

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE GOIÁS
CAMPUS ANÁPOLIS DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS APLICADAS A PRODUTOS
PARA SAÚDE

MICHELLE RIBEIRO SILVA

**EFEITOS DO ESTRESSE NEONATAL SOBRE COMPORTAMENTOS
RELACIONADOS A DEPRESSÃO EM RATOS WISTAR: INFLUÊNCIA DO SEXO
E DA IDADE**

Anápolis

2017

MICHELLE RIBEIRO SILVA

**EFEITOS DO ESTRESSE NEONATAL SOBRE COMPORTAMENTOS
RELACIONADOS A DEPRESSÃO EM RATOS WISTAR: INFLUÊNCIA DO SEXO
E DA IDADE**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas a Produtos para Saúde, da Universidade Estadual de Goiás para a obtenção do título de Mestre.

Orientadora: Profa. Dra. Vanessa Cristiane de Santana Amaral

Coorientador: Prof. Dr. Marcelo Tadeu Marin
Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho.

Anápolis

2017

Catálogo na Fonte
Comissão Técnica do Sistema Integrado de Bibliotecas Regionais (SIBRE),
Universidade Estadual de Goiás

Silva, Michelle Ribeiro Silva

Efeitos do estresse neonatal sobre comportamentos relacionados a depressão em ratos Wistar: influência do sexo e da idade / Michelle Ribeiro Silva – 2017.

100 p.

Orientadora: Profa. Dra. Vanessa Cristiane de Santana Amaral.

Dissertação (Mestrado), Universidade Estadual de Goiás, Campus Anápolis de Ciências Exatas e Tecnológicas, 2017.

1. Separação materna. 2. Manuseio neonatal. 3. Adolescentes. 4. Adultos. 5. Machos. 6. Fêmeas. I. Amaral, Vanessa Cristiane de Santana. II. Título.

CDU 502.3

Nada é tão nosso como os nossos sonhos.

Friedrich Nietzsche

Dedico este trabalho em especial a minha vovó Fátima ou minha “veinha do bigode”, ao meu amado Sanchez, a minha família, aos meus verdadeiros amigos, meu filho de quatro patas e a todos que acreditaram e contribuíram para essa conquista.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pois sem ele nada disso teria sido possível. Afinal, ele me trouxe até aqui e acredito que nada acontece em vão ou por acaso.

À Universidade Estadual de Goiás pela estrutura e acolhimento nestes sete anos.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas a Produtos para Saúde.

Agradecimento especial a CAPES pela bolsa de suporte a pesquisa. Sem vocês tudo não passaria de um sonho!

Sinceros agradecimentos à minha orientadora, Professora Dra. Vanessa Cristiane de Santana Amaral, pela oportunidade e orientações pontuais. Obrigada por construir e lapidar uma verdadeira mestranda, por nos ensinar sempre, nos enlouquecer às vezes e principalmente por dar o sangue pelo laboratório e pelas suas crias.

Agradeço imensamente a Profa. Dra. Joelma Abadia Marciano de Paula pelo suporte na universidade sempre que necessário, pelo exemplo de evolução espiritual, comprometimento e ética.

Meu muito obrigada também, ao Prof. Dr. Marcelo Tadeu Marin pela coorientação, sua experiência foi crucial para este trabalho. À Universidade Estadual Paulista pelo apoio e suporte experimental.

Eterno agradecimento ao meu companheiro e príncipe da minha vida, Sanchez, pelo apoio incondicional em todos os momentos, principalmente nos de desespero e incertezas, muito comuns para quem tenta trilhar voos mais altos. Obrigada amor, por acreditar em mim muitas vezes mais do que eu mesma, e por ser esse palhaço que sempre me alegra. Enfim, obrigada por me amar... com você sou o melhor de mim!

À minha família, meu alicerce e amor maior. Pai, mãe, irmão e irmãozinho, vovó Geralda, vovô Zeca, vovô Juracy e principalmente vovó Fátima... “veinha” essa conquista é pra senhora! Agora estou mais perto de ser uma verdadeira doutora! Obrigada pelas orações poderosas e por sempre me ouvir, me apoiar, me incentivar e me lembrar de que sou forte. E também as minhas amigas/irmãs Débora e Gabriella. Obrigada família, pelo apoio e ausências compreendidas ao longo desses dois anos.

A Patrícia (paty), minha melhor amiga... palavras não expressam o quanto nossa amizade é importante pra mim. Mais dois anos estudando juntas pra conta. Jamais esquecerei os apuros, aventuras gastronômicas, conquistas, silêncios e risadas que passamos juntas nestes dois anos de mestrado. Obrigada por sofrer, chorar, vencer e sorrir comigo!

A Isabella, por ser esse anjo que Deus colocou no biotério e em nossas vidas. Obrigada por sempre cuidar da gente, sempre ajudar como podia, pelo ombro amigo quando caia o choro, por rir da nossa (minha e da paty) formosura e penteados desfilados durante longos cronogramas experimentais. Enfim, obrigada por ter se tornado essa grande e querida amiga que levarei para sempre!

Agradeço também aos meus colegas do Laboratório de Farmacologia e Toxicologia de Produtos Naturais e Sintéticos (Ana Luisa, Jonathan, Manuella, Laís e Mariely), pelas horas de aprendizado e alegrias compartilhadas.

E não poderia deixar de agradecer os funcionários presentes na convivência diária. Dona Teresinha, nossa serviços gerais, por deixar tudo limpinho e por me receber sempre com um abraço sincero. Aos guardas, em especial ao senhor Alaide e Márcio, pela proteção e companhia aos finais de semana.

RESUMO

Efeitos do estresse neonatal sobre comportamentos relacionados a depressão em ratos Wistar: influência do sexo e idade

A exposição a eventos estressantes no início da vida parece interferir no desenvolvimento encefálico e na capacidade de lidar com novos desafios ambientais na adolescência e vida adulta. O desenvolvimento e a plasticidade do eixo hipotálamo-pituitária-adrenal (HPA) também têm sido propostos por ser dependente do ambiente e cuidado materno. Além disso, intervenções neonatais aumentam a vulnerabilidade dos indivíduos a doenças decorrentes do estresse, como por exemplo, a depressão. O presente estudo investigou os efeitos de dois modelos de estresse neonatal, manuseio de 15 minutos/dia e separação materna de 3 horas/dia entre os dias pós-natais 2 ao 10, sobre comportamentos relacionados à depressão na adolescência e vida adulta de ratos Wistar machos e fêmeas. As consequências da exposição ao estresse neonatal foram avaliadas por meio das alterações na massa corporal, massa do timo e das glândulas adrenais, e os comportamentos depressivos foram avaliados por meio dos testes comportamentais de nado forçado e preferência pela sacarose. Nossos resultados mostraram que ambos os protocolos de estresse neonatal não provocaram alteração na massa corporal na adolescência e na vida adulta. Foi observada uma diferença em função do sexo apenas na vida adulta, pois os machos controle, manuseio neonatal e separação materna apresentaram massa corporal superior às fêmeas dos respectivos grupos. Em relação a massa do timo e das glândulas adrenais na adolescência, apenas foi verificado que as fêmeas apresentaram maior massa relativa desses órgãos quando comparadas aos machos. Na vida adulta, as fêmeas separação materna mostraram involução do timo comparadas às fêmeas manuseio neonatal, enquanto, estas apresentaram hipertrofia das adrenais comparadas às fêmeas controle e separação. O teste de nado forçado mostrou que a separação materna aumentou o tempo de imobilidade de machos e fêmeas em comparação aos grupos controle e manuseio neonatal na adolescência e na vida adulta, assim como diminuiu o comportamento de natação na vida adulta. Já no teste de preferência pela solução de sacarose, não houve diferença na preferência pela sacarose entre os grupos experimentais na adolescência. Enquanto na vida adulta, os machos manuseio e separação, assim como as fêmeas controle apresentaram maior preferência pela sacarose comparados aos machos controle. Em conclusão, a exposição a eventos adversos no início da vida parece contribuir para o surgimento de depressão. Ademais, estudos que avaliem as consequências do estresse neonatal em diferentes momentos da vida e as possíveis influências do sexo são de extrema importância para a caracterização e o desenvolvimento de novos métodos de tratamento para a depressão.

Palavras-chave: separação materna, manuseio neonatal, adolescentes, adultos, machos, fêmeas.

ABSTRACT

Effects of neonatal stress on depression-related behaviors in Wistar rats: influence of gender and age

Exposure to stressful early life events seems to interfere with brain development and the ability to cope with new environmental challenges in adolescence and adulthood. The development and plasticity of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis (HPA) have also been proposed because it is environmentally dependent and maternal care. In addition, neonatal interventions increase the vulnerability of individuals to stress-related illnesses, such as depression. The present study investigated the effects of two models of neonatal stress, handling of 15 minutes/day and maternal separation of 3 hours/day between postnatal days 2 to 10, on depression-like behaviors in adolescence and adult life of Wistar males and females rats. The consequences of exposure to neonatal stress were assessed through changes in body mass, mass of the thymus and adrenal glands, and depression-like behaviors were evaluated using behavioral forced swimming test and sucrose preference. Our results showed that both neonatal stress protocols did not cause changes in body mass in adolescence and adulthood. A gender difference was observed only in adulthood, since control males, neonatal handling and maternal separation had higher body mass than the females of the respective groups. In relation to the mass of the thymus and adrenal glands in adolescence, it was only verified that the females had a higher relative mass of these organs when compared to males. In adulthood, maternal separation females showed involution of the thymus compared to females neonatal handling, while, they presented adrenal hypertrophy compared to females control and separation. The forced swimming test showed that maternal separation increased the immobility time of males and females compared to control and neonatal handling groups in adolescence and adulthood, as well as decreased swimming behavior in adult life. In the preference test for the sucrose solution, there was no difference in the preference for sucrose among the experimental groups in adolescence. While in adult life, males handling and separation, as well as control females showed a higher preference for sucrose compared to control males. In conclusion, exposure to adverse events early in life seems to contribute to the onset of depression. In addition, studies that evaluate the consequences of neonatal stress at different moments of life and the possible influences of sex are extremely important for the characterization and development of new treatment methods for depression.

Keywords: maternal separation, neonatal handling, adolescents, adults, males, females.

1 INTRODUÇÃO

1.1 Estresse e o eixo hipotálamo-pituitária-adrenal (HPA)

O cientista e médico austríaco Hans Selye definiu em 1936 o termo estresse como sendo a resposta adaptativa de um organismo à ação de agentes nocivos, também conhecidos como agentes estressores. De acordo com este pesquisador, a resposta ao estresse divide-se em três estágios: alarme, resistência e exaustão. O primeiro estágio consiste no momento em que o estressor é notado pelo organismo. A resistência é o processo de resposta eficaz frente a esse evento adverso. Enquanto que, o estágio de exaustão consiste no esgotamento da capacidade de resposta frente a permanência do agente estressor, daí os efeitos negativos do estresse (SELYE, 1936). Vale ressaltar que os dois primeiros estágios consistem em estados fisiológicos de resposta ao estresse, enquanto a exaustão já se caracteriza como um estado patológico mediante a persistência de estressores que pode ocasionalmente contribuir para o desenvolvimento de psicopatologias (BANGASSER; VALENTINO, 2014).

Mais tarde, em 2002, o termo estresse foi atribuído ao estado gerado pela percepção de estímulos que provocam excitação emocional e, ao perturbarem a homeostasia, geram um processo de adaptação, caracterizado por diversas manifestações sistêmicas, como alterações fisiológicas e psicológicas. Ademais, o termo estressor foi definido como qualquer evento adverso, seja ele físico, químico ou psicológico, interno ou externo, que perturbe a homeostase do organismo e gere uma resposta fisiológica (McEWEN, 2002). Nos dias atuais, acredita-se que os efeitos negativos do estresse são advindos da exposição a agentes estressores severos e duradouros (DIEHL, 2014; HERMAN et al., 2012).

Estímulos estressores detectados por órgãos sensoriais primários geram sinais que passam por sistemas mediadores localizados em estruturas do sistema límbico, como o córtex pré-frontal e a amígdala. Essas regiões processam e avaliam as informações relacionadas ao estresse e, por sua vez, geram respostas por meio da atividade do eixo hipotálamo-pituitária-adrenal (HPA), *locus coeruleus* e seus respectivos componentes periféricos e outros sistemas efetores (BANGASSER; VALENTINO, 2014; MELLO et al., 2003). Dessa forma, o organismo responde de diversas formas ao estresse. Contudo, há dois sistemas principais de resposta descritos: o sistema nervoso autônomo simpático, que atua via ativação direta de órgãos-alvo pela adrenalina liberada pela medula da glândula adrenal, noradrenalina pelas terminações nervosas, e o eixo hipotálamo-pituitária adrenal (HPA), que libera glicocorticoides produzidos no córtex da glândula adrenal sob estímulo hipotalâmico e

hipofisário (DIEHL, 2009; KLOET; JOËLS; HOLSBOER, 2005; MARCHETTE, 2013). A ativação aguda desses sistemas promove principalmente o aumento da disponibilidade de energia e melhora do fluxo sanguíneo para órgãos-alvo, sendo altamente adaptativa. Entretanto, a exposição crônica a níveis elevados de glicocorticoides pode ser prejudicial ao organismo (KRATZ, 2013; MILLER; O'CALLAGHAN, 2002; RENARD; RIVAROLA; SUÁREZ, 2007).

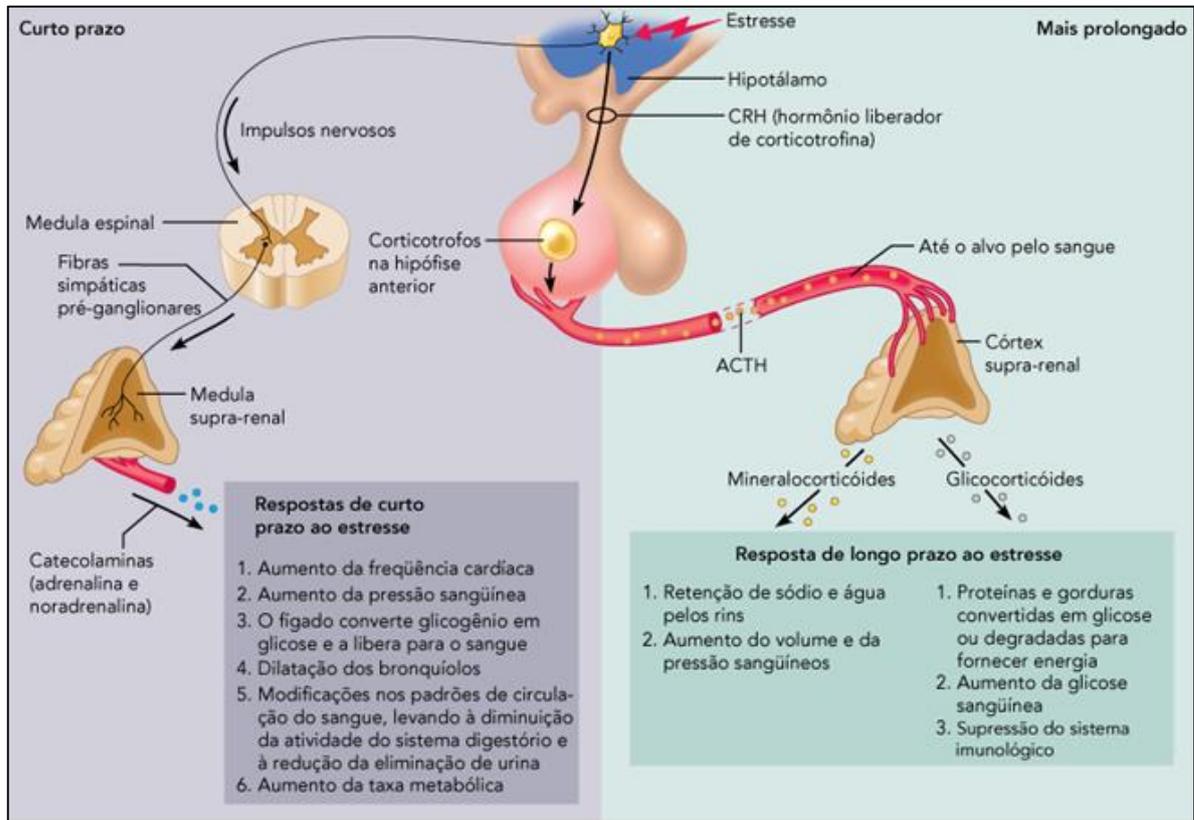
O sistema nervoso autônomo simpático é rapidamente ativado em resposta ao estresse e promove a liberação de adrenalina e noradrenalina pela medula da adrenal na circulação sanguínea (CHROUSOS, 2007; GOLD, 2014). As principais alterações no organismo provocadas por essas catecolaminas consistem na manutenção do suprimento sanguíneo, conseqüentemente, oxigenação e nutrição de regiões vitais, além do aumento da produção de energia através do recrutamento de substratos (glicose, ácidos graxos e aminoácidos) de regiões de armazenamento (fígado, tecido adiposo e músculo esquelético), preparando o organismo, por exemplo, para situações de luta e fuga (Figura 1) (DEBARBA, 2012; McEWEN, 2002).

A ativação do eixo hipotálamo-pituitária-adrenal (HPA), também conhecido como hipotálamo-hipófise-adrenal, durante situações de estresse é controlada por um pequeno conjunto de neurônios parvocelulares localizados no núcleo paraventricular do hipotálamo (PVN). Após a percepção do estresse pelo organismo, ocorre a liberação de fatores neurais, como o hormônio liberador de corticotrofina (CRH) na circulação porta-hipofisária. O CRH estimula a adeno-hipófise a produzir e liberar o hormônio adrenocorticotrófico (ACTH) na circulação sistêmica. O ACTH presente na circulação sistêmica estimula então a síntese e secreção dos glicocorticoides, cortisol em humanos e corticosterona em roedores, pelo córtex da glândula adrenal (MACRÌ; WÜBER, 2006; MARCHETTE, 2013; PARIANTE; LIGHTMAN, 2008). Uma vez liberados, esses hormônios se ligam a receptores para mineralocorticoides e glicocorticoides (Figura 1) (JOËLS; BARAM, 2009; HERMAN et al., 2012).

Em situações críticas, os glicocorticoides têm ações de proteção e manutenção da homeostasia. Mobilizam estoques energéticos através de gliconeogênese, lipólise e catabolismo proteico. Além disso, melhoram a função cognitiva, inibem a função gonadal e regulam a expressão gênica (AISA et al., 2008; DE KLOET et al., 1998; HERMAN et al., 2012; MOLLE, 2011). Também desempenham papel crucial na própria regulação neuroendócrina, uma vez que atuam em receptores no sistema límbico (especialmente amígdala, córtex pré-frontal e hipocampo), do hipotálamo e da hipófise por retroalimentação

negativa (HERMAN et al., 2003; JACOBSON; SAPOLSKY, 1991; ULRICH-LAI; HERMAN, 2009).

Figura 1 – Representação esquemática dos sistemas de resposta ao estresse.



Fonte: Marieb e Hoehn (2009).

Estímulos externos têm grande impacto sobre áreas do sistema límbico, de tal forma que, os sinais neuronais associados a percepção do estresse nessas regiões, são traduzidos em uma resposta endócrina no hipotálamo. O controle central do sistema de resposta ao estresse inclui os neurônios parvocelulares do núcleo paraventricular do hipotálamo (PVN). Essas células estão sob influência de vários mecanismos intrínsecos e extrínsecos que regulam a resposta do eixo HPA ao estresse (DIEHL, 2014; SAPOLSKY, 1993). O PVN do hipotálamo é um centro que recebe e coordena aferências neuroendócrinas, neurovegetativas, cognitivas e emocionais, e é responsável pelo sinal que dá início a secreção de glicocorticoides. Aferências que chegam ao PVN provenientes principalmente do núcleo do trato solitário, núcleos da rafe, órgão subfornical, núcleo intersticial da estria terminal, tálamo e regiões hipotalâmicas que circundam o PVN promovem respostas do eixo a ameaças reais à homeostasia. Enquanto as aferências indiretas provenientes do hipocampo, amígdala, córtex pré-frontal, septo lateral e

tálamo ativam os mesmos neurônios na ausência de desafios fisiológicos francos (HERMAN et al., 2003).

A capacidade do meio ambiente em modificar a função do eixo hipotálamo-pituitária-adrenal (HPA) foi inicialmente descrita há quase 50 anos (LEVINE; ALPERT; LEWIS, 1957). A neurogênese, a regulação de sistemas de neurotransmissores (dopamina, serotonina e noradrenalina, por exemplo), as reações de medo e ansiedade e, a susceptibilidade a vícios, como ao etanol, são fortemente modulados por efeitos ambientais pós-natais que interferem no desenvolvimento do encéfalo via respostas neuroendócrinas dependentes do bom funcionamento do eixo HPA (AISA et al., 2008; JAIME et al., 2016; MARCO et al., 2015; ORELAND et al., 2011). A desregulação desse eixo e, consequente hipersecreção de glicocorticoides em função de eventos ambientais adversos, promove efeitos deletérios ao organismo que envolve desde o envelhecimento precoce, doenças metabólicas e psicopatologias (GOLD; CHROUSOS, 2002; HERMAN et al., 2012). Dessa forma, o eixo HPA constitui um sistema de extrema importância na resposta ao estresse, e a sua desregulação a longo prazo constitui um fator chave para o aumento da vulnerabilidade a distúrbios fisiológicos e doenças psiquiátricas (DEBARBA, 2012; LEVINE, 2005; MACRÌ; WÜBER, 2006).

1.2 Estresse neonatal

Em humanos, o processo de maturação do encéfalo está parcialmente completo no momento do nascimento, continuando o seu desenvolvimento no período pós-natal até o final da adolescência (PACE et al., 2006; SHAMSEDDEEN et al., 2011). Em roedores o período de maior plasticidade cerebral compreende os 21 dias após o nascimento, até o final do período da adolescência, 25-35 dias de vida (MOLET et al., 2014; SAPOLSKY; MEANEY, 1986). Todos os mamíferos recém-nascidos são cuidados por suas mães e mantêm um estreito contato com elas por um significativo período de tempo. Neste período ocorrem interações complexas que desempenham um importante papel no desenvolvimento emocional e cognitivo da prole (BENETTI et al., 2009; MARCO et al., 2015; MATTHEWS; ROBBINS, 2003).

Em roedores, o ambiente é modulado pelos cuidados maternos e variações destas condições podem interferir no desenvolvimento normal dos filhotes (MOLET et al., 2014; WEAVER et al., 2004). Particularmente durante a lactação, um comportamento materno importante para o desenvolvimento da prole é a frequência de lambidas. Ademais, as mães

buscam as suas crias quando estas se afastam do ninho, estimulam a sua micção por meio da lambida anogenital, posicionam-se sobre os filhotes para provê-los de nutrição e calor, constroem o ninho e defendem a ninhada de intrusos. Até aproximadamente o dia pós-natal (DPN) 12, a mãe é quem toma a iniciativa de se aproximar dos filhotes. Sendo assim, a variação no cuidado materno neste período pode ser considerada o diferencial para experiências sensoriais no desenvolvimento dos filhotes (BENETTI et al., 2007; CZÉH et al., 2015; LUTZ, 2011).

As duas primeiras semanas de vida em roedores constituem um período crítico para o desenvolvimento neural e maturação do eixo hipotálamo-pituitária-adrenal (HPA). É considerado como um período hiporresponsivo ao estresse e se estende do dia pós-natal (DPN) 4 ao 14 em ratos e DPN 2 ao 12 em camundongos (NISHI et al., 2013; SAPOLSKY; MEANEY, 1986). Neste período o eixo HPA tem sua responsividade consideravelmente diminuída. A glândula adrenal é menos sensível ao hormônio adrenocorticotrófico (ACTH) e as concentrações, tanto basais quando induzidas por estresse, de corticosterona, ACTH e hormônios secretados pelo hipotálamo estão diminuídas. Diante deste quadro, tanto a imaturidade estrutural do sistema nervoso quanto este processo inibitório ativo observado, parecem estar adjacentes à uma hiporresponsividade global (DIEHL et al., 2012; RIVAROLA; SOÁREZ, 2009; WIGGER; NEUMANN, 1999). Consequentemente, qualquer alteração na condição normal de criação atua sobre o desenvolvimento do sistema nervoso e induz uma variedade de mudanças neuroquímicas e comportamentais na adolescência e na vida adulta (KATO et al., 2016; LEVINE, 2005; MADRUGA, 2003; NOSCHANG et al., 2012).

Ao longo da vida, uma cascata de alterações neurobiológicas ocorre, sendo os acontecimentos mais significativos os que acontecem no início da vida. A exposição precoce ao estresse interfere no desenvolvimento e maturação do sistema nervoso central, apesar de sua plasticidade (AISA et al., 2008; NOSCHANG et al., 2012; MARCO et al., 2015). Estudos pré-clínicos demonstram que o estresse precoce pode alterar o desenvolvimento do eixo HPA e dos sistemas hipotalâmico e extra-hipotalâmico de liberação do hormônio liberador de corticotropina (CRH), GABA/benzodiazepínicos e monoaminérgicos (noradrenalina, dopamina e serotonina) (MADRUGA, 2003; WONG et al., 2015). Além disso, investigações mais recentes demonstram que exposições crônicas a eventos estressores podem contribuir para perda neuronal em regiões cruciais para a regulação emocional, como o sistema límbico do qual fazem parte, por exemplo, o hipocampo e a amígdala, aumentando assim, as chances de desenvolvimento de transtornos psiquiátricos e prejuízos cognitivos (PRADO, 2016).

Em particular, a separação materna em roedores durante 1 a 6 horas por dia representa um dos mais potentes estressores naturais durante o desenvolvimento (BENETTI et al., 2009; LEE et al., 2007; SHU et al., 2015). Compara-se, em humanos, aos maus-tratos ou negligência dos pais durante a infância, conflitos familiares e até mesmo a perda dos progenitores (FLEMING; O'DAY; KRAEMER, 1999; HEIM; NEMEROFF, 2001; SHAMSEDDEEN et al., 2011). Estudos indicam que a exposição repetida diariamente a longos períodos de separação materna promove aumento dos níveis de corticosterona e consequente hipertrofia adrenal (DASKALAKIS et al., 2013; GARCIA et al., 2009). Além disso, as consequências do estresse se estendem ao sistema imune, podendo atuar de modo a acelerar a involução do timo, dentre outras consequências (FERREIRA, 2011; SELYE, 1973).

Adicionalmente, tem havido um crescente consenso de que a extensão das consequências adversas da exposição ao estresse precoce é largamente dependente do período de vida, duração e tipo de estressor (BAI et al., 2014; KRATZ, 2013; RIVAROLA; SOÁREZ, 2009; WONG et al., 2015). Dessa forma, é importante a padronização dos protocolos de estresse neonatal em função de inúmeros resultados contraditórios descritos na literatura, que ocorrem devido a diferenças nos parâmetros mencionados anteriormente (COUTELLIER et al., 2008; RANA et al., 2015; XUE et al., 2013).

O estresse precoce tem sido citado como principal promotor de alterações estruturais e funcionais em regiões encefálicas, assim como alterações comportamentais similares àquelas observadas em adolescentes e adultos com depressão. Como a pesquisa em seres humanos é muitas vezes inviável, modelos animais de estresse neonatal são extremamente importantes para a compreensão e o tratamento de neuropsicopatologias associadas a essa condição (AISA et al., 2008; KATO et al., 2016; LEVINE, 2005; MOLLE, 2011).

1.3 Modelos animais de estresse neonatal

Intervenções neonatais aumentam a vulnerabilidade de indivíduos a doenças decorrentes do estresse (MACRÌ; WÜRBEL, 2006; RIVAROLA; SOÁREZ, 2009; NOSCHANG et al., 2012), sendo as mais frequentes: a depressão (ARBORELIUS; EKLUND, 2007; PARIANTE; LIGHTMAN, 2008; SHU et al., 2015), transtornos de ansiedade (RANA et al., 2015; ROMEO et al., 2003) e dependência ao etanol (GUSTAFSSON; PLOJ; NYLANDER, 2005; ORELAND et al., 2011; PAUTASSI et al., 2010).

Estudos com modelos animais de estresse precoce constituem uma importante ferramenta usada para investigar as interações entre os genes e o ambiente na determinação da sensibilidade ao estresse de cada indivíduo e as suas consequências ao longo da vida. Entre os modelos animais mais comumente utilizados para se estudar as consequências do estresse no início da vida destacam-se o manuseio neonatal e a separação materna (BENETTI et al., 2007; KRATZ, 2013; RANA et al., 2015).

1.3.1 Manuseio neonatal (*handling*)

O manuseio neonatal tem sido utilizado como modelo experimental para estudar os mecanismos pelos quais variações do ambiente neonatal afetam o desenvolvimento de sistemas neurais, dando origem a alterações comportamentais e neuroendócrinas estáveis (DIEHL, 2009; MACRÌ; WÜBER, 2007; MADRUGA, 2003). Em ratos, o procedimento usual é remover a mãe do ninho contendo os filhotes por 3 ou até 15 minutos. Tal fato representa uma forma de estresse branda e até mesmo benéfica, visto que em situações ambientais as mães normalmente ficam longe do ninho por períodos de 15 a 30 minutos para buscar alimentos e material para o ninho (NOSCHANG et al., 2012; RENARD; RIVAROLA; SUÁREZ, 2007). Em alguns estudos, além da retirada da mãe da caixa ninho, o experimentador realiza a estimulação tátil dos filhotes (BENETTI et al., 2007).

O manuseio neonatal ou qualquer outro tipo de estimulação da prole no período neonatal, mesmo que em um pequeno intervalo de tempo, provoca alterações na relação mãe-filhote (KATO et al., 2016; LUTZ, 2011; RIVAROLA; SOÁREZ, 2009). Estudos indicam que as mães de filhotes manipulados no período neonatal, quando retornam ao ninho, lambem mais a sua prole do que mães de filhotes que não passaram por qualquer intervenção (DIEHL, 2009; PRYCE; BETTSCHEN; FELDON, 2001; RANA et al., 2015). Como consequência, ratos manipulados no período neonatal mostram ao longo da vida uma diminuição nas respostas comportamentais e endócrinas mediante exposição a novos estressores. A principal alteração neuroendócrina parece ser a redução da liberação de ACTH e corticosterona em resposta a eventos estressores externos, bem como o retorno mais rápido da corticosterona aos níveis basais. Estes animais também apresentam menor perda de células hipocâmpais provocada pela idade avançada, possivelmente como resultado das menores concentrações de glicocorticoides liberadas em condições de estresse, fato que leva a uma melhora do desempenho em tarefas cognitivas (BENETTI et al., 2007; MARCO et al., 2015; MEANEY et al., 1989). Dessa forma, os animais se tornaram menos reativos a situações difíceis e

ameaçadoras, exibindo um perfil emocional estável causado pelo bloqueio de altos níveis de corticosterona como resposta ao estresse (LEVINE, 1962; PRICE; FELDON, 2003; VETULANI, 2013). Ademais, ratos que passaram pelo manuseio neonatal apresentam melhor estabilidade emocional e medo atenuado à novos ambientes na vida adulta, expressos por menor tempo de imobilidade no teste do nado forçado (RANA et al., 2015), aumento da atividade exploratória no campo aberto (ARBORELIUS; EKLUND, 2007) e aumento do consumo de alimento palatável doce (SILVEIRA et al., 2004).

De maneira geral, evidências apontam para uma menor reatividade hormonal e emocional frente a novas situações aversivas ao longo da vida em ratos manipulados no período neonatal. Tal constatação sugere que a manipulação neonatal parece aumentar a habilidade de enfrentar novos estressores, incrementando adaptação do animal ao ambiente (MADRUGA, 2003; MARCO et al., 2015; NOSCHANG et al., 2012).

1.3.2 Separação materna

Além do manuseio neonatal, a separação materna também tem sido largamente utilizada como modelo para investigar os efeitos de experiências adversas precoces na neurofisiologia e comportamento ao longo da vida (AISA et al., 2008; MARCO et al., 2015). Enquanto o manuseio neonatal visa a estimulação do cuidado materno, a separação materna entre 1 a 6 horas promove redução do cuidado materno para com os filhotes, sendo um modelo animal que se aproxima em humanos, à situações de negligência física e emocional dos pais (HEIM; NEMEROFF, 2001; SHAMSEDDEEN et al., 2011).

Nos roedores, a mãe deixa o ninho regularmente durante as primeiras duas semanas após o nascimento da prole. Separações voluntárias do ninho podem durar de 15 minutos a 1 hora, dependendo da idade dos filhotes (MADRUGA, 2003; RENARD; RIVAROLA; SUÁREZ, 2007; SHU et al., 2015). O procedimento de separação materna, como modelo de intervenção precoce, consiste na remoção da mãe ou dos filhotes do ninho por períodos maiores que o tempo normal de afastamento entre mãe e filhotes na natureza, sendo geralmente utilizados períodos de 1 a 24 horas. Este protocolo pode utilizar uma privação única (geralmente 24 horas) (LLORENTE et al., 2007; MARKOVIC et al., 2014; VIVEROS et al., 2010) ou privações periódicas, variando-se a frequência e o momento do período pós-natal em que é realizada (BAI et al., 2014; BENETTI et al., 2009; JAIME et al., 2016; MARCO et al., 2015; MARIN; CRUZ; PLANETA, 2007).

Os protocolos de separação materna descritos na literatura geralmente começam a partir do segundo dia pós-natal (DPN) até o DPN 10 ou 14, e estendem-se em alguns experimentos até o desmame, no DPN 21 (LLORENTE et al., 2007; SHU et al., 2015; VETULANI, 2013). As condições de separação diferem entre os estudos, com filhotes separados das respectivas mães de forma isolada ou juntos em ninhada. Quando isolados dos irmãos, são colocados individualmente em compartimentos pequenos dentro de um mesmo espaço para que possam se comunicar, sendo privados apenas do contato tátil (BAI et al., 2014; LEUSSIS et al., 2012). Já quando separados em ninhada, os filhotes podem permanecer na caixa viveiro ou serem alocados em uma nova caixa (AISA et al., 2008; BENETTI et al., 2009; SHU et al., 2015). Vale ressaltar que, em todos os paradigmas é de extrema importância o controle da temperatura ambiente de forma a evitar a hipotermia dos filhotes, principalmente quando a separação é realizada de forma isolada (RÜEDI-BETTSCHEIN et al., 2005; ZIMMERBERG; SHARTRAND, 1992).

O estresse de separação materna experimentado pelos filhotes não é compensado pelo aumento do cuidado materno, pois as progenitoras são menos atentas aos filhotes quando retornam após o período de 3 horas (BENETTI et al., 2009; JAIME et al., 2016). Estudos que utilizam protocolos de separação de 3 horas/dia durante as duas primeiras semanas de vida mostram animais com comportamento depressivo e ansioso, apresentando resposta do eixo HPA alterada mediante novos desafios no decorrer da vida (LEE et al., 2007; MARCO et al., 2015). Adicionalmente, apresentam alteração no tempo total de sono (aumento ou redução) (FENG et al., 2011) e diminuição da concentração dos receptores de glicocorticoides no hipotálamo, córtex frontal e hipocampo (DIEHL, 2009). Animais separados de suas progenitoras no período pós-natal também apresentaram comportamento de compulsão alimentar e diminuição da preferência por soluções doces, assim como, menor conteúdo de serotonina no hipocampo e núcleos da rafe e menor expressão gênica do transportador desse neurotransmissor nos núcleos da rafe (JAHNG et al., 2012; SILVEIRA et al., 2004; OWN; IQBAL; PARESH, 2013).

Ademais, estudos indicam que a separação materna também aumenta o surgimento de comportamentos depressivos durante a adolescência, semelhante a achados clínicos em seres humanos (ANDERSEN; TEICHER, 2008; LEUSSIS et al., 2012). Em relação à vida adulta, animais separados de suas mães nas primeiras semanas de vida apresentam alterações comportamentais e neuroendócrinas semelhantes aos observados em pacientes com depressão e transtornos de ansiedade (DIEHL et al., 2012; LADD et al., 2000). O sexo também constitui um fator que promove diferenças em relação às consequências do estresse de separação

materna (BANGASSER; WICKS, 2017; KOKRAS; DALLA, 2017; VETULANI, 2013). Machos e fêmeas parecem possuir diferenças comportamentais e estratégias de enfrentamento em testes comportamentais em função principalmente dos hormônios sexuais (ESTRADA-CAMARENA et al., 2010; KESSLER; BROMET, 2013).

É bem sabido que os efeitos da separação materna diferem dependendo de variáveis como a duração de cada episódio, o número de episódios experimentados pelos animais e o período do desenvolvimento pós-natal em que o protocolo é realizado (KRATZ, 2013; RIVAROLA; SOÁREZ, 2009; WONG et al., 2015). Diante disto, foi escolhido para este trabalho um modelo de separação de 3 horas entre os dias pós-natais 2 ao 10, uma vez que este consiste em um protocolo bastante utilizado e que se mostra capaz de gerar alterações tanto endócrinas quanto comportamentais (BENETTI et al., 2009; MARCO et al., 2015; MARIN; CRUZ; PLANETA, 2007).

1.4 Depressão

A depressão é um transtorno de humor crônico, heterogêneo, complexo e multifatorial que afeta em média 120 milhões de pessoas no mundo (KESSLER; BROMET, 2013). Segundo a Organização Mundial da Saúde, em 2030, será a principal doença que afeta a população no mundo (WHO, 2011). Vale ressaltar ainda, que aproximadamente 80% dos indivíduos que receberam tratamento para um episódio depressivo apresentarão um segundo episódio, sendo quatro a média de episódios ao longo da vida (BAES, 2012; FLECK et al., 2009). Essa psicopatologia, que impõe severo comprometimento social e econômico global (FERRARI et al., 2013; MELLO et al., 2003), caracteriza-se, pelo DSM-V, por um conjunto de pelo menos cinco sintomas depressivos durante um período de pelo menos duas semanas, conforme mostra a Tabela 1. Sendo que, é necessário que esteja presente pelo menos um dos chamados sintomas típicos (humor depressivo ou anedonia) (DSM-V, 2014). Estes sintomas são muitas vezes recorrentes e propensos à cronicidade e interferem na capacidade do indivíduo em lidar com a vida cotidiana (CORDEIRO, 2014; KRISHNAN; NESTLER, 2008).

Tabela 1 – Critérios diagnósticos de depressão segundo DSM-V.

Episódio Depressivo (DSM-V)
1. Humor depressivo
2. Anedonia
<i>Além de 4 ou mais dos seguintes sintomas:</i>
3. Aumento ou diminuição do sono
4. Aumento ou diminuição do apetite
5. Alterações na concentração e memória
6. Pensamentos de culpa
7. Fadiga ou desânimo
8. Lentidão ou agitação
9. Pensamentos de morte

Fonte: DSM-V (2014).

Existem diversos subtipos de depressão, que variam de acordo com a sintomatologia clínica (melancólica ou somática, psicótica e atípica), polaridade (bipolar ou unipolar), curso (recorrente, breve recorrente e persistente) e fatores desencadeantes (sazonal e puerperal). Além disso, a literatura classifica a depressão de acordo com o grau de incapacitação do paciente e o seu sofrimento, como leve, moderada e grave (GORENSTEIN; MORENO, 2011; TOFOLI, 2012).

Apesar das extensas investigações e hipóteses, os processos neurobiológicos que conduzem ao quadro clínico de depressão não são totalmente compreendidos. A hipótese mais amplamente aceita é a do desequilíbrio das monoaminas (MANEIRA, 2014; SCHILDKRAUT, 1965). Segundo esta hipótese, a depressão é causada pela diminuição das funções exercidas pelas monoaminas no encéfalo (BERTON; NESTLER, 2006). Contudo, esta teoria não explica o amplo aspecto das alterações estruturais macroscópicas e microscópicas documentadas em pacientes deprimidos ao longo dos anos de estudos, como a desregulação do eixo hipotálamo-pituitária-adrenal (HPA), mudanças na microbiota intestinal e potenciais mecanismos inflamatórios (AISA et al., 2008; MAYER et al., 2014; ROSENBLAT et al., 2014). Além disso, não esclarece o possível envolvimento de outros neurotransmissores, tais como glutamato (McCARLTHY et al., 2012), ácido gama-

aminobutírico (GABA) (LUSCHER; SHEN; SAHIR, 2011) e outros neuropeptídios incluindo o hormônio liberador de corticotropina (CRH) (LLOYD; NEMEROFF, 2011).

A depressão típica é caracterizada por uma constante hiperatividade do eixo HPA e uma desregulação do sistema nervoso autônomo (SNA) (CHIRIȚĂ et al., 2015). Várias regiões encefálicas e circuitos regulam a emoção e a recompensa e, portanto, alterações funcionais em regiões límbicas altamente interligadas têm sido implicadas na depressão (DALLA et al., 2009; GOLD, 2014). Neste tipo de depressão, as atividades centrais do glutamato, das monoaminas e citocinas diminuem de forma significativa e persistente, assim como a atividade do núcleo accumbens, ocasionando a anedonia (GOLD, 2014). Diminuições volumétricas observadas no hipocampo e outras regiões encefálicas em pacientes deprimidos têm apoiado a hipótese de depressão envolvendo a diminuição do fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF), que também tem papel na plasticidade cerebral (KRISHNAN; NESTLER, 2008). Essa hipótese provém de estudos pré-clínicos que mostram que várias formas de estresse reduzem a sinalização mediada pelo BDNF no hipocampo, enquanto o tratamento com antidepressivos aumenta a sinalização mediada por essa molécula (DURMAN; MONTEGGIA, 2006). A depressão também tem sido associada a mecanismos imune e moléculas biológicas associadas a esse sistema, como as citocinas (DALLA et al., 2009; FELGER; LOTRICH, 2013).

O aumento das concentrações séricas de glicocorticoides mediante a desregulação do eixo hipófise-pituitária-adrenal (HPA) tem sido diretamente implicado na fisiopatologia da depressão típica (AISA et al., 2008; MARCO et al., 2015; MELLO et al., 2003). Além disso, várias anormalidades metabólicas que são frequentemente associadas à depressão, como a resistência a insulina e obesidade abdominal podem ser pelo menos em parte, explicadas pelo aumento da concentração de glicocorticoides (BJORNTORP; ROSMOND, 2000; HEWAGALAMULAGE et al., 2015). Experiências adversas no início da vida parecem acelerar o aparecimento desse transtorno (LEUSSIS; ANDERSEN, 2008; MELLO et al., 2003). Embora a etiologia específica da depressão maior permaneça desconhecida, têm crescido o consenso de que tanto fatores genéticos bem como experiências adversas no início da vida são pontos cruciais determinantes (ANDERSEN; THEICHER, 2008).

Em relação a fase da vida de desenvolvimento de quadros depressivos em humanos, aproximadamente 15 a 20% dos adolescentes irão sofrer quadros depressivos antes que atinjam a idade adulta (BIRMAHER et al., 1996; LEUSSIS et al., 2012). A depressão na adolescência está associada a quadros crônicos, graves e incapacitantes, com taxas mais elevadas de histórico familiar e tentativas de suicídio do que a depressão na idade adulta

(ANDERSEN; THEICHER, 2008). Sendo que, os quadros depressivos em adolescentes são de maior anedonia quando comparados aos adultos (LEUSSIS; ANDERSEN, 2008; SHAMSEDDEEN et al., 2011). As alterações hormonais que ocorrem durante esse período contribuem para o maior risco de surgimento de psicopatologias (GIEDD; KESHAVAN; PAUS, 2008). Além disso, como as diferenças na prevalência da depressão entre os sexos emergem principalmente após o período da adolescência, sugere-se que os hormônios sexuais possuem um papel na fisiopatologia dessa doença (DALLA et al., 2011; FISHER et al., 2017). Em relação aos adultos, estudos clínicos mostram que pacientes com depressão que experimentaram eventos traumáticos na infância, exibiram sintomas depressivos mais graves e reagiram mal aos antidepressivos comumente usados (SHU et al., 2015; WIERSMA et al., 2009). Ademais, as mulheres são duas vezes mais propensas a depressão do que homens (ANDERSEN; TEICHER, 2008; KATO et al., 2016; MANEIRA, 2014), o que sugere a influência dos hormônios sexuais femininos (KOKRAS; DALLA, 2014; McEWEN, 2001).

Diante do exposto, o eventual desenvolvimento de depressão é determinado por vários fatores como a susceptibilidade genética, o gênero, assim como a frequência, gravidade, multiplicidade dos estressores e o momento da vida no qual ocorreu a exposição ao estresse (CASPI et al., 2003; DALLA et al., 2009; JAWAHAR et al., 2015). A investigação das diferenças de sexo na neurobiologia da depressão e resposta aos antidepressivos visa melhorar o diagnóstico e criar farmacoterapias baseadas no gênero. Embora estudos comparativos entre machos e fêmeas sejam ainda limitados, é de extrema importância a investigação da influência do sexo na depressão (BANGASSER; VALENTINO, 2014; KESSLER; BROMET, 2013).

1.5 Modelos animais de depressão

Modelos animais de transtornos psiquiátricos complexos, como a depressão, constituem um enorme desafio à ciência, pois é extremamente difícil imaginar um modelo que reproduza perfeitamente os sintomas de depressão em humanos. Contudo, esta psicopatologia, assim como outras, pode ser reproduzida e avaliada em modelos animais por meio de alterações fisiológicas, endocrinológicas, neuroanatômicas e comportamentais (ABELAIRA; RÉUS; QUEVEDO, 2013; BAI et al., 2014; NESTLER; HYMAN, 2010).

Os modelos animais de depressão são geralmente baseados na reprodução de um ou mais sintomas depressivos, por exemplo, o desespero comportamental ou a anedonia. Critérios para a validação do modelo também devem ser seguidos e incluem: 1) validade de

face: as manifestações comportamentais devem ser semelhantes aos sintomas observados em pacientes; 2) validade de constructo: as alterações fisiopatológicas que ocorrem em pacientes com depressão também devem ocorrer nos animais; 3) validade preditiva: as alterações comportamentais devem ser revertidas por tratamentos efetivos na clínica (ABELAIRA; RÉUS; QUEVEDO, 2013; CORDEIRO, 2014; KRISHNAN; NESTLER, 2011).

Os modelos animais de depressão constituem ferramentas importantes que auxiliam na descoberta de substâncias com potencial antidepressivo. Existem vários modelos utilizados para estudar essa psicopatologia, entre eles, os que envolvem a exposição a algum tipo de estresse social como a separação materna (BENETTI et al., 2009), o isolamento (VARGAS et al., 2016); aqueles baseados no desamparo aprendido (MAIER; SELIGMAN, 2016); o teste do nado forçado (BOGDANOVA et al., 2013); suspensão pela cauda (CRYAN; MOMBÉREAU; VASSOUT, 2005); teste de consumo de sacarose (WILLNER, 2005); estresse crônico variável (MARIN; CRUZ; PLANETE, 2007) e bulbectomia (SLATTERY; MARKOU; CRYAN, 2007).

O teste do nado forçado (TNF), que foi originalmente descrito por Porsolt, Le Pichion e Jalfre (1977), é atualmente o modelo animal mais utilizado em laboratórios para se avaliar comportamentos depressivos e o potencial de fármacos com atividade antidepressiva (CRYAN; VALENTINO; LUCKI, 2005; MEZADRI et al., 2011). O teste original consistia na exposição do animal a um cilindro de 15-18 cm de profundidade preenchido com água. Inicialmente, na etapa denominada de pré-teste, o animal era mantido no cilindro por um período de 15 minutos. Na segunda etapa, o teste propriamente dito, o animal era reexposto a mesma situação 24 horas após o primeiro contato, por um período de 5 minutos. Apenas o comportamento de imobilidade do animal era avaliado durante o teste (PORSOLT; LE PICHION; JALFRE, 1977). Com o passar dos anos, modificações foram realizadas nesse teste visando a sua melhor compreensão. Entre as modificações realizadas está o aumento na profundidade da água, utilizando-se então um cilindro de 25-30 cm. Tal alteração foi necessária devido ao fato de que maiores profundidades tornam o animal mais ativo e não permitem o desenvolvimento de adaptações comportamentais. Além disso, a técnica de observação também foi modificada, para que uma descrição mais completa dos comportamentos fosse realizada. Assim, comportamentos ativos como a natação e a escalada passaram a ser analisados (BOGDANOVA et al., 2013; CRYAN; VALENTINO; LUCKI, 2005; MANEIRA, 2014). Embora esse modelo de depressão seja amplamente utilizado, em função do baixo custo e fácil execução, a validade do teste de nado forçada é muitas vezes questionada. Em primeiro lugar, questiona-se o fato de a imobilidade caracterizar-se como

depressão e, em segundo lugar, porque os efeitos produzidos pelo teste em animais nem sempre estão associados a alterações neuropatológicas (CHIRIȚĂ et al., 2015; NESTLER et al., 2002).

Quanto ao teste de suspensão pela cauda, desenvolvido por Steru et al. (1985), é realizado em um episódio único, e consiste em suspender roedores, principalmente camundongos, pela cauda e registrar seu comportamento de imobilidade. Normalmente, após a suspensão, os roedores são engajados em várias tentativas de escape, as quais são temporalmente substituídas por uma postura imóvel. De maneira semelhante ao teste de nado forçado, antidepressivos reduzem o tempo total de imobilidade durante o teste e drogas psicoestimulantes podem induzir resultados falso-positivos. Dessa forma, esse modelo compartilha os mesmos questionamentos mostrados acima para o teste de nado forçado, no que se refere a validade como modelo animal de depressão (CASTAGNÉ et al., 2010; CRYAN; MOMBÉREAU; VASSOUT, 2005; HUA-CHENG et al., 2010).

O desamparo aprendido consiste em um dos primeiros e mais comuns modelos animais de avaliação de comportamentos depressivos. Sabe-se que eventos estressantes podem influenciar o desenvolvimento de depressão, e neste aspecto, o estresse pode ser usado para induzir sintomas depressivos em modelos animais (DALLA et al., 2009; HUA-CHENG et al., 2010; KRISHMAN; NESTLER, 2011). No teste de desamparo aprendido o animal passa inicialmente por sessões imprevisíveis e inescapáveis de choque elétrico e, quando testado novamente, é dada uma oportunidade de escape do estressor. Contudo, na maioria dos casos, os animais expostos ao estresse prévio não aprendem a escapar. Esse comportamento animal de desamparo foi equiparado a depressão em humanos (MAIER, 1984; MAIER; SELIGMAN, 2016; OVERMIER; SELIGMAN, 1967). A vantagem do desamparo aprendido consiste no fato de os sintomas desenvolvidos serem semelhante aos da depressão, e a maioria pode ser revertida por administração de antidepressivos. No entanto, o principal inconveniente deste modelo é que os sintomas depressivos não persistem por muito tempo após a cessação do choque incontrolável, e o fato de não existir uma padronização de protocolo entre os laboratórios (CRYAN; MARKOU; LUCKI, 2002; MITCHELL; REDFERN, 2005; TAKAMORI; YOSHIDA; OKUYAMA, 2001).

Outro teste muito utilizado para avaliação de comportamentos depressivos em roedores é o teste de consumo de sacarose, por meio do qual se avalia a anedonia, um dos principais sintomas de depressão (NESTLER et al., 2002; SLATTERY; MARKOU; CRYAN, 2007). A anedonia ou a insensibilidade ao reforço em modelos experimentais é uma característica comportamental similar à perda de interesse ou prazer e, aos sintomas de

melancolia, apresentados por humanos diagnosticados com depressão (CZÉH et al., 2015; DEUSSING, 2006; KATO et al., 2016). O teste de consumo de sacarose, proposto inicialmente por Willner et al. (1987), consiste em um modelo de depressão no qual a anedonia é avaliada por meio da ingestão de duas substâncias, geralmente água e solução de sacarose. O teste baseia-se na avaliação da preferência pela solução de sacarose, geralmente 1-2%, em relação à água. Os roedores naturalmente possuem maior preferência por soluções adocicadas, e estudos indicam que animais depressivos tendem a diminuir o consumo de sacarose. A diminuição na preferência pela sacarose é interpretada como uma alteração na “sensibilidade à recompensa”, ou anedonia, característica de depressão em humanos (CARDOSO; BONACO, 2009; MATTHEWS; ROBBINS, 2003; WILLNER, 2005).

Diante do exposto, a exposição a eventos adversos no início da vida parece influenciar na susceptibilidade à depressão, e modelos animais constituem ferramentas importantes para o estudo e caracterização dessa relação estresse/depressão. Assim, estudos que busquem uma melhor caracterização dos comportamentos depressivos e compreensão dos fatores de risco são extremamente importantes. Além disso, são necessárias avaliações quanto possíveis diferenças entre machos e fêmeas ao longo da vida, adolescência e vida adulta, no que diz respeito a depressão para que haja o desenvolvimento de formas de tratamento personalizado. Sendo assim, este trabalho visa avaliar as respostas ao estresse e comportamentos relacionados à depressão em ratos Wistar machos e fêmeas, adolescentes e adultos, expostos aos modelos de estresse de separação materna ou manuseio neonatal.

6 CONCLUSÃO

- ✓ Ambos os protocolos de estresse neonatal, assim como o sexo não provocaram diferença na massa corporal na adolescência. Na vida adulta, o estresse neonatal também não provocou diferença na massa corporal. Houve uma diferença em função do sexo, pois as fêmeas dos três grupos experimentais apresentaram massa corporal inferior aos machos. Tais resultados mostram que o estresse neonatal empregado em nosso estudo não alterou a massa corporal de ratos Wistar adolescentes e adultos. A diferença na massa corporal observada entre os sexos após a adolescência até a vida adulta deve-se, provavelmente a influência dos hormônios sexuais;

- ✓ O estresse neonatal não provocou diferença na massa do timo e das glândulas adrenais entre os grupos experimentais na adolescência, apenas foi verificado que as fêmeas apresentaram maior massa relativa desses órgãos quando comparadas aos machos. Na vida adulta, as fêmeas também apresentaram massa relativa do timo superior aos machos. Em relação as glândulas adrenais, as fêmeas do grupo manuseio neonatal apresentaram hipertrofia desse órgão em comparação aos grupos controle e separação materna. Já na comparação entre os sexos, as fêmeas apresentaram massa relativa das adrenais superior aos machos. Esses resultados demonstram que o estresse neonatal exibe consequências sobre a massa relativa do timo e adrenais apenas na vida adulta, e que as diferenças hormonais entre os sexos parecem explicar a maior massa relativa desses órgãos nas fêmeas;

- ✓ O estresse de separação materna aumentou o tempo de imobilidade de machos e fêmeas adolescentes em comparação aos grupos controle e manuseio neonatal. Na vida adulta, a separação materna reduziu o tempo médio de natação e aumentou o de imobilidade. Os resultados sugerem que o estresse de separação materna aumenta a susceptibilidade à depressão tanto em ratos Wistar adolescentes quanto em adultos;

- ✓ Na adolescência não foi verificada diferença na preferência pelo consumo da solução de sacarose entre os grupos experimentais. Na vida adulta, a preferência pela solução de sacarose 24 horas foi influenciada pelo estresse neonatal e pelo sexo, sendo que as fêmeas apresentaram maior preferência pela solução quando comparadas aos machos. Além disso, houve uma maior preferência pela sacarose pelos grupos manuseio neonatal e separação materna comparados ao grupo controle. Esses resultados mostram que a separação materna e o sexo provocaram alterações na preferência pela sacarose apenas na vida adulta. Além disso, sugerem que o teste de preferência pela sacarose não foi tão sensível quanto o nado forçado em detectar comportamentos relacionados à depressão na adolescência e vida adulta de ratos Wistar expostos ao estresse de manuseio neonatal e separação materna.

REFERÊNCIAS

- ABELAIRA, H. M.; RÉUS, G. Z.; QUEVEDO, J. Animal models as tools to study the pathophysiology of depression. **Revista Brasileira de Psiquiatria**, v. 35, suppl 2, p. 112-120, 2013.
- AISA, B. et al. Cognitive impairment associated to HPA axis hyperactivity after maternal separation in rats. **Psychoneuroendocrinology**, v.32, n.3, p. 56-266, 2007.
- AISA, B. et al. Effects of maternal separation on hypothalamic-pituitary-adrenal responses, cognition and vulnerability to stress in adult female rats. **Neuroscience**, v. 154, n.4, p.1218-1226, 2008.
- ANDERSEN, S. L. Exposure to early adversity: points of cross-species translation that can lead to improved understanding of depression. **Developmental and Psychopathology**, v. 27, n. 2, p. 477-491, 2015.
- ANDERSEN, S.L., TEICHER, M. H.; Stress, sensitive periods and maturational events in adolescent depression. **Trends in Neurosciences**, v. 31, n. 4, p. 183–191, 2008.
- ANDRADE, S. et al. Sex-dependent antidepressant effects of lower doses of progesterone in rats. **Physiology & Behavior**, v. 99, n. 5, p. 687-690, 2010.
- ARBORELIUS, L.; EKLUND, M. B. Both long and brief maternal separation produces persistent changes in tissue levels of brain monoamines in middle-aged female rats. **Neuroscience**, v. 145, n. 2, p. 738-750, 2007.
- BAES, C. V. W. **Estresse precoce e alterações do eixo hipotálamo-pituitária-adrenal (HPA) na depressão**. 2012. 164f. Dissertação (Mestrado em Ciências Médicas) – Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto, 2012.
- BAI, M. et al. Comparison of depressive behaviors induced by three stress paradigms in rats. **Physiology & Behavior**, v. 131, p. 81-86, 2014.
- BALE, T. L. et al. Early life programming and neurodevelopmental disorders. **Biology Psychiatry**, v. 6, n. 4, p. 314-319, 2010.
- BANGASSER, D. A.; VALENTINO, R. J. Sex differences in stress-related psychiatric disorders: neurobiological perspectives. **Frontiers in Neuroendocrinology**, v. 35, n. 3, p. 303-319, 2014.
- BANGASSER, D. A.; WICKS, B. Sex-specific mechanisms for responding to stress. **Journal of Neuroscience Research**, v. 95, n. 1-2, p. 75-82, 2017.
- BARROS, H. M.; FERIGOLO, M. Ethopharmacology of imipramine in the forced-swimming test: gender differences. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 23, n. 2, p. 279-286, 1998.

BENETTI, C. S. **A manipulação durante o período neonatal altera a preferência alimentar e o perfil metabólico de ratos na vida adulta.** 2007. 73f. Dissertação (Mestrado em Ciências Médicas) – Universidade Federal do Rio Grande d Sul (UFRS), Porto Alegre, 2007.

BENETTI, F. et al. Effects of neonatal novelty exposure on sexual behavior, fear, and stress-response in adult rats. **Developmental Psychobiology**, v. 49, n. 3, p. 258-264, 2007.

BENETTI, F. et al. Early postnatal maternal deprivation in rats induces memory deficits in adult life that can be reversed by donepezil and galantamine. **International Journal of Developmental Neuroscience**, v. 27, n. 1, p. 59-64, 2009.

BERTON, O.; NESTLER, E. J. New approaches to antidepressant drug discovery: beyond monoamines. **Nature Reviews Neuroscience**, v.7, n. 2, p.137–151, 2006.

BETHEA, C. L. et al. Diverse actions of ovarian steroids in the serotonin neural system. **Frontiers in Neuroendocrinology**, v. 23, n. 1, p. 41-100, 2002.

BIRMAHER, B. et al. Childhood and adolescent depression: a review of the past 10 years. **Journal of the American Academy of Child Adolescent Psychiatry**, v.35, n. 11, p.1575–1583, 1996.

BJORNTORP, P.; ROSMOND, R. Obesity and cortisol. **Nutrition**, v.16, n. 10, p.924–936, 2000.

BLAUSTEIN, J. D. Neuroendocrine regulation of feminine sexual behavior: lessons from rodent models and thoughts about humans. **Annual Review of Psychology**, v. 59, p. 93-118, 2008.

BOGDANOVA, O. V. et al. Factors influencing in the forced swim test. **Physiology & Behavior**, v. 118, p. 227-239, 2013.

BORROW, A. M.; CAMERON, N. M. Maternal care and affective behavior in female offspring: implication of the neurosteroid/GABAergic system. **Psychoneuroendocrinology**, v. 76, p. 29-37, 2017.

BOUFLEUR, N. et al. Neonatal handling prevents anxiety-like symptoms in rats exposed to chronic mild stress: behavioral and oxidative parameters. **Stress**, v. 16, n. 3, p. 321-330, 2013.

BOURET, S. G.; DRAPER, S. J.; SIMERLY, R. B. Trophic action of leptin on hypothalamic neurons that regulate feeding. **Science**, v. 304, n. 5667, 2004.

BUDDENBERG, T. E. et al. Attenuating effects of testosterone on depressive-like behavior in the forced swim test in healthy male rats. **Brain Research Bulletin**, v. 79, n. 3-4, p. 182-186, 2009.

CARDOSO, L. R. D.; BANACO, R. A. Efeitos do esquema de intervalo variável no desenvolvimento de anedonia induzida por estresse crônico moderado em ratos. **Revista Brasileira de Análise do Comportamento**, v. 5, n. 1, p. 79-96, 2009.

CARRIER, N. et al. The anxiolytic and antidepressant-like effects of testosterone and estrogen in gonadectomized male rats. **Biological Psychiatry**, v. 78, n. 4, p. 259-269, 2015.

CASP, A. et al. Influence of life stress on depression: moderation by a polymorphism in the 5-HTT gene. **Science**, v. 301, n. 5631, p. 386-389, 2003.

CASTAGNÉ, V. et al. Rodent models of depression: forced swim and tail suspension behavioral despair tests in rats and mice. **Current Protocols in Pharmacology**, chapter 5, init. 5.8, suppl. 49 2010.

CAVAGNINI F. et al. Glucocorticoids and neuroendocrine function. **International Journal of Obesity**, v.24, S 2, p.77-79, 2000.

CHIRIȚĂ, A. L. et al. Current understanding of the neurobiology of major depressive disorder. **Romanian Journal of Morphology and Embryology**, v. 56, suppl. 2, p. 651-658, 2015.

CHROUSOS, G. P. Organization and Integration of the Endocrine System: The Arousal and Sleep Perspective. **Sleep Medicine Clinics**, v.2, n.2, p.25-145, 2007.

CLINTON, S. M.; WATSON, S. J.; AKIL, H. High novelty-seeking rats are resilient to negative physiological effects of the early life stress. **Stress**, v. 17, n. 1, p. 97-107, 2014.

COLORADO, R. A. et al. Effects of maternal separation, early handling, and standard facility rearing on orienting and impulsive behavior of adolescent rats. **Behavioural Processes**, v. 71, n. 1, p. 51-58, 2006.

CORDEIRO, R. C. **Envolvimento de mecanismos dopaminérgicos na atividade antidepressiva da leptina no comportamento tipo-depressão induzido por LPS em camundongos**. 2014. 74f. Dissertação (Mestrado em Ciências Médicas) – Universidade Federal do Ceará (UFC), Fortaleza, 2014.

COSTA-FERREIRA, W. et al. Involvement of type 1 angiotensin II receptor (AT₁) in cardiovascular changes induced by chronic emotional stress: comparison between homotypic and heterotypic stressors. **Frontiers in Pharmacology**, v. 7, article 262, p. 1-13, 2016.

COUTELLIER, L. et al. Variations in the postnatal maternal environment in mice: effects on maternal behaviour and behavioural and endocrine responses in the adult offspring. **Physiology & Behavior**, v. 93, n. 1-2, p. 395-407, 2008.

CRUZ, F. C. et al. Behavioral and neuroendocrine effects of the exposure to chronic restraint or variable stress in early adolescent rats. **International Journal of Developmental Neuroscience**, v. 30, n. 1, p. 19-23, 2012.

CRYAN, J. F.; MARKOU, A.; LUCKI, L. Assessing antidepressant activity in rodents: recent developments and future needs. **Trends in Pharmacological Sciences**, v. 23, n. 5, p. 238-245, 2002.

CRYAN, J. F.; MOMBÉREAU, C.; VASSOUT, A. The tail suspension test as a model for assessing antidepressant activity: review of pharmacological and genetics studies in mice. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 29, n. 4-5, p. 571-625, 2005.

CRYAN, J.F.; VALENTINO, R.J.; LUCKI, I. Assessing substrates underlying the behavioral effects of antidepressants using the modified rat forced swimming test. **Neuroscience and Biobehavioral reviews**, v.29, n.4-5, p.547-69, 2005.

CZÉH, B. et al. Animal models of major depression and their clinical implications. **Progress in Neuropsychopharmacology & Biological Psychiatry**, v. 64, p. 293-310, 2015.

DALLA, C. et al. Sex differences in animal models of depression and antidepressant response. **Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology**, v. 106, p. 226-233, 2009.

DALLA, C. et al. Sex differences in response to stress and expression of depressive-like behaviours in the rat. **Current Topics in Behavioral Neurosciences**, v. 8, p. 97-118, 2011.

DASKALAKIS, N. P. et al. The three-hit concept of vulnerability and resilience: towards understanding adaptation to early-life adversity outcome. **Psychoneuroendocrinology**, v. 38, n. 9, p. 1858-1873, 2013.

DEBARBA, L. K. **Impacto do estresse intrauterino sobre o comportamento tipo ansiedade, massa corporal e a atividade glutatônica no córtex e hipocampo de camundongos na idade adulta**. 2012. 92f. Dissertação (Mestrado em Neurociências) – Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), Florianópolis, 2012.

DE KLOET, E. R. et al. Brain corticosteroid receptor balance in health and disease. **Endocrine Reviews**, v. 19, n. 3, p. 269-301, 1998.

DEUSSING, J. M. Animal models of depression. **Drug Discovery Today: Disease Models**, v. 3, n. 4, p. 375-383, 2006.

DIEHL, L. A. **Separação materna como possível fator de risco para o desencadeamento do transtorno de estresse pós-traumático – um modelo em animais de experimentação**. 2009. 130f. Dissertação (Mestrado em Neurociências) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRS), Porto Alegre, 2009.

DIEHL, L. A. **Efeitos duradouros da separação materna sobre parâmetros cognitivos, respostas emocionais e alterações neuroquímicas em ratos**. 2014. 134f. Tese (Doutorado em Neurociências) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRS), Porto Alegre, 2014.

DIEHL, L. A. et al. Lost-lasting effects of maternal separation on an animal model of post-traumatic stress disorder: effects on memory and hippocampal oxidative stress. **Neurochemical Research**, v. 37, n. 4, p. 700-707, 2012.

DIMATELIS, J. J. et al. Female rats are resistant to developing the depressive phenotype induced by maternal separation stress. **Metabolic Brain Disease**, v. 3, n. 1, p. 109-119, 2016.

DOHANICH, G. Gonadal steroids, learning and memory. **Hormones, Brain and Behavior**, v. 2, p. 256-327, 2002.

DOMÍNGUES-GERPE, L.; REY-MÉNDEZ, M. Role of pre-T cells and chemoattractants on stress-associated thymus involution. **Scandinavian Journal of Immunology**, v. 52, n. 5, p. 470-476, 2000.

DSM-V. **Manual diagnóstico e estatístico de transtornos mentais**. American Psychiatric Association. Porto Alegre: Artmed, 2014.

DUARTE, J. O. et al. Stress vulnerability during adolescence: comparison of chronic stressors in adolescent and adult rats. **Psychosomatic Medicine**, v. 77, n. 2, p. 186-199, 2015.

DUMAN, R.S.; MONTEGGIA, L.M. A neurotrophic model for stress-related mood disorders. **Biological Psychiatry**, v.59, n. 12, p.1116–1127, 2006.

ESTRADA-CAMARENA, E. et al. Antidepressant effects of estrogens: a basic approximation. **Behavioural Pharmacology**, v. 21, n. 5-6, p. 451-464, 2010.

ESTRADA-CAMARENA, E.; FERNÁNDEZ-GUASTI, A.; LÓPEZ-RUBALCAVA, C. Interaction between estrogens and antidepressants in the forced swimming test in rats. **Psychopharmacology (Berl)**, v. 173, n. 1-2, p. 139-145, 2004.

FELGER, J. C.; LOTRICH, F. E. Inflammatory cytokines in depression: neurobiological mechanisms and therapeutic implications. **Neuroscience**, v. 246, p. 199-229, 2013.

FENG, P. et al. Maternal stress induces adult reduced REM sleep and melatonin level. **Developmental Neurobiology**, v. 72, n. 5, p. 677-687, 2011

FERRARI, A.J. et al. Burden of depressive disorders by country, sex, age, and year: findings from the global burden of disease study 2010. **PLoS Med.**, v.10, n.11, p.1001547, 2013.

FERREIRA, A. P. B. R. **Efeitos do estresse crônico sobre o timo e o hipocampo de ratos jovens e senis submetidos a desafio imunológico e tratamento com hormônio do crescimento (modelo experimental)**. 2011. 167f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) – Universidade Federal de Viçosa (UFV), Viçosa, 2011.

FINKESLSTEIN, M. D. et al. Gonadal steroids and body composition, strength, and sexual function in men. **New England Journal of Medicine**, v. 369, p. 1011-1022, 2013.

FISHER, P. M. et al. Pharmacologically induced sex hormones fluctuation effects on resting-state functional connectivity in a risk model for depression: a randomized trial. **Neuropsychopharmacology**, v. 42, n. 2, p. 446-453, 2017.

FLECK, M. P. et al. Revisão das diretrizes da Associação Médica Brasileira para o tratamento da depressão. **Revista Brasileira de Psiquiatria**, v. 31, supl. 1, p. 7-17, 2009.

FLEMING, A.S.; O'DAY, D.H.; KRAEMER, G.W. Neurobiology of mother–infant interactions: experience and central nervous system plasticity across development and generations. **Neuroscience Biobehavioral Reviews**, v.23, n. 5, p.673–85, 1999.

FRANCESCHELLI, A. et al. Sex differences in the chronic mild stress model de depression. **Behavioural Pharmacology**, v. 25, n. 5-6, p. 372-383, 2014.

FRYE, C. A.; CUEVAS, C. A.; KANAREK, R. B. Diet and estrous cycle influence pain sensitivity in rats. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 45, n. 1, p. 255-260, 1993.

FRYE, C. A.; EDINGER, K.; SUMIDA, K. Androgen administration to aged male mice increases anti-anxiety behavior and enhances cognitive performance. **Neuropsychopharmacology**, v. 33, n. 5, p. 1049-1061, 2008.

GARCIA, L. S. et al. Ketamine treatment reverses behavioral and physiological alterations induced by chronic mild stress in rats. **Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry**, v. 33, n. 3, p. 450-455, 2009.

GIEDD, J. N.; KESHAVAN, M.; PAUS, T. Why do many psychiatric disorders emerge during adolescence? **Nature Reviews Neuroscience**, v. 9, n. 12, p. 947-957, 2008.

GOLD, P. W. The organization of the stress system and its dysregulation in depressive illness. **Molecular Psychiatry**, v. 20, n. 1, p. 32-47, 2014.

GOLD, P. W.; CHROUSOS, G. P. Organization of the stress system and its dysregulation in melancholic and atypical depression: high vs low CRH/NE states. **Molecular Psychiatry**, v. 7, n. 3, p. 254-275, 2002.

GÓMEZ, M. L. et al. Influence of the brain sexual differentiation process on despair and antidepressant-like effect of fluoxetine in the rat forced swim test. **Neuroscience**, v. 261, p. 11-22, 2014.

GOENSTEIN, C.; MORENO, R. **Escalas de Avaliação de Depressão**. Casa Leitura Médica, 1 edição, 2011.

GROVE, K.L.; et al. Development of metabolic systems. **Physiology & Behavior**, v. 86, n. 5, p.646–660, 2005.

GUSTAFSSON, L.; PLOJ, K.; NYLANDER, I. Effects of maternal separation on voluntary ethanol intake and brain peptide systems in female Wistar rats. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**, v. 81, n. 3, p. 506-516, 2005.

HALEY, S. et al. Mechanical-tactile stimulation (MTS) intervention in a neonatal stress model alters adult adipose tissue deposition and prevents hyperinsulinemia in male rats. **Early Human Development**, v. 89, n. 6, p. 387-392, 2013.

HAUSMAN, G. J.; BARB, C. R. Adipose tissue and the reproductive axis: biological aspects. **Endocrine Development**, v. 19, p. 31-44, 2010.

HEIM, C.; NEMEROFF, C.B.; The role of childhood trauma in the neurobiology of mood and anxiety disorders: preclinical and clinical studies. **Biology Psychiatry**, v.49, n. 12, p.1023–1039, 2001.

HERMAN, J. P. et al. Central mechanisms of stress integration: hierarchical circuitry controlling hypothalamo-pituitary-adrenocortical responsiveness. **Frontiers in Neuroendocrinology**, v. 24, n. 3, p. 151-180, 2003.

HERMAN, J. P. et al. Neural regulation of the stress response: glucocorticoid feedback mechanisms. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 45, n. 4, p. 292-298, 2012.

HEWAGALAMULAGE, S. D. et al. High cortisol response to adrenocorticotrophic hormone identifies ewes with reduced melanocortin signalling and increased propensity to obesity. **Journal of Neuroendocrinology**, v. 27, n. 1, p. 44-56, 2015.

HINCE, M. et al. The role of sex steroids and gonadectomy in the control of thymic involution. **Cellular Immunology**, v. 252, n. 1-2, p. 122-138, 2008.

HIROKAWA, L.; UTSUYAMA, M.; KOBAYASHI, S. Hypothalamic control of developmental and aging of thymus. **Mechanism of Ageing and Development**, v. 100, p. 177-185, 1998.

HU, L. et al. A new stress model, a scream sound, alters learning and monoamine levels in rat brain. **Physiology & Behavior**, v. 123, p. 105-113, 2014.

HUA-CHENG, Y. et al. Behavioral animal models of depression. **Neuroscience Bulletin**, v. 26, n. 4, p. 327-337, 2010.

JACOBSON, L.; SAPOLSKY, R. The role of the hippocampus in feedback regulation of the hypothalamic-pituitary-adrenocortical axis. **Endocrine Reviews**, v. 12, n. 2, p. 118-134, 1991.

JAHNG, J. W. et al. Increased mesohippocampal dopaminergic activity and improved depression-like behaviors in maternally separated rats following repeated fasting/refeeding cycles. **Journal of Obesity**, ID: 497101, p. 1-9, 2012.

JAIME, H. J. et al. Young-adult male rats' vulnerability to chronic mild stress is reflected by anxious-like instead of depressive-like behaviors. **Neuroscience Journal**, ID: 5317242, p. 1-12, 2016.

JAWAHAR, M. R. et al. Epigenetic alterations following early postnatal stress: a review on novel aetiological mechanisms of common psychiatric disorders. **Clinical Epigenetics**, v. 7, n. 122, p. 1-13, 2015.

JOËLS, M.; BARAM, T. Z. The neuro-symphony of stress. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 10, n. 6, p. 459-466, 2009.

KALINICHEV, M. et al. 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 Behavior**, v.73, n. 1, p.131-140, 2002.

KATO, T. Animal models of recurrent or bipolar depression. **Neuroscience**, v. 321, p. 189-196, 2016.

KESSLER, R.C.; BROMET, E.J. The epidemiology of depression across cultures. **Annual Review of Public Health**, v.34, p.119–38, 2013.

KLOET, E.R.; JOËLS, M.; HOLSBOER, F. Stress and the brain: from adaptation to disease. **Nature Reviews: Neuroscience**, v.6, n. 6, p.463-473, 2005.

KOKRAS, N.; DALLA, C. Sex differences in animal models of psychiatric disorders. **British Journal of Pharmacology**, v. 171, n. 20, p. 4595-4619, 2014.

KOKRAS, N.; DALLA, C. Preclinical sex differences in depression and antidepressant response: implications for clinical research. **Journal of Neuroscience Research**, v. 95, n. 1-2, p. 731-736, 2017.

KRATZ, M. **Estudo da persistência da extinção de memórias aversivas em animais submetidos a diferentes intervenções no período neonatal**. 2013. 65f. Dissertação (Mestrado em Neurociências) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRS), Porto Alegre, 2013.

KRISHNAN, V.; NESTLER, E.J. The molecular neurobiology of depression. **Nature**, v.455, n. 455, p.894-902, 2008.

KRISHNAN, V.; NESTLER, E. J. Animal models of depression: molecular perspectives. **Current Topics in Behavioral Neurosciences**, v. 7, p. 121-147, 2011.

LADD, C. O. et al. Long-term behavioral and neuroendocrine adaptations to adverse early experience. **Progress in Brain Research**, v.122, p.81–103, 2000.

LEE, J. H. et al. Depressive behaviors and decreased expression of serotonin reuptake transporter in rats that experienced neonatal maternal separation. **Neuroscience Research**, v. 58, n. 1, p. 32-39, 2007.

LEE, R.; SAWA, A. Environmental stressors and epigenetic control of the hypothalamic-pituitary-adrenal-axis (HPA-axis). **Neuroendocrinology**, v. 100, n. 4, p. 278-287, 2014.

LEUSSIS, M. P. et al. Depressive-like behavior in adolescents after maternal separation: sex differences, controllability, and GABA. **Developmental Neuroscience**, v. 34, n. 2-3, p. 2010-217, 2012.

LEUSSIS, M. P.; ANDERSEN, S. L. Is adolescence a sensitive period for depression? Behavioral and neuroanatomical findings from a social stress model. **Synapse**, v. 62, n. 1, p. 22-30, 2008.

LEVINE, S. Plasma-free corticosteroid response to electric shock in rats stimulated in infancy. **Science**, v. 135, n. 3506, p. 795-796, 1962.

LEVINE, S. Developmental determinants of sensitivity and resistance to stress. **Psychoneuroendocrinology**, v. 30, n. 10, p. 939-946, 2005.

LEVINE, S.; ALPERT, M.; LEWIS, G. W. Infantile experience and the maturation of the pituitary adrenal axis. **Science**, v. 126, n. 3287, p. 1347, 1957.

LI, Y. et al. A rodent model of premenstrual dysphoria: progesterone withdrawal induces depression-like behavior that is differentially sensitive to classes of antidepressants. **Behavioural Brain Research**, v. 234, n.2, p. 238-247, 2012.

LLORENTE, R. et al. Early maternal deprivation and neonatal single administration with a cannabinoid agonist induce long-term sex-dependent psychoimmuneendocrine effects in adolescent rats. **Psychoneuroendocrinology**, v.32, n. 6, p.636–650, 2007.

LLOYD, R.B.; NEMEROFF, C.B. The role of corticotropin-releasing hormone in the pathophysiology of depression: therapeutic implications. **Current Topics in Medicinal Chemistry**, v.11, n.6, p.609–17, 2011.

LU, J. et al. Sex differences in the stress response in SD rats. **Behavioural Brain Research**, v. 284, p. 231-237, 2015.

LUSCHER, B.; SHEN, Q.; SAHIR, N. The GABAergic deficit hypothesis of major depressive disorder. **Journal of Molecular Psychiatry**, v.16, n.4, 383–406, 2011

LUTZ, M. L. **Modelo de Estresse materno perinatal em ratos: efeito sobre filhotes**. 2011. 84f. Dissertação (Mestrado em Neurociências) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRS), Porto Alegre, 2011.

MACRÌ, S.; WÜRBEL, H. Developmental plasticity of HPA and Fear responses in rats: A critical review of the maternal mediation hypothesis. **Hormones and Behavior**, v. 50, n. 5, p. 667-680, 2006.

MACRÌ, S.; WÜRBEL, H. Effects of variation in postnatal maternal environment on maternal behaviour and fear and stress responses in rats. **Animal Behaviour**, v. 73, n. 1, p. 171-184, 2007.

MADRUGA, C. S. **Estresse neonatal, expressão do medo e sistema dopaminérgico em ratos**. 2003. 132f. Dissertação (Mestrado em Neurociências) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRS), Porto Alegre, 2003.

MAIER, S. E. Learned helplessness and animal models of depression. **Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry**, v. 8, n. 3, p. 435-446, 1984.

MAIER, F. S.; SELIGMAN, M. E. P. Learned helplessness at fifty: insights from neuroscience. **Psychological Review**, v. 123, n. 4, p. 349-367, 2016.

MANEIRA, C. **Teste de natação forçada modificado: comparação entre as diferentes formas de análise utilizadas**. 2014. 30f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biomedicina) – Universidade Federal do Paraná (UFPR), 2014.

MARAIS, L. et al. 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. **Neuroscience Research**, v. 61, n. 1, p. 106-112, 2008.

MARCHETTE, R. C. N. **Avaliação temporal dos efeitos do estresse de contenção no frio sobre os comportamentos relacionados a ansiedade e depressão em duas linhagens de camundongos fêmeas, Swiss e C57BL/6J.** 2013. 82f. Dissertação (Mestrado em Farmacologia) – Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), Florianópolis, 2013.

MARCO, E.M. et al. Maternal deprivation effects on brain plasticity and recognition memory in adolescent male and female rats. **Neuropharmacology**, v.68, p.223–231. 2013.

MARCO, E. M. et al. The maternal deprivation animal model revisited. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 51, p. 151-163, 2015.

MARIEB, E. N.; HOEHN, K. **Anatomia e Fisiologia.** Artmed, 3ª edição, 2009.

MARIN, M. T.; CRUZ, F. C.; PLANETA, C. S. Chronic restraint or variable stresses differently affect the behavior, corticosterone secretion and body weight in rats. **Physiology & Behavior**, v. 90, n. 1, p. 29-35, 2007.

MARKOSTAMOU, L. et al. Maternal separation prior to neonatal hypoxia-ischemia: impact on emotional aspects of behavior and markers of synaptic plasticity in hippocampus. **International Journal of Developmental Neuroscience**, v. 52, p. 1-12, 2016.

MARKOVIC, B. et al. Long-term effects of maternal deprivation on cholinergic system in rats brain. **Biomed Research International**, ID: 636574, p. 1-7, 2014.

MARTÍNEZ-MOTA, L. et al. Estrogens participate in the antidepressant-like effect of desipramine and fluoxetine in male rats. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**, v. 88, n. 3, p. 332-340, 2008.

MATTHEWS, K.; ROBBINS, T. W. Early experience as a determinant of adult behavioural responses to reward: the effects of repeated maternal separation in the rat. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, v. 27, n. 1-2, p. 45-55, 2003.

MATTHEWS, K.; WILKINSON, L. S.; ROBBINS, T.W. Repeated maternal separation of preweanling rats attenuates behavior responses to primary and conditioned incentives in adulthood. **Physiology & Behavior**, v. 59, n. 1, p. 99-107, 1996.

MAYER, E. A. et al. Gut microbes and the brain: paradigm shift in neuroscience. **The Journal of Neuroscience**, v. 34, n. 46, p. 15490-15496, 2014.

McCARLTHY, D. J. et al. Glutamate-based depression GBD. **Medical Hypotheses**, v. 78, n. 5, p. 675-681, 2012.

McEWEN, B. S. Stress, sex, hippocampal plasticity: relevance to psychiatric disorders. **Clinical Neuroscience Research**, v. 1, p. 19-34, 2001.

McEWEN, B.S. Sex, stress and hippocampus: allostasis, allostatic load and the aging process. **Neurobiology of Aging**, v.23, n. 5, p.921-939, 2002.

MEANEY, M. J. et al. Neonatal handling alters adrenocortical negative feedback sensitivity and hippocampal type II glucocorticoid receptor binding in the rat. **Neuroendocrinology**, v. 50, n. 5, p. 597-604, 1989.

MELA, V. et al. Maternal deprivation exacerbates the response to a high fat diet in a sexually dimorphic manner. **Plos One**, v.7, n. 11, p.48915, 2012.

MELLO, A. A. F. et al. Update on stress and depression: the role of the hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis. **Revista Brasileira de Psiquiatria**, v. 25, n. 4, p. 231-238, 2003.

MEZADRI, T.J. et al. Repeated rat-forced swim test: reducing the number of animals to evaluate gradual effects of antidepressants. **Journal of neuroscience methods**, v.195, n.2, p.200–5, 2011.

MICHAELS, C. C.; HOLTZMAN, S. G. Neonatal stress and litter composition alter sucrose intake in both rat dam offspring. **Physiology & Behavior**, v. 89, n. 5, p. 735-741, 2006.

MILL, J.; PETRONIS, A. Molecular studies of major depressive disorder: the epigenetic perspective. **Molecular Psychiatry**, v.12, n. 9, p.799–814, 2007.

MILLER, D.B., O’Callaghan J.P. Neuroendocrine aspects of the response to stress. **Metabolism**, v.51, n.6, p.5-10, 2002.

MITCHELL, P. J.; REDFERN, P. H. Animal models of depressive illness: the importance of chronic drug treatment. **Current Pharmaceutical Design**, v. 11, n. 2, p. 171-203, 2005.

MOLET, J. et al. Naturalistic rodent models of chronic early-life stress. **Developmental Psychobiology**, v. 56, n. 8, p. 1675-1688, 2014.

MOLLE, R. D. **Estudo translacional sobre a qualidade do cuidado materno em resposta ao estresse neonatal, sua associação com ansiedade na vida adulta e investigação de potenciais mecanismos envolvidos**. 2011. 145f. Dissertação (Mestrado em Saúde da Criança e do Adolescente) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRS), Porto Alegre, 2011.

MOYER-MILEUR, L. J. et al. Mechanical-tactile stimulation (MTS) during neonatal stress prevents hyperinsulinemia despite stress-induced adiposity in weanling rat pups. **Early Human Development**, v. 87, n. 3, p. 159-163, 2011.

MUELLER, S. C.; GRISSOM, E. M.; DOHANICH, G. P. Assessing gonadal hormone contributions to affective psychopathologies across humans and animal models. **Psychoneuroendocrinology**, v. 46, p. 114-128, 2014.

NANINCK, E.F.; LUCASSEN, P.J.; BAKKER, J. Sex differences in adolescent depression: do sex hormones determine vulnerability? **Journal of Neuroendocrinology**, v.23, n.5, p.383–92, 2011.

NESTLER, E. J. et al. Neurobiology of depression. **Neuron**, v. 34, p. 13-25, 2002.

NESTLER, E. J.; HYMAN, S. E. Animal models of neuropsychiatric disorders. **Nature Neuroscience**, v. 13, n. 10, p. 1161- 1169, 2010.

NISHI, M. et al. Effects of early life stress on brain activity: implications from maternal separation model in rodents. **General and Comparative Endocrinology**, v. 181, p. 306-309, 2013.

NOSCHANG, C. et al. Neonatal handling affects learning, reversal learning and antioxidant enzymes activities in a sex-specific manner in rats. **International Journal of Developmental Neuroscience**, v. 30, n. 4, p. 285-291, 2012.

OHTA, K. et al. Prolonged maternal separation disturbs the serotonergic system during early brain developmental. **International Journal of Developmental Neuroscience**, v. 33, p. 15-21, 2014.

ORELAND, S. et al. Ethanol-induced effects on the dopamine and serotonin systems in adult Wistar rats are dependent on early-life experiences. **Brain Research**, v. 1405, p. 57-68, 2011.

OVERMIER, J. B.; SELIGMAN, M. E. Effects of inescapable shock upon subsequent escape and avoidance responding. **Journal of Comparative and Physiological Psychology**, v. 63, n. 1, p. 28-33, 1967.

OWN, L. S.; IQBAL, R.; PATEL, P. D. Maternal separation alters serotonergic and HPA axis gene expression independent of separation duration in c57bl/6 mice. **Brain Research**, v. 1515, p. 29-38, 2013.

PACE, T. W. et al. Increased stress-induced inflammatory responses in male patients with major depression and increased early life stress. **The American Journal of Psychiatry**, v. 163, n. 9, p. 1630-1633, 2006.

PARIANTE, C. M.; LIGHTMAN, S. L. The HPA axis in major depression: classical theories and new developments. **Trends in Neurosciences**, v. 31, n. 9, p. 464-468, 2008.

PAUTASSI, R. et al. Genetic and environmental influences on ethanol consumption: perspectives from preclinical research. **Alcoholism: Clinical and Experimental Research**, v. 34, p. 6, n. 976-987, 2010.

PORSOLT, R. D.; LE PICHON, M.; JALFRE, M. Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments. **Nature**, v. 266, n. 5604, p. 730-732, 1977.

POWER, M. L.; SCHULKIN, J. Sex differences in fat storage, fat metabolism, and the health risks from obesity: possible evolutionary origins. **British Journal of Nutrition**, v. 99, n. 5, p. 931-940, 2008.

PRADO, C. H. **As consequências dos maus-tratos na infância na programação neuroimunoendócrina em adolescentes saudáveis e modelo animal de separação materna**. 2016. 50f. Tese (Doutorado em Biologia Celular e Molecular) – Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUC-RS), Porto Alegre, 2016.

PRYCE, C. R.; BETTSCHEN, D.; FELDON, J. Comparison of the effects of early handling and early deprivation on maternal care in the rat. **Developmental Psychobiology**, v.38, p.239-251, 2001.

PRYCE, C. R.; FELDON, J. Long-term neurobehavioural impact of the postnatal environment in rats: manipulations effects and mediating mechanisms. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 27, n. 1, p. 5771, 2003.

PURALEWSKI, R.; VASILAKIS, G.; SENEY, M. L. Sex-related factors influence expression of mood-related genes in the basolateral amygdala differentially depending on age and stress exposure. **Biology of Sex Differences**, v. 7, n. 50, p. 1-16, 2016.

RANA, S. et al. Inborn stress reactivity shapes adult behavioral consequences of early-life maternal separation stress. **Neuroscience Letters**, v. 584, p. 146-150, 2015.

REMUS, J. L. et al. Interaction of metabolic stress with chronic mild stress in altering brain cytokines and sucrose preference. **Behavioral Neuroscience**, v. 129, n. 3, p. 321-330, 2015.

RENARD, G. M.; RIVAROLA, M. A.; SUÁREZ, M. M. Sexual dimorphism in rats: effects of early maternal separation and variable chronic stress on pituitary-adrenal axis and behavior. **International Journal of Developmental Neuroscience**, v. 25, n. 6, p. 373-379, 2007.

RIVAROLA, M.A.; SUÁREZ, M.M. Early maternal separation and chronic variable stress in adulthood changes the neural activity and the expression. Of glucocorticoid receptor in limbic structures. **International Journal of Developmental**, v.27, n.6, p.567-574, 2009.

ROMEO R. D. et al. Anxiety and fear in adult male and female C57BL/6 mice are modulated by maternal separation. **Hormones and Behavior**, v. 45, n. 5, p. 561-567, 2003.

ROSENBLAT, J.D. et al. Inflamed moods: a review of the interactions between inflammation and mood disorders. **Biological Psychiatry**, v.53, p.23–34, 2014.

RÜEDI-BETTSCHEN, D. et al. Early deprivation under specific conditions leads to reduced interest in reward in adulthood in Wistar rats. **Behavioral Brain Research**, v. 156, n. 2, p. 297-310, 2005.

SAPOLSKY, R. M. Stress, the aging brain, and the mechanisms of neuron death. **The New England Journal of Medicine**, Book Review, p. 329-1049, 1993.

SAPOLSKY, R. M.; MEANEY, M. J. Maturation of the adrenocortical stress response: neuroendocrine control mechanisms and the stress hyporesponsive period. **Brain Research**, v. 396, n. 1, p. 64-76, 1986.

SCHILDKRAUT, J.J. The catecholamine hypothesis of affective disorders: a review of supporting evidence. **The American Journal of Psychiatry**., v.122, n.5, p.509–22, 1965.

SCHNEIDER, T.; POPIK, P. Increased depressive-like traits in an animal model of premenstrual irritability. **Hormones and Behavior**, v. 51, n. 1, p. 142-148, 2007.

SELYE, H. A syndrome produced by diverse nocuous agents. **Nature**, v.138, n.1, p.32, 1936.

SELYE, H. The originator of the concept traces its development from the discovery in 1936 of the alarm reaction to modern therapeutic applications of syntoxic and catatoxic hormones. **American Scientist**, v. 61, n. 6, p. 692-699, 1973.

SHALEV, U.; KAFKAFI, N. Repeated maternal separation does not alter sucrose-reinforced and open-field behaviors. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**, v. 73, n. 1, p. 115-122, 2002.

SHAMSEDDEEN, W. et al. Impact of physical and sexual abuse on treatment response in the Treatment of Resistant Depression in Adolescent Study (TORDIA). **Journal of the American Academy of Child and Adolescent Psychiatry**, v.50, n. 3, p.293-301, 2011.

SHANKER, A. Is thymus redundant after adulthood? **Immunology Letters**, v. 91, n. 2-3, p. 79-86, 2004.

SHU, C. et al. Blunted behavioral and molecular responses to chronic mild stress in adult rats with experience of infancy maternal separation. **The Tohoku Journal of Experimental Medicine**, v.235, n.2, p.81-87, 2015.

SHINICHI, I. et al. Effect of maternal separation on feeding behavior of rats in later life. **Physiology & Behavior**, v. 70, n. 5, p. 551-556, 2000.

SILVEIRA, P. P. et al. Satiety assessment in neonatally handled rats. **Behavioural Brain Research**, v. 173, n. 2, p. 205-210, 2006.

SIMPSON, J.; KELLY, J. P. An investigation of whether there are sex differences in certain behavioural and neurochemical parameters in the rat. **Behavioural Brain Research**, v. 229, n. 1, p. 289-300, 2012.

SLATTERY, D. A.; MARKOU, A.; CRYAN, J. F. Evaluation of reward processes in an animal model of depression. **Psychopharmacology (Berl)**, v. 190, n. 4, p. 555-568, 2007.

SPENCER, S.J.; TILBROOK, A. The glucocorticoid contribution to obesity. **Stress**, v.495, n.14, p.233-246, 2011.

STERLEY, T. L.; HOWELLS, F. M.; RUSSELL, V. A. Effects of early life trauma are dependent on genetic predisposition: a rat study. **Behavioral and Brain Functions**, v. 7, n. 11, p. 1-14, 2011.

STERU, L. et al. The tail suspension test: a new method for screening antidepressant in mice. **Psychopharmacology (Berl)**, v. 85, n. 3, p. 367-370, 1985.

TAKAMORI, K.; YOSHIDA, S.; OKUYAMA, S. Availability of learned helplessness test as a model of depression compared to a forced swimming test in rats. **Pharmacology**, v. 63, n. 3, p. 147-153, 2001.

TOFOLI, S. M. C. **Depressão, estresse precoce, eixo hipotálamo-pituitária-adrenal e a resposta terapêutica: avaliações psicométricas e psiconeuroendócrinas**. 2012. 181f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto, 2012.

TRACTENBERG, S. G. et al. An overview of maternal separation effects on behavioural outcomes in mice: evidence from a four-stage methodological systematic review. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 68, p. 489-503, 2016.

UHART, M. et al. Gender differences in hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis reactivity. **Psychoneuroendocrinology**, v. 31, n. 5, p. 642-652, 2006.

ULRICH-LAI, L. M. et al. Chronic stress induces adrenal hyperplasia and hypertrophy in a subregion-specific manner. **American Journal of Physiology**, v. 291, n. 5, p. 965-973, 2006.

ULRICH-LAI, L. M.; HERMAN, J. P. Neural regulation of endocrine and autonomic stress responses. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 10, n. 6, p. 397-409, 2009.

VARGAS, J. et al. Early life stress increases metabolic risk, HPA axis reactivity, and depressive-like behavior when combined with postweaning social isolation in rats. **Plos One**, v. 11, n.9, p. 1-21, 2016.

VETULANI, J. Early maternal separation: a rodent model of depression and a prevailing human condition. **Pharmacological Reports**, v. 65, n. 6, p. 1451-1461, 2013.

VILELA, M. G.; SANTOS JÚNIOR, J. L.; SILVA, J. G. C. Determinação do ciclo estral em ratas por lavado vaginal. **Femina**, v. 35, n. 10, p. 667-670, 2007.

VIVEROS, M.P. et al. Maternal deprivation induces a rapid decline in circulating leptin levels and sexually dimorphic modifications in hypothalamic trophic factors and cell turnover. **Hormones and Behavior**, v.57, p.405–414, 2010.

WALLEN, W.J., BELANGER, M.P., WITTNICH, C. Sex hormones and the selective estrogen receptor modulator tamoxifen modulate weekly body weights and food intakes in adolescent and adult rats. **Journal of Nutrition**, v.131, n. 9, p.2351–2357, 2001.

WEAVER, I. C. G. et al. Epigenetic programming by maternal behavior. **Nature Neuroscience**, v. 7, n. 8, p. 847-854, 2004.

WHO – World Health Organization. **Global burden of mental disorders and the need for a comprehensive, coordinated response from health and social sectors at the country level**. Geneva, 2012.

WIERSMA, J.E. et al. The importance of childhood trauma and childhood life events for chronicity of depression in adults. **The Journal of Clinical Psychiatry**, v.70, n. 7, p.983-989, 2009.

WIGGER, A.; NEUMANN, I.D. Periodic maternal deprivation induces gender-dependent alterations in behavioral and neuroendocrine responses to emotional stress in adult rats. **Physiology & Behavior**, v.66, p.293–302, 1999.

WILLNER, P. et al. Reduction of sucralose preference by chronic unpredictable mild stress, and its restoration by a tricyclic antidepressant. **Psychopharmacology (Berl)**, v. 93, n. 3, p. 358-364, 1987.

WILLNER, P. Chronic mild stress (CMS) revisited: Consistency and behavioral-neurobiological concordance in the effects of CMS. **Neuropsychobiology**, v.52, n. 2, p.90-110, 2005.

WONG, P. et al. Early life environmental and pharmacological stressors result in persistent dysregulations of the serotonergic system. **Frontiers in Behavioral Neuroscience**, v. 9, p. 1-13, 2015.

XUE, X. et al. Maternal separation induces alterations of serotonergic system in different aged rats. **Brain Research Bulletin**, v.95, p.15–20, 2013.

YANG, L. et al. The essential role of hippocampal alpha6 subunit-containing GABAA receptors in maternal separation stress-induced adolescent depressive behaviors. **Behavioural Brain Research**, v. 313, p. 135-143, 2016.

YOO, S. B. et al. Adolescence fluoxetine increases serotonergic activity in the raphe-hippocampus axis and improves depression-like behaviors in female rats that experienced neonatal maternal separation. **Psychoneuroendocrinology**, v. 38, n. 6, p. 777-788, 2013.

ZAMBERLETTI, E. et al. Gender dependent behavioral and biochemical effects of adolescent delta-9-tetrahydrocannabinol in adult maternally deprived rats. **Neuroscience**, v.204, p.245-257, 2012.

ZIMMERBERG, B.; SAGESER, K. A. Comparison of two rodent models of maternal separation on juvenile social behavior. **Frontiers in Psychiatry**, v. 2, n. 39, p. 1-10, 2011.

ZIMMERBERG, B.; SHARTRAND, A. M. Temperature-dependent effects of maternal separation on growth, activity, and amphetamine sensitivity in the rat. **Developmental Psychobiology**, v. 25, n. 3, p. 213-226, 1992.

Anexo – Parecer da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA)



Anápolis, 16 de Novembro de 2015.

PARECER CONSUBSTANCIADO REFERENTE AO ATENDIMENTO DE PENDÊNCIA DO PROTOCOLO Nº. 004/2015

I - Identificação:

1. **Título do projeto:** Alterações endócrinas, comportamentais e neurais em ratos expostos ao estresse neonatal: influência do gênero e da idade
2. **Pesquisador Responsável:** Vanessa Cristiane de Santana Amaral
3. **Unidade/Orgão do pesquisador:** Ciências Exatas e Tecnológicas (CCET)
4. **Pesquisadores Participantes:** Marcelo Tadeu Marin-Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (UNESP); Michelle Ribeiro Silva-UEG-CCET; Patrícia Paula da Silva Xavier-UEG-CCET;
5. **Unidade onde será realizado o projeto:** Laboratório de Farmacologia e Toxicologia de Produtos Naturais e Sintéticos, localizado no Campus de Ciências Exatas e Tecnológicas (CCET) da Universidade Estadual de Goiás.
6. **Data de apresentação a CEUA:** 15/07/2015
7. **Data de Atendimento das Pendências:** 08/10/2015

II - Parecer da CEUA:

Informamos que a *Comissão de Ética no Uso de Animais/CEUA* da Universidade Estadual de Goiás, após análise das adequações solicitadas, considerou **APROVADO**, o projeto acima referido, o qual foi considerado em acordo com os princípios éticos vigentes, smj dessa Comissão.

O pesquisador responsável deverá encaminhar à CEUA/UEG, relatórios da pesquisa, encerramento, conclusão(ões) e publicação(ões) após sua conclusão. Reiteramos a importância deste Parecer Substantiado, e lembramos que o(a) pesquisador(a) responsável deverá encaminhar à CEUA-PrP-UEG o Relatório Final baseado na conclusão do estudo e na incidência de publicações decorrentes deste, de acordo com o disposto na Lei nº. 11.794 de 08/10/2008, e Resolução Normativa nº. 01, de 09/07/2010 do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal-CONCEA. O prazo para entrega do Relatório é de até 30 dias após o encerramento da pesquisa, prevista para conclusão em **MARÇO/2018**.

VI - Data da reunião:

Reunião realizada no dia: 16/11/2015

Prof. Dr. Walter Dias Júnior
Coordenador da CEUA/UEG