **10**(6): 434-445.
- Marais, L., S. J. van Rensburg, J. M. van Zyl, D. J. Stein and W. M. Daniels (2008). "Maternal separation of rat pups increases the risk of developing depressive-like behavior after subsequent chronic stress by altering corticosterone and neurotrophin levels in the hippocampus." *Neurosci Res* **61**(1): 106-112.

- Marco, E. M., R. Llorente, M. López-Gallardo, V. Mela, Á. Llorente-Berzal, C. Prada and M.-P. Viveros (2015). "The maternal deprivation animal model revisited." Neuroscience & Biobehavioral Reviews **51**: 151-163.
- Marco, E. M., G. Macrì S Fau - Laviola and G. Laviola (2011). "Critical age windows for neurodevelopmental psychiatric disorders: evidence from animal models." (1476-3524 (Electronic)).
- Marco, E. M., M. Valero, O. de la Serna, B. Aisa, E. Borcel, M. J. Ramirez and M.-P. Viveros (2013). "Maternal deprivation effects on brain plasticity and recognition memory in adolescent male and female rats." Neuropharmacology **68**: 223-231.
- Martínez-Mota, L., R. E. Ulloa, J. Herrera-Pérez, R. Chavira and A. Fernández-Guasti (2011). "Sex and age differences in the impact of the forced swimming test on the levels of steroid hormones." Physiol Behav **104**(5): 900-905.
- McEwen, B. S. (2003). "Early life influences on life-long patterns of behavior and health." (1080-4013 (Print)).
- Meyer, U. and J. Feldon (2010). "Epidemiology-driven neurodevelopmental animal models of schizophrenia." (1873-5118 (Electronic)).
- Meyer, U., M. Nyffeler, A. Engler, A. Urwyler, M. Schedlowski, I. Knuesel, B. K. Yee and J. Feldon (2006). "The Time of Prenatal Immune Challenge Determines the Specificity of Inflammation-Mediated Brain and Behavioral Pathology." The Journal of Neuroscience **26**(18): 4752.
- Meyer, U., M. Nyffeler, B. K. Yee, I. Knuesel and J. Feldon (2008). "Adult brain and behavioral pathological markers of prenatal immune challenge during early/middle and late fetal development in mice." Brain Behav Immun **22**(4): 469-486.
- Meyerolbersleben, L., C. Winter and N. Bernhardt (2020). "Dissociation of wanting and liking in the sucrose preference test in dopamine transporter overexpressing rats." Behav Brain Res **378**: 112244.
- Miller, B. J., P. Buckley, W. Seabolt, A. Mellor and B. Kirkpatrick (2011). "Meta-Analysis of Cytokine Alterations in Schizophrenia: Clinical Status and Antipsychotic Effects." Biological Psychiatry **70**(7): 663-671.
- Miragaia, A. S., G. S. de Oliveira Wertheimer, A. C. Consoli, R. Cabbia, B. M. Longo, C. E. N. Girardi and D. Suchecki (2018). "Maternal Deprivation Increases Anxiety- and Depressive-Like Behaviors in an Age-Dependent Fashion and Reduces Neuropeptide Y Expression in the Amygdala and Hippocampus of Male and Female Young Adult Rats." Frontiers in Behavioral Neuroscience **12**(159).
- Mitchell, S. J. and C. R. Ronzio (2011). "Violence and Other Stressful Life Events as Triggers of Depression and Anxiety: What Psychosocial Resources Protect African American Mothers?" Maternal and Child Health Journal **15**(8): 1272-1281.
- Moffett, M. C., A. Vicentic, M. Kozel, P. Plotsky, D. D. Francis and M. J. Kuhar (2007). "Maternal separation alters drug intake patterns in adulthood in rats." Biochemical Pharmacology **73**(3): 321-330.

- Monaghan, P. and M. F. Haussmann (2015). "The positive and negative consequences of stressors during early life." Early Human Development **91**(11): 643-647.
- Monji, A., S. Kato T Fau - Kanba and S. Kanba (2009). "Cytokines and schizophrenia: Microglia hypothesis of schizophrenia." (1440-1819 (Electronic)).
- Monji, A., T. Kato and S. Kanba (2009). "Cytokines and schizophrenia: Microglia hypothesis of schizophrenia." Psychiatry Clin Neurosci **63**(3): 257-265.
- Monteggia, L. M., M. Barrot, C. M. Powell, O. Berton, V. Galanis, T. Gemelli, S. Meuth, A. Nagy, R. W. Greene and E. J. Nestler (2004). "Essential role of brain-derived neurotrophic factor in adult hippocampal function." Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America **101**(29): 10827-10832.
- Morgan, B. E., A. R. Horn and N. J. Bergman (2011). "Should Neonates Sleep Alone?" Biological Psychiatry **70**(9): 817-825.
- Morley-Fletcher, S., M. Darnaudery, M. Koehl, P. Casolini, O. Van Reeth and S. Maccari (2003). "Prenatal stress in rats predicts immobility behavior in the forced swim test. Effects of a chronic treatment with tianeptine." Brain Res **989**(2): 246-251.
- Morley-Fletcher, S., J. Mairesse, A. Soumier, M. Banasr, F. Fagioli, C. Gabriel, E. Mocaer, A. Daszuta, B. McEwen, F. Nicoletti and S. Maccari (2011). "Chronic agomelatine treatment corrects behavioral, cellular, and biochemical abnormalities induced by prenatal stress in rats." Psychopharmacology (Berl) **217**(3): 301-313.
- Mullen, P. E., J. L. Martin, J. C. Anderson, S. E. Romans and G. P. Herbison (1996). "The long-term impact of the physical, emotional, and sexual abuse of children: A community study." Child Abuse & Neglect **20**(1): 7-21.
- Müller, N., E. Weidinger, B. Leitner and M. J. Schwarz (2015). "The role of inflammation in schizophrenia." Frontiers in neuroscience **9**: 372-372.
- Najjar, S., K. Pearlman Dm Fau - Alper, A. Alper K Fau - Najjar, O. Najjar A Fau - Devinsky and O. Devinsky (2013). "Neuroinflammation and psychiatric illness." (1742-2094 (Electronic)).
- Natelson, B. H., J. A. Ottenweller Je Fau - Cook, D. Cook Ja Fau - Pitman, R. Pitman D Fau - McCarty, W. N. McCarty R Fau - Tapp and W. N. Tapp (1988). "Effect of stressor intensity on habituation of the adrenocortical stress response." (0031-9384 (Print)).
- Naudon, L. and T. M. Jay (2005). "Opposite behaviours in the forced swimming test are linked to differences in spatial working memory performances in the rat." Neuroscience **130**(2): 285-293.
- Nemeroff, C. B., C. M. Heim, M. E. Thase, D. N. Klein, A. J. Rush, A. F. Schatzberg, P. T. Ninan, J. P. McCullough, Jr., P. M. Weiss, D. L. Dunner, B. O. Rothbaum, S. Kornstein, G. Keitner and M. B. Keller (2003). "Differential responses to psychotherapy versus pharmacotherapy in patients with chronic

- forms of major depression and childhood trauma." Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America **100**(24): 14293-14296.
- Nestler, E. J. and S. E. Hyman (2010). "Animal models of neuropsychiatric disorders." Nature neuroscience **13**(10): 1161-1169.
- Nunes, M. C. and S. A. Madhi (2015). "Review on the effects of influenza vaccination during pregnancy on preterm births." (2164-554X (Electronic)).
- Oken, B. S., I. Chamine and W. Wakeland (2015). "A systems approach to stress, stressors and resilience in humans." Behavioural Brain Research **282**: 144-154.
- Ozawa, K., K. Hashimoto, T. Kishimoto, E. Shimizu, H. Ishikura and M. Iyo (2006). "Immune activation during pregnancy in mice leads to dopaminergic hyperfunction and cognitive impairment in the offspring: a neurodevelopmental animal model of schizophrenia." Biol Psychiatry **59**(6): 546-554.
- Ozawa, K., K. Hashimoto, T. Kishimoto, E. Shimizu, H. Ishikura and M. Iyo (2006). "Immune Activation During Pregnancy in Mice Leads to Dopaminergic Hyperfunction and Cognitive Impairment in the Offspring: A Neurodevelopmental Animal Model of Schizophrenia." Biological Psychiatry **59**(6): 546-554.
- Paredes, D. S., S. Sánchez, V. R. Rial, B. A. Rodríguez and C. Barriga (2005). Changes in behaviour and in the circadian rhythms of melatonin and corticosterone in rats subjected to a forced-swimming test.
- Patterson, P. H. (2007). "Neuroscience. Maternal effects on schizophrenia risk." (1095-9203 (Electronic)).
- Pellow, S., P. Chopin, S. E. File and M. Briley (1985). "Validation of open:closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat." J Neurosci Methods **14**(3): 149-167.
- Penner, J. D. and A. S. Brown (2007). "Prenatal infectious and nutritional factors and risk of adult schizophrenia." (1744-8360 (Electronic)).
- Pereira, G. C., E. Piton, B. M. Dos Santos, R. M. da Silva, A. S. de Almeida, D. P. Dalenogare, N. S. Schiefelbein, M. F. P. Fialho, R. N. Moresco, G. T. Dos Santos, S. Marchesan and G. V. Bochi (2020). "Apocynin as an antidepressant agent: in vivo behavior and oxidative parameters modulation." Behav Brain Res **388**: 112643.
- Petit-Demouliere, B., F. Chenu and M. Bourin (2005). "Forced swimming test in mice: a review of antidepressant activity." Psychopharmacology (Berl) **177**(3): 245-255.
- Pietrek, C., T. Elbert, R. Weierstall, O. Müller and B. Rockstroh (2013). "Childhood adversities in relation to psychiatric disorders." Psychiatry Res **206**(1): 103-110.
- Pisitkun, P., A. Deane Jonathan, J. Difilippantonio Michael, T. Tarasenko, B. Satterthwaite Anne and S. Bolland (2006). "Autoreactive B Cell Responses to RNA-Related Antigens Due to TLR7 Gene Duplication." Science **312**(5780): 1669-1672.

- Plotsky, P. M. and M. J. Meaney (1993). "Early, postnatal experience alters hypothalamic corticotropin-releasing factor (CRF) mRNA, median eminence CRF content and stress-induced release in adult rats." Molecular Brain Research **18**(3): 195-200.
- Porsolt, R. D., M. Le Pichon and M. Jalfre (1977). "Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments." Nature **266**(5604): 730-732.
- Potvin, S., E. Stip, A. A. Sepahy, A. Gendron, R. Bah and E. Kouassi (2008). "Inflammatory Cytokine Alterations in Schizophrenia: A Systematic Quantitative Review." Biological Psychiatry **63**(8): 801-808.
- Radley, J. J. and P. E. Sawchenko (2015). "Evidence for involvement of a limbic paraventricular hypothalamic inhibitory network in hypothalamic-pituitary-adrenal axis adaptations to repeated stress." The Journal of comparative neurology **523**(18): 2769-2787.
- Ramtekkar, U. P., A. M. Reiersen, A. A. Todorov and R. D. Todd (2010). "Sex and age differences in attention-deficit/hyperactivity disorder symptoms and diagnoses: implications for DSM-V and ICD-11." Journal of the American Academy of Child and Adolescent Psychiatry **49**(3): 217-228.e283.
- Rana, S., P. C. Pugh, N. Jackson, S. M. Clinton and I. A. Kerman (2015). "Inborn stress reactivity shapes adult behavioral consequences of early-life maternal separation stress." (1872-7972 (Electronic)).
- Rayen, I., D. L. van den Hove, J. Prickaerts, H. W. Steinbusch and J. L. Pawluski (2011). "Fluoxetine during development reverses the effects of prenatal stress on depressive-like behavior and hippocampal neurogenesis in adolescence." PLoS One **6**(9): e24003.
- Reisinger, S., D. Khan, E. Kong, A. Berger, A. Pollak and D. D. Pollak (2015). "The poly(I:C)-induced maternal immune activation model in preclinical neuropsychiatric drug discovery." (1879-016X (Electronic)).
- Remus, J. L., L. T. Stewart, R. M. Camp, C. M. Novak and J. D. Johnson (2015). "Interaction of metabolic stress with chronic mild stress in altering brain cytokines and sucrose preference." Behavioral neuroscience **129**(3): 321-330.
- Réus, G. Z., M. A. B. dos Santos, H. M. Abelaira, K. F. Ribeiro, F. Petronilho, F. Vuolo, G. D. Colpo, B. Pfaffenseller, F. Kapczinski, F. Dal-Pizzol and J. Quevedo (2013). "Imipramine reverses alterations in cytokines and BDNF levels induced by maternal deprivation in adult rats." Behavioural Brain Research **242**: 40-46.
- Réus, G. Z., G. C. Fernandes, A. B. de Moura, R. H. Silva, A. C. Darabas, T. G. de Souza, H. M. Abelaira, C. Carneiro, D. Wendhausen, M. Michels, B. Pescador, F. Dal-Pizzol, D. S. Macêdo and J. Quevedo (2017). "Early life experience contributes to the developmental programming of depressive-like behaviour, neuroinflammation and oxidative stress." J Psychiatr Res **95**: 196-207.
- Réus, G. Z., G. R. Fries, L. Stertz, M. Badawy, I. C. Passos, T. Barichello, F. Kapczinski and J. Quevedo (2015). "The role of inflammation and microglial activation in the pathophysiology of psychiatric disorders." (1873-7544 (Electronic)).

- Réus, G. Z., R. B. Stringari, K. F. Ribeiro, A. L. Cipriano, B. S. Panizzutti, L. Stertz, C. Lersch, F. Kapczinski and J. Quevedo (2011). "Maternal deprivation induces depressive-like behaviour and alters neurotrophin levels in the rat brain." Neurochem Res **36**(3): 460-466.
- Rucklidge, J. J. (2010). "Gender Differences in Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder." Psychiatric Clinics of North America **33**(2): 357-373.
- Saadani-Makki, F., S. Kannan, X. Lu, J. Janisse, E. Dawe, S. Edwin, R. Romero and D. Chugani (2008). "Intrauterine administration of endotoxin leads to motor deficits in a rabbit model: a link between prenatal infection and cerebral palsy." American Journal of Obstetrics & Gynecology **199**(6): 651.e651-651.e657.
- Saarelainen, T., P. Hendolin, G. Lucas, E. Koponen, M. Sairanen, E. MacDonald, K. Agerman, A. Haapasalo, H. Nawa, R. Aloyz, P. Ernfors and E. Castrén (2003). "Activation of the TrkB neurotrophin receptor is induced by antidepressant drugs and is required for antidepressant-induced behavioral effects." The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience **23**(1): 349-357.
- Samuelsson, A.-M., E. Jennische, H.-A. Hansson and A. Holmäng (2006). "Prenatal exposure to interleukin-6 results in inflammatory neurodegeneration in hippocampus with NMDA/GABA_A dysregulation and impaired spatial learning." American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology **290**(5): R1345-R1356.
- Sánchez, M. M., C. O. Ladd and P. M. Plotsky (2001). "Early adverse experience as a developmental risk factor for later psychopathology: evidence from rodent and primate models." Dev Psychopathol **13**(3): 419-449.
- Sawchenko, P. E., A. Li Hy Fau - Ericsson and A. Ericsson (2000). "Circuits and mechanisms governing hypothalamic responses to stress: a tale of two paradigms." (0079-6123 (Print)).
- Scheller-Gilkey, G., K. Moynes, I. Cooper, C. Kant and A. H. Miller (2004). "Early life stress and PTSD symptoms in patients with comorbid schizophrenia and substance abuse." Schizophr Res **69**(2-3): 167-174.
- Schotanus, K., F. Tilders Fj Fau - Berkenbosch and F. Berkenbosch (1993). "Human recombinant interleukin-1 receptor antagonist prevents adrenocorticotropin, but not interleukin-6 responses to bacterial endotoxin in rats." (0013-7227 (Print)).
- Schwendener, S., J. Meyer U Fau - Feldon and J. Feldon (2009). "Deficient maternal care resulting from immunological stress during pregnancy is associated with a sex-dependent enhancement of conditioned fear in the offspring." (1866-1947 (Print)).
- Scott, P. A., M. A. Cierpial, C. D. Kilts and J. M. Weiss (1996). "Susceptibility and resistance of rats to stress-induced decreases in swim-test activity: a selective breeding study." Brain Res **725**(2): 217-230.

- Shavit, Y., E. Cohen, R. Gagin, R. Avitsur, Y. Pollak, G. Chaikin, G. Wolf and R. Yirmiya (1998). "Effects of Prenatal Morphine Exposure on NK Cytotoxicity and Responsiveness to LPS in Rats." Pharmacology Biochemistry and Behavior **59**(4): 835-841.
- Simpson, J. and J. P. Kelly (2012). "An investigation of whether there are sex differences in certain behavioural and neurochemical parameters in the rat." (1872-7549 (Electronic)).
- Slattery, D. A., S. Desrayaud and J. F. Cryan (2005). "GABAB receptor antagonist-mediated antidepressant-like behavior is serotonin-dependent." J Pharmacol Exp Ther **312**(1): 290-296.
- Smith, S. E., K. Li J Fau - Garbett, K. Garbett K Fau - Mirnics, P. H. Mirnics K Fau - Patterson and P. H. Patterson (2007). "Maternal immune activation alters fetal brain development through interleukin-6." (1529-2401 (Electronic)).
- Spooren, A., K. Kolmus, G. Laureys, R. Clinckers, J. De Keyser, G. Haegeman and S. Gerlo (2011). "Interleukin-6, a mental cytokine." Brain Research Reviews **67**(1): 157-183.
- Stahl, C. E., E. Redei, Y. Wang and C. V. Borlongan (2002). "Behavioral, hormonal and histological stress markers of anxiety-separation in postnatal rats are reduced by prepro-thyrotropin-releasing hormone 178–199." Neuroscience Letters **321**(1): 85-89.
- Steain, M. C., D. E. Dwyer, A. C. Hurt, C. Kol, N. K. Saksena, A. L. Cunningham and B. Wang (2009). "Detection of influenza A H1N1 and H3N2 mutations conferring resistance to oseltamivir using rolling circle amplification." Antiviral Research **84**(3): 242-248.
- Steinberg, H., K. C. Kirkby and H. Himmerich (2015). "The Historical Development of Immunoendocrine Concepts of Psychiatric Disorders and Their Therapy." International Journal of Molecular Sciences **16**(12).
- Sterley, T.-L., F. M. Howells and V. A. Russell (2011). "Effects of early life trauma are dependent on genetic predisposition: a rat study." Behavioral and brain functions : BBF **7**: 11-11.
- Stertz, L., F. Magalhães Pv Fau - Kapczinski and F. Kapczinski (2013). "Is bipolar disorder an inflammatory condition? The relevance of microglial activation." (1473-6578 (Electronic)).
- Suchecki, D., P. Rosenfeld and S. Levine (1993). "Maternal regulation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in the infant rat: the roles of feeding and stroking." Developmental Brain Research **75**(2): 185-192.
- Suvrathan, A., A. Tomar and S. Chattarji (2010). "Effects of chronic and acute stress on rat behaviour in the forced-swim test." Stress **13**(6): 533-540.
- Svedin, P., A.-K. Kjellmer I Fau - Welin, S. Welin Ak Fau - Blad, C. Blad S Fau - Mallard and C. Mallard (2005). "Maturational effects of lipopolysaccharide on white-matter injury in fetal sheep." (0883-0738 (Print)).

- Swiergiel, A. H., Y. Zhou and A. J. Dunn (2007). "Effects of chronic footshock, restraint and corticotropin-releasing factor on freezing, ultrasonic vocalization and forced swim behavior in rats." Behav Brain Res **183**(2): 178-187.
- Teicher, M. H., A. Tomoda and S. L. Andersen (2006). "Neurobiological Consequences of Early Stress and Childhood Maltreatment: Are Results from Human and Animal Studies Comparable?" Annals of the New York Academy of Sciences **1071**(1): 313-323.
- Thompson, S. M., A. J. Kallarackal, M. D. Kvarta, A. M. Van Dyke, T. A. LeGates and X. Cai (2015). "An excitatory synapse hypothesis of depression." Trends in neurosciences **38**(5): 279-294.
- Torcia, M. G., L. Nencioni, A. M. Clemente, L. Civitelli, I. Celestino, D. Limongi, G. Fadigati, E. Perissi, F. Cozzolino, E. Garaci and A. T. Palamara (2012). "Sex differences in the response to viral infections: TLR8 and TLR9 ligand stimulation induce higher IL10 production in males." PloS one **7**(6): e39853-e39853.
- Tractenberg, S. G., M. L. Levandowski, L. A. de Azeredo, R. Orso, L. G. Roithmann, E. S. Hoffmann, H. Brenhouse and R. Grassi-Oliveira (2016). "An overview of maternal separation effects on behavioural outcomes in mice: Evidence from a four-stage methodological systematic review." Neuroscience & Biobehavioral Reviews **68**: 489-503.
- Turnbull, A. V. and C. L. Rivier (1999). "Sprague-Dawley rats obtained from different vendors exhibit distinct adrenocorticotropin responses to inflammatory stimuli." (0028-3835 (Print)).
- Turner, R. C., M. J. Seminerio, Z. J. Naser, J. N. Ford, S. J. Martin, R. R. Matsumoto, C. L. Rosen and J. D. Huber (2012). "Effects of aging on behavioral assessment performance: implications for clinically relevant models of neurological disease." J Neurosurg **117**(3): 629-637.
- Vahl, T. P., M. M. Ulrich-Lai Ym Fau - Ostrander, C. M. Ostrander Mm Fau - Dolgas, E. E. Dolgas Cm Fau - Elfers, R. J. Elfers Ee Fau - Seeley, D. A. Seeley Rj Fau - D'Alessio, J. P. D'Alessio Da Fau - Herman and J. P. Herman (2005). "Comparative analysis of ACTH and corticosterone sampling methods in rats." (0193-1849 (Print)).
- Veena, J., B. N. Srikumar, T. R. Raju and B. S. Shankaranarayana Rao (2009). "Exposure to enriched environment restores the survival and differentiation of new born cells in the hippocampus and ameliorates depressive symptoms in chronically stressed rats." Neurosci Lett **455**(3): 178-182.
- Vetulani, J. (2013). "Early maternal separation: a rodent model of depression and a prevailing human condition." Pharmacol Rep **65**(6): 1451-1461.
- Viola, A., J. F. Confort-Gouny S Fau - Schneider, Y. Schneider Jf Fau - Le Fur, P. Le Fur Y Fau - Viout, F. Viout P Fau - Chapon, S. Chapon F Fau - Pineau, P. J. Pineau S Fau - Cozzone, N. Cozzone Pj Fau - Girard and N. Girard (2011). "Is brain maturation comparable in fetuses and premature neonates at term equivalent age?" (1936-959X (Electronic)).
- Vizi, E. S. and J. P. Kiss (1998). "Neurochemistry and pharmacology of the major hippocampal transmitter systems: Synaptic and nonsynaptic interactions." Hippocampus **8**(6): 566-607.

- Vorhees, C. V., D. L. Graham, A. A. Braun, T. L. Schaefer, M. R. Skelton, N. M. Richtand and M. T. Williams (2015). "Prenatal immune challenge in rats: Effects of polyinosinic–polycytidylic acid on spatial learning, prepulse inhibition, conditioned fear, and responses to MK-801 and amphetamine." Neurotoxicology and Teratology **47**: 54-65.
- Wager-Smith, K. and A. Markou (2011). "Depression: a repair response to stress-induced neuronal microdamage that can grade into a chronic neuroinflammatory condition?" Neuroscience and biobehavioral reviews **35**(3): 742-764.
- Walker, C. D., G. Trottier, J. Rochford and D. Lavallée (1995). "Dissociation between behavioral and hormonal responses to the forced swim stress in lactating rats." J Neuroendocrinol **7**(8): 615-622.
- Weinstock, M. (2007). "Gender differences in the effects of prenatal stress on brain development and behaviour." (0364-3190 (Print)).
- Werling, D. M. and D. H. Geschwind (2015). "Recurrence rates provide evidence for sex-differential, familial genetic liability for autism spectrum disorders in multiplex families and twins." Molecular autism **6**: 27-27.
- Wigger, A. and I. D. Neumann (1999). "Periodic maternal deprivation induces gender-dependent alterations in behavioral and neuroendocrine responses to emotional stress in adult rats." Physiol Behav **66**(2): 293-302.
- Willner, P. (2005). "Chronic Mild Stress (CMS) Revisited: Consistency and Behavioural-Neurobiological Concordance in the Effects of CMS." Neuropsychobiology **52**(2): 90-110.
- Willner, P. (2016). "The chronic mild stress (CMS) model of depression: History, evaluation and usage." Neurobiology of stress **6**: 78-93.
- Willner, P., R. Muscat and M. Papp (1992). "Chronic mild stress-induced anhedonia: A realistic animal model of depression." Neuroscience & Biobehavioral Reviews **16**(4): 525-534.
- Willner, P., A. Towell, D. Sampson, S. Sophokleous and R. Muscat (1987). "Reduction of sucrose preference by chronic unpredictable mild stress, and its restoration by a tricyclic antidepressant." Psychopharmacology (Berl) **93**(3): 358-364.
- Winter, S., K. Dieckmann M Fau - Schwabe and K. Schwabe (2009). "Dopamine in the prefrontal cortex regulates rats behavioral flexibility to changing reward value." (1872-7549 (Electronic)).
- Wooten, G. F., L. J. Currie, V. E. Bovbjerg, J. K. Lee and J. Patrie (2004). "Are men at greater risk for Parkinson's disease than women?" Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry **75**(4): 637-639.
- Wu, G., H. Feder A Fau - Cohen, J. J. Cohen H Fau - Kim, S. Kim Jj Fau - Calderon, D. S. Calderon S Fau - Charney, A. A. Charney Ds Fau - Mathé and A. A. Mathé (2013). "Understanding resilience." (1662-5153 (Print)).
- Yaribeygi, H., Y. Panahi, H. Sahraei, T. P. Johnston and A. Sahebkar (2017). "The impact of stress on body function: A review." EXCLI J **16**: 1057-1072.

Yoshizaki, K., M. Asai and T. Hara (2020). "High-Fat Diet Enhances Working Memory in the Y-Maze Test in Male C57BL/6J Mice with Less Anxiety in the Elevated Plus Maze Test." Nutrients **12**(7).

Zhang, Y., B. N. Cazakoff, C. A. Thai and J. G. Howland (2012). "Prenatal exposure to a viral mimetic alters behavioural flexibility in male, but not female, rats." Neuropharmacology **62**(3): 1299-1307.

ANEXO



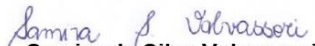
CERTIFICADO

Certificamos que o projeto abaixo especificado, que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi **APROVADO** pelo Comitê de Ética no Uso de Animais – CEUA/UNESC, em reunião de **25/09/2018**.

| | |
|---|---|
| Título do projeto | EFEITO DE ESTRESSORES VARIADOS DURANTE DIFERENTES FASES DA VIDA EM ANIMAIS: UM ESTUDO SOBRE RESILIÊNCIA |
| Project title | EFFECT OF VARIABLE STRESSORS DURING LIFETIME IN ANIMALS: A RESILIENCE STUDY |
| Número do protocolo Protocol number | 010/2018-2 – Versão 3 |
| Pesquisador principal Principal Investigator | Alexandra Ioppi Zugno |
| Pesquisadores Researchers | Gustavo Antunes Mastella, Patricia Gomes Wessler, Angelo Diego Supp, Amanda Kunz Godoi, Danyela Matos, João Paulo Behenck, Gislaine Zilli Réus, Airam Barbosa de Moura, Laura de Araujo Borba, Camilla Marques Luz. |

| | |
|-------------------------|--|
| Finalidade | () Ensino (X) Pesquisa Científica |
| Vigência da autorização | 09/10/2018 a 01/12/2019 |
| Espécie/linhagem/raça | Rato heterogênico/ <i>Wistar</i> |
| No de animais | 424 |
| Idade/Peso | 1-80 dias / 50-350g |
| Gênero | Masculino e Feminino |
| Origem | Biotério da Universidade do Extremo Sul Catarinense – UNESC. |

The Ethics Committee on Animal Use on Research, sanctioned by the resolution number 03/2017/Câmara Propex, in accordance with federal law number 11.794/08, has analyzed the Project that was **Approved** in its ethical and methodological aspects. Any alteration of the original version of this project must be previously submitted to the Committee for further analyzes. May you have further questions, please contact us by e-mail ceua@unesc.net.


Samira da Silva Valvassori
 Coordenadora do CEUA

Criciúma, 25 de setembro de 2018.