

Efeitos do Estresse Subcrônico Imprevisível no comportamento e na memória de camundongos alto e baixo exploradores.

Kazlauckas V¹, Nunes F¹, Kalinine E¹, Espinosa J², Mioranza S¹, Leke R^{1,3}, Porciúncula LO¹, Portela LV¹, Lara DR³.
¹ Departamento de Bioquímica, UFRGS; ² Pós-Graduação em Neurociências, UFRGS; ³ Faculdade de Biociências, PUCRS.

INTRODUÇÃO E OBJETIVOS

Os eventos estressantes podem afetar os processos de aprendizagem e memória e variam muito entre os indivíduos. Este tipo de experiência libera hormônios do estresse que atingem diretamente as áreas do cérebro envolvidas na aprendizagem tendo como principal, o hipocampo. Considerando que o estresse crônico seja um fator de risco para o desenvolvimento de muitas doenças psicopatológicas, incluindo depressão, nós pensamos em investigar o efeito do estresse subcrônico imprevisível (ESCI) em camundongos comportamentalmente selecionados, através do teste de campo aberto (CA) e analisamos os efeitos do comportamento na tarefa de campo aberto e nas tarefas de memória: labirinto em Y e reconhecimento de objetos (NOR). Para descartarmos a presença de sintomas de depressão realizamos o teste de suspensão pela cauda e consumo de sacarose. Também foram analisados os níveis séricos de corticosterona, o peso da glândula adrenal e os níveis hipocámpais de BDNF.

MATERIAIS DE MÉTODOS

➤ Seleção comportamental de camundongos altos e baixos exploradores

Oitenta camundongos foram divididos em baixo (LE) e alto exploradores (HE), de acordo com seu comportamento exploratório na área central do campo aberto (OF). Este teste foi usado para separar as duas diferentes populações, dependendo da resposta a um objeto central em um ambiente novo (Kazlauckas V, 2005). Para isso, o animal foi colocado em um campo aberto (50 cm x 50 cm x 50 cm) com um objeto (um cilindro branco) colocado no centro da arena para estimular a exploração. O comportamento exploratório foi gravado por 5 minutos e o tempo gasto pelo animal dentro e fora de um quadrado central imaginário de 30 cm x 30 cm foram analisados utilizando o software ANYmaze (Stoelting, Woods Dale). De uma triagem de oitenta camundongos, 25 % extremos em relação ao padrão exploratórios foram utilizados para compor os baixo exploradores (LE) e alto exploradores (HE). Os camundongos, LE e HE foram randomicamente subdivididos em dois subgrupos, o grupo de LE e HE submetidos a estresse subcrônico imprevisível (ESCI), LE_{ESCI} e HE_{ESCI}, e seus respectivos controles, LE_{controle} e HE_{controle}. Todos os animais permaneceram em suas caixas até o final de testes comportamentais.

Campo Aberto após a ESCI

A tarefa do campo aberto com um objeto central foi realizada novamente, como já descrito acima, para avaliar se o protocolo de ESCI provocou algum efeito no comportamento exploratório e na locomoção destes animais.

➤ Protocolo Experimental ESCI

O Estresse Imprevisível subcrônico foi modificado a partir de outros modelos de estresse variável (P Willner, 1987; Ducottet C, 2004) foram utilizados: (a) a inclinação das caixas em um ângulo de 45 para 14 hs, (b) 2hs de contenção do tubo (c), natação forçada durante 3 minutos a 15°C, (d) isolamento social (3 dias), (e) a iluminação *overnight*, (f) maravalha úmida durante a noite, (g) 0,6 mA de choque intermitente durante 3 minutos (h) Privação de água e comida seguida por acesso a garrafa de água vazia durante 2hs e, em seguida, com água *ad libitum*. Os animais foram expostos a um único estressor por dia, em horários diferente a cada dia, durante 15 dias. Posteriormente foram realizados os testes comportamentais e as amostras foram analisadas.

ANÁLISE ESTATÍSTICA

Com exceção do teste de Reconhecimento de Objetos, no qual foi utilizado ANOVA de três vias com testes, grupos e tratamento como variáveis independentes seguido de Bonferroni post hoc, todos os outros testes foram analisados com ANOVA de duas vias (grupos x tratamentos) seguido de Bonferroni post hoc. Efeito significativo foi considerado quando $P < 0,05$.

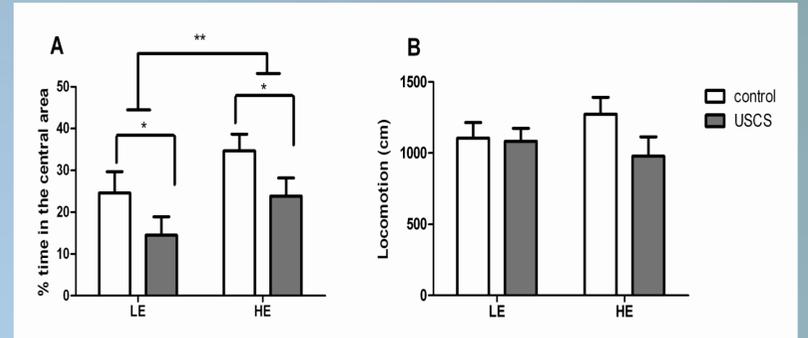
DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

Neste estudo, ESCI reduziu o tempo de exploração central em ambos os grupos mas os camundongos alto exploradores mantiveram seu padrão de exploração elevado quando comparados aos baixo exploradores. Além disto, o grupo HE_{ESCI} teve um aumento significativo no peso da glândula adrenal e nos níveis de corticosterona quando comparado com seu controle. O grupo LE_{ESCI} teve desempenho prejudicado na tarefa de NOR e o grupo HE_{ESCI} teve tendência a explorar mais o braço novo do labirinto em Y. Os grupos não foram diferentes nos testes de suspensão pela cauda e consumo de sacarose, portanto os resultados obtidos se devem puramente ao efeito do protocolo de ESCI que simulou uma situação de estresse, sem indução de depressão.

As diferenças comportamentais e bioquímicas encontradas entre LE e HE controles e submetidos ao protocolo de ESCI reforçam a noção de que traços comportamentais exercem uma importante influência sobre as respostas cognitivas e bioquímicas ao estresse. Portanto, é importante levar em consideração essas diferenças individuais, a fim de obter uma melhor compreensão da neurobiologia do comportamento sob condições normais e patológicas

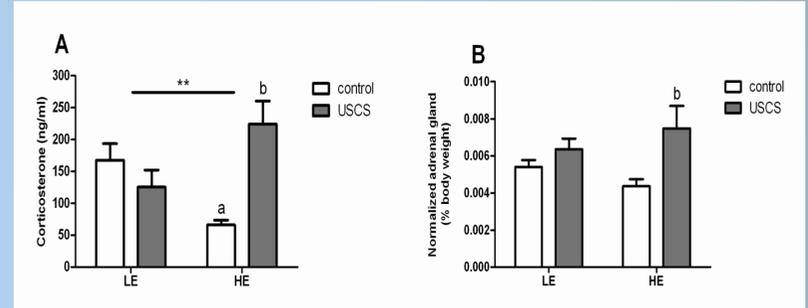
RESULTADOS

• Campo Aberto após ESCI



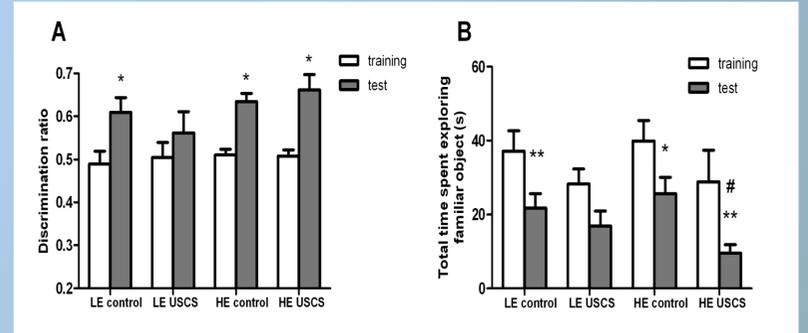
Atividade exploratória e locomotora no Campo Aberto após o ESCI. Camundongos LE e HE, controle e ESCI, foram submetidos ao campo aberto com um objeto central, e o tempo gasto na área central (A) e a atividade locomotora (B) foram de cinco minutos.

• Níveis séricos de corticosterona e Peso da Glândula Adrenal



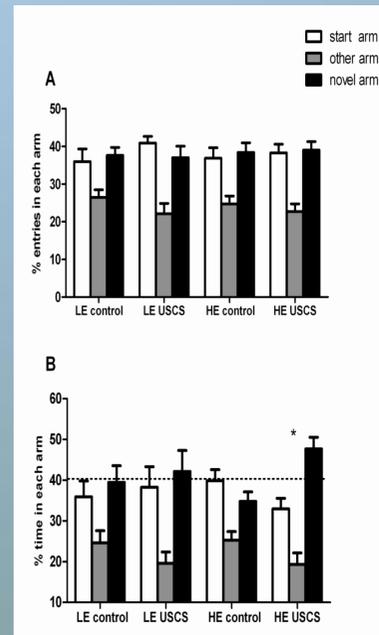
Níveis séricos de corticosterona (A) e o peso da glândula adrenal (B) para os camundongos LE e HE, controle e ESCI.

• Reconhecimento de Objetos



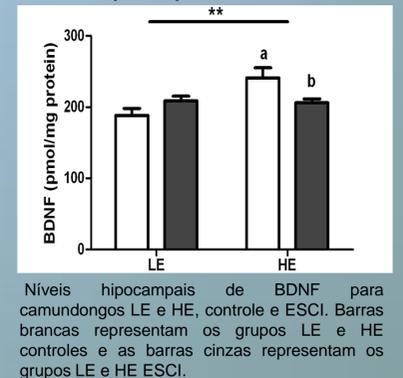
Teste de reconhecimento de objetos. LE e HE, controle e ESCI foram avaliados para: (A) discriminação ratio para as sessões de treino e teste (B) tempo total de exploração do objeto familiar durante o treino e o teste.

• Labirinto em Y



Teste de Labirinto em Y. (A) Porcentagem do número de entradas nos braços (B) Porcentagem do número de entradas em cada braço durante o teste 2h após o treino.

• Níveis Hipocámpais de BDNF



Níveis hipocámpais de BDNF para camundongos LE e HE, controle e ESCI. Barras brancas representam os grupos LE e HE controles e as barras cinzas representam os grupos LE e HE ESCI.