

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALFENAS

JOSIANE COSTA DE SÁ

**DÉFICITS DE MEMÓRIA NA PROLE DECORRENTES DO TRANSTORNO
DO ESTRESSE PÓS-TRAUMÁTICO PERINATAL E POSSÍVEIS
IMPLICAÇÕES NEUROGÊNICAS**

Alfenas/MG

2021

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALFENAS

JOSIANE COSTA DE SÁ

**DÉFICITS DE MEMÓRIA NA PROLE DECORRENTES DO TRANSTORNO
DO ESTRESSE PÓS-TRAUMÁTICO PERINATAL E POSSÍVEIS
IMPLICAÇÕES NEUROGÊNICAS**

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestra em Biociências Aplicadas à Saúde pela Universidade Federal de Alfenas. Área de concentração: Neurociências e Comportamento.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Fabiana Cardoso Vilela Giusti

Alfenas/MG

2021

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal de Alfenas
Biblioteca Central – Campus Sede

Sá, Josiane Costa de
S111d Déficit de memória na prole decorrentes do transtorno do estresse pós-traumático perinatal e possíveis implicações neurogênicas. / Josiane Costa de Sá.
– Alfenas, MG, 2021.
110 f.: il. –

Orientadora: Fabiana Cardoso Vilela Giusti.
Dissertação (Mestrado em Biociências Aplicadas à Saúde) – Universidade Federal de Alfenas, 2021.
Bibliografia.

1. Prole. 2. Neuroplasticidade. 3. Cognição. 4. Trauma. 5. Gestação. I. Giusti, Fabiana Cardoso Vilela. II. Título.

CDD- 616

Josiane Costa de Sá

DÉFICITS DE MEMÓRIA NA PROLE DECORRENTES DO TRANSTORNO DO ESTRESSE PÓS-TRAUMÁTICO PERINATAL E
POSSÍVEIS IMPLICAÇÕES NEUROGÊNICAS

A Banca examinadora abaixo-assinada aprova a Dissertação apresentada como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Biociências Aplicadas à Saúde pela Universidade Federal de Alfenas. Área de concentração: Neurociências e Comportamento

Aprovada em: 25 de maio de 2021

Profa. Dra. Fabiana Cardoso Vilela Giusti
Instituição: Universidade federal de Alfenas.
UNIFAL-MG

Profa. Dra. Maria Martha Bernardi
Instituição: Universidade Paulista
UNIP

Prof. Dr. Fábio Fagundes da Rocha
Instituição: Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
UFRRJ



Documento assinado eletronicamente por **Fabiana Cardoso Vilela Giusti, Usuário Externo**, em 25/05/2021, às 11:59, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Fábio Fagundes da Rocha, Usuário Externo**, em 25/05/2021, às 11:59, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Maria Martha Bernardi, Usuário Externo**, em 25/05/2021, às 12:03, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.unifal-mg.edu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **0506708** e o código CRC **9F77B0A3**.

Dedico a finalização desse trabalho a Deus, à minha mãe Maria, aos meus irmãos Wellington e Paula, ao meu marido Ronaldo e à minha filha Júlia

AGRADECIMENTOS

Com imenso prazer agradeço a todos que, de alguma forma, contribuíram para o desenvolvimento deste trabalho.

Primeiramente, agradeço a Deus, por iluminar os meus caminhos e me abençoar a cada dia em todas as situações da minha vida, sem ele nada seria possível. À minha mãe Maria, exemplo de mulher bondosa que me ensina a cada dia ser uma pessoa melhor, por todo seu carinho e amor incondicional.

À minha orientadora, a professora Fabiana Cardoso Vilela Giusti, pela amizade, paciência, dedicação, oportunidade, ensinamentos e por ser um exemplo de profissional. A jornada muitas vezes se torna mais fácil quando temos alguém para nos encorajar e que confie em nosso trabalho.

Ao professor Alexandre Giusti-Paiva, pela confiança, ensinamentos e colaboração na realização deste trabalho.

Ao meu irmão Wellington e minha cunhada Cintia, por todo carinho e por terem me dado um grande presente, minha afilhada Eduarda, uma menina linda e educada que me alegra com apenas um sorriso. À minha irmã e afilhada Paula, por todos os momentos que passamos juntas, e por todo seu carinho e amor.

Ao meu marido Ronaldo, por estar sempre ao meu lado, pelo seu amor, carinho, paciência e compreensão, mesmo em momentos difíceis. À minha filha Júlia, melhor presente que recebi em toda minha vida, ouvi-la dizer “eu te amo” não tem preço.

A todos os meus amigos do Laboratório, por todos os momentos que passamos juntos, momentos de alegrias, com festas, comemorações e risadas; e, também, por estarem ali presentes em momentos difíceis; pelos ensinamentos, troca de conhecimentos e pelo auxílio.

À Letícia, por todo o carinho e amizade e, aos meus amigos de Alfenas, por todos os momentos vividos juntos.

A todos os meus amigos de Belo Horizonte e familiares, pois mesmo distantes me incentivaram e demonstraram todo seu carinho e amor.

Aos funcionários do Laboratório, José Reis e Vanderleia por todo o carinho e zelo com nossos experimentos.

À secretária do Programa de Pós-graduação em Biociências Aplicadas à Saúde, Adriana, pela atenção e pelo auxílio.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) pelo apoio financeiro.

À Universidade Federal de Alfenas (Unifal-MG) pela oportunidade de fazer parte da sua história; e, a todo seu corpo docente, pela qualidade de ensino, pelos conhecimentos transmitidos e pelas contribuições para meu trabalho.

E a todos que, de alguma forma, fizeram parte dessa conquista, e que não foram mencionados, meus sinceros agradecimentos.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

RESUMO

O estresse gestacional pode ser, extremamente, prejudicial à mãe e ao descendente, o que indica que o ambiente intrauterino tem um impacto significativo a longo prazo, na vida do indivíduo. Dessa forma, esse estresse no início da vida pode causar doenças, como depressão e ansiedade na adolescência e idade adulta, além de prejuízos na função cognitiva. Há vários tipos de estresse e, nem sempre, as situações estressantes irão desencadear o Transtorno de Estresse Pós-traumático (TEPT). Os modelos animais para o TEPT são diversos e, na literatura, não há estudos que avaliem um modelo animal do TEPT durante o período perinatal e seus prejuízos cognitivos gerados na prole. Diante disso, a proposta do presente estudo é investigar os mecanismos neurogênicos associados às alterações na aprendizagem e memória da prole, decorrentes do TEPT gestacional, uma vez que já é bem estabelecida a relação entre neurogênese hipocampal e função cognitiva. Para isso, foram utilizadas ratas *Wistar* prenhas, as quais foram induzidas ao TEPT por choque na pata, seguido de isolamento social. Foram avaliadas as progenitoras no comportamento materno, comportamento de congelamento e teste de Campo Aberto. Os testes realizados nos filhotes, fêmeas e machos, foram: Desenvolvimento Físico e Reflexo, Campo aberto, Reconhecimento de Objetos e Labirinto Aquático de Morris. As análises estatísticas foram realizadas utilizando um *software GraphPad* versão 8.0. Todos os procedimentos experimentais foram aprovados pela Comissão de Ética em Experimentação Animal da Universidade Federal de Alfenas (Unifal-MG), protocolo n° 50/2018. Nossos resultados indicaram que as ratas progenitoras do grupo choque apresentaram redução do cuidado materno, retenção da memória ao trauma e comportamento tipo ansioso. Os filhotes machos, mas não as fêmeas apresentaram maior tempo para produzir o reflexo de geotaxia negativa, hiperatividade exploratória e prejuízos da memória de reconhecimento de objetos de 2 horas. Já no teste de reconhecimento de objetos de 24 horas e o Labirinto Aquático de Morris, os machos e fêmeas apresentaram prejuízos em ambos. Identificamos e quantificamos algumas proteínas envolvidas no processo de memória, tais como: Fator Neutrófico Cerebral (BDNF), *Doublecortin* (DCX) e Sinaptofisina no Hipocampo pela técnica de *Western Blotting*. Para os filhotes fêmeas não houve diferenças entre os grupos, já os filhotes machos, de mães estressadas, apresentaram redução dos fatores BDNF e DCX. Com base nos resultados obtidos, conclui-se que o TEPT gestacional pode gerar prejuízos

cognitivos para a prole, sendo possível estar associados a mecanismos neurogênicos; no entanto, outros mecanismos não avaliados podem ser responsáveis pela perda de cognição, principalmente, nos filhotes fêmeas.

Palavras-chave: Prole; Neuroplasticidade; Cognição; Trauma; Gestação.

ABSTRACT

The pregnancy stress can be extremely harmful to both mother and offspring, indicating that the intrauterine environment has a significant long-term impact on the individual's life. In front of, this stress in early life can cause pathologies such as depression and anxiety in adolescence and adulthood, as well as damage to cognitive function. There are several types of stress, and stressful situations will not always trigger post-traumatic stress disorder (PTSD). The animal models for PTSD are diverse and, in the literature, there are no studies that evaluate an animal model of PTSD during the perinatal period and its cognitive impairment in the offspring. Thus, the purpose of this study is to investigate the neurogenic mechanisms associated with alterations in learning and memory in the offspring resulting from pregnancy PTSD, since the relationship between hippocampal neurogenesis and cognitive function is already well established. For this purpose, pregnant Wistar rats were used, which were induced to PTSD by paw shock, followed by social isolation. The dams were evaluated in maternal behavior, freezing behavior, and the Open Field test. The tests performed on female and male pups were: Physical Development and Reflex, Open Field, Object Recognition, and Morris Water Maze. Statistical analyses were performed using GraphPad software version 8.0. All experimental procedures were approved by the Ethics Committee on Animal Experimentation of the Federal University of Alfenas (Unifal-MG), protocol n° 50/2018. Our results indicated that the dams rats of the shock group presented reduced maternal care, memory retention to trauma and anxious-like behavior. The male pups, but not the females, showed longer time to produce the negative geotaxis reflex, exploratory hyperactivity, and 2-hour object recognition memory impairment. In the 24-hour object recognition test and the Morris Water Maze, males and females showed impairments in both. We identified and quantified some proteins involved in the memory process, such as Brain-derived Neurotrophic Factor (BDNF), Doublecortin (DCX) and Synaptophysin in the hippocampus by Western Blotting. For female pups there were no differences between the groups, while male pups from stressed mothers showed a reduction in BDNF and DCX. Based on the results obtained, we conclude that gestational PTSD can generate cognitive impairment for the offspring, being possibly associated with neurogenic mechanisms; however, other mechanisms not evaluated may be responsible for cognition loss, especially in female offspring.

Keywords: Offspring; Neuroplasticity; Cognition; Trauma; Pregnancy.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - A ativação do eixo hipotálamo-pituitária-adrenal (HPA) pelo estresse.....	5
Figura 2 - Regulação mediada por BDNF de sinapses excitatórias durante o início da LTP.....	15
Figura 3 - Representação temporal dos testes realizados nas ratas com/ou sem indução do transtorno do estresse pós-traumático	17
Figura 4 - Representação temporal dos testes realizados na prole de ratas com/ou sem indução do transtorno do estresse pós-traumático.....	18
Figura 5 - Efeitos do TEPT gestacional no tempo de congelamento após reexposição a caixa indutora de choque das ratas progenitoras dos grupos não choque (n=10) e choque (n=10)	47
Figura 6 - Efeitos do TEPT gestacional no ganho de peso das ratas (A) nos períodos gestacional e (B) na lactação dos grupos não choque (n=10) e choque (n=10)	48
Figura 7 - Efeitos do TEPT gestacional no comportamento materno total das ratas progenitoras dos grupos não choque (n=10) e choque (n=10)	49
Figura 8 - Efeitos do TEPT gestacional no comportamento das lactantes para com a prole dos grupos não choque (n=10) e choque (n=10) incluindo os comportamentos não maternos (esquerda) e maternos (direita)	50
Figura 9 - Efeitos do TEPT gestacional na locomoção e comportamento tipo ansioso dos grupos não choque (n=10) e choque (n=10)	51
Figura 10 – Figura 10: Efeitos do TEPT gestacional no número de filhotes vivos e mortos. Grupo não choque (n=10) e grupo choque (n=14).....	52
Figura 11 - Efeitos do TEPT gestacional no ganho de peso da ninhada no período de lactação dos grupos de mães não choque (n=10) e choque (n=10)	52
Figura 12 - Efeitos do TEPT gestacional no ganho de peso dos filhotes (A) fêmea e (B) Macho a partir do desmame (dia 22 pós-parto) dos grupos de mães não choque (n=30) e choque (n=30)	54
Figura 13 - Efeitos do TEPT gestacional no desenvolvimento físico e reflexo dos filhotes fêmeas de mães não choque (n=10) e filhotes fêmea de mães choque (n=10).....	55

Figura 14 - Efeitos do TEPT gestacional no desenvolvimento físico e reflexo dos filhotes machos de mães não choque (n=10) e filhotes machos de mães choque (n=10)	56
Figura 15 - Efeitos do TEPT gestacional na locomoção dos filhotes fêmeas de mães dos grupos não choque (n=10) e choque (n=10)	57
Figura 16 - Efeitos do TEPT gestacional na locomoção dos filhotes machos de mães dos grupos não choque (n=10) e choque (n=10)	58
Figura 17 - Efeitos do TEPT gestacional na da memória de reconhecimento de objetos de 2 horas dos filhotes fêmeas de mães do grupo choque (n=10) e filhotes fêmeas de mães do grupo não choque (n=10)	60
Figura 18 - Efeitos do TEPT gestacional na da memória de reconhecimento de objetos de 2 horas dos filhotes machos de mães do grupo choque (n=10) e filhotes fêmeas de mães do grupo não choque (n=10)	61
Figura 19 - Efeitos do TEPT gestacional na da memória de reconhecimento de objetos de 24 horas dos filhotes fêmeas de mães do grupo choque (n=10) e filhotes fêmeas de mães do grupo não choque (n=10)	62
Figura 20 - Efeitos do TEPT gestacional na da memória de reconhecimento de objetos de 24 horas dos filhotes machos de mães dos grupos choque (n=10) e não choque (n=10)	63
Figura 21 - Efeitos do TEPT gestacional na aprendizagem espacial no teste do labirinto de Morris (A) dos filhotes fêmeas e em (B) dos filhotes machos de mães dos grupos choque (n=10) e não choque (n=10)	64
Figura 22 - Efeitos do TEPT gestacional na memória espacial no teste do labirinto de Morris dos filhotes fêmeas de mães dos grupos choque (n=10) e não choque (n=10)	65
Figura 23 - Efeitos do TEPT gestacional na memória espacial no teste do labirinto de Morris dos filhotes machos de mães dos grupos choque (n=10) e não choque (n=10)	65
Figura 24 - Figura 24: Efeitos do TEPT na expressão de proteínas BDNF/actina dos filhotes. Grupos de filhotes das progenitoras choque (n=6) e não choque (n=5).	66
Figura 25 - Efeitos do TEPT na expressão de proteínas DCX/actina dos filhotes. Grupos de filhotes das progenitoras choque (n=6) e não choque (n=5).....	67
Figura 26 - Efeitos do TEPT na expressão de proteínas Sinaptofisina/actina dos filhotes.	

Grupos de filhotes das progenitoras choque (n=6) e não choque (n=5)....	68
Figura 27 - Correlação entre índice de reconhecimento de objetos e % de BDNF/ actina.....	70
Figura 28 - Correlação entre índice de reconhecimento de objetos e % de DCX/ actina.....	71
Figura 29 - Correlação entre índice de reconhecimento de objetos e % de Sinaptofisina/actina.....	72

LISTA DE FOTOGRAFIAS

Fotografia 1 - Reexposição da rata a caixa de choque no DPP2.....	38
Fotografia 2- Padronização das ninhadas em 4 fêmeas e 4 machos.....	39
Fotografia 3- Observação do comportamento das mães. Comportamento não maternal em (A) sem filhotes não explorando; (B) Filhotes em ninhada sozinhos; Comportamentos maternos em (C) posição de cifose; (D) Posição passiva; (E) Lambendo os filhotes.....	40
Fotografia 4- Filhotes no DPP 3. Fêmea a esquerda e macho a direita.....	41
Fotografia 5- Desenvolvimento físico. Em (A) aparecimento dos incisivos inferiores e (B) presença dos pelos.....	42
Fotografia 6- Teste de geotaxia negativa	43
Fotografia 7- Teste de reconhecimento de objetos (memória de 2 horas)	44
Fotografia 8- Filhote em treinamento para o labirinto aquático de Morris.....	45

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Prevalência de mães que perderam filhotes, atrasaram ou adiantaram o parto	52
Tabela 2 - Resultados para os testes de memória e quantificação de proteínas através da análise TWO-WAY ANOVA	58
Tabela 3 - Resumo dos resultados obtidos no estudo	74
Tabela 4 - Efeitos do estresse gestacional nas proteínas cerebrais e testes de memórias dos filhotes	78

LISTA DE ABREVIACOES E SIGLAS

ACTH	Hormônio Adrenocorticotrófico
AVP	Arginina Vasopressina
BNDF	Fator Neutrófico Cerebral
CRH	Corticotropina
DCX	Doublecortin
DG	Dia Gestacional
DPP	Dia Pós-parto
DSM-5	Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais – 5ª edição
GR	Receptor Glicocorticoide
HPA	Eixo Hipotálamo-Pituitária-Adrenal
LTP	Latenciação de Longo Prazo
MR	Receptor Mineralocorticoide
ROS	Espécies Reativas de Oxignio Intracelular (ROS)
PBS	Tampão fosfato-salino
PVN	Núcleo Paraventricular
TDAH	Transtorno de Déficit de Atenção e Hiperatividade
TEPT	Transtorno do Estresse Pós-Traumático
TrKB	Receptor de Tirosina Quinase B
Ki67	Marcador Endógeno de Proliferação Celular

LISTA DE SÍMBOLOS

® Marca Registrada

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	19
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	21
2.1	ESTRESSE.....	21
2.2	TRANSTORNO DO ESTRESSE PÓS-TRAUMÁTICO (TEPT).....	23
2.2.1	Aspectos históricos do TEPT	23
2.2.2	Apresentação clínica do TEPT	24
2.3	TEPT E GESTAÇÃO.....	26
2.4	ESTRESSE GESTACIONAL E TRANSTORNOS PSIQUIÁTRICOS	27
2.5	ESTRESSE GESTACIONAL E CONSEQUÊNCIAS NA COGNIÇÃO PARA A PROLE.....	28
3	JUSTIFICATIVA	33
4	OBJETIVOS	34
4.1	OBJETIVO GERAL.....	34
4.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	334
5	MATERIAL E MÉTODOS	35
5.1	DELINEAMENTO EXPERIMENTAL.....	35
5.2	GRUPOS EXPERIMENTAIS.....	35
5.3	PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS.....	36
5.3.1	Acasalamento e confirmação da prenhez	37
5.3.2	Indução do Transtorno do estresse pós traumático (TEPT)	38
5.3.3	Padronização da ninhada	38
5.3.4	Acompanhamento do ganho de peso das progenitoras e dos filhotes	39
5.3.5	Avaliação dos cuidados maternos	39
5.3.6	Teste de campo aberto com as progenitoras	40
5.3.7	Desenvolvimento físico e de reflexos dos filhotes	40
5.3.8	Teste de campo aberto dos filhotes	43

5.3.9	Teste de reconhecimento de objetos dos filhotes.....	43
5.3.10	Labirinto aquático de Morris dos filhotes.....	44
5.3.11	Western blotting.....	45
6	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	47
7	RESULTADOS.....	47
7.1	PROCEDIMENTOS E TESTES REALIZADOS NAS RATAS PROGENITORAS.....	47
7.1.1	Tempo de congelamento.....	47
7.1.2	Avaliação do ganho de peso durante o período gestacional e de lactação.....	48
7.1.3	Comportamento materno.....	49
7.1.4	Locomoção e comportamento tipo ansioso no teste de campo aberto.....	50
7.2	TESTES E PROCEDIMENTOS REALIZADOS NA PROLE (FÊMEA E MACHO).....	51
7.2.1	Ninhadas no dia 1 e 2 pós-parto (DPP1-2).....	51
7.2.2	Ganho de peso da ninhada (DPP 4-19) e dos filhotes (pós desmame).....	52
7.2.3	Desenvolvimento físico e reflexo dos filhotes.....	54
7.2.4	Locomoção no teste de Campo Aberto.....	56
7.2.5	Memória de Reconhecimento de objetos.....	58
7.2.6	Aprendizagem e memória espacial no teste de labirinto de Morris.....	63
8	DISCUSSÃO.....	75
8.1	PROCEDIMENTOS E TESTES REALIZADOS NAS RATAS PROGENITORAS.....	77
8.1.1	Tempo de congelamento.....	78
8.1.2	Ganho de peso durante o período gestacional e de lactação.....	78
8.1.3	Comportamento materno.....	80
8.1.4	Locomoção e comportamento tipo ansioso no teste de campo aberto.....	81

8.2	TESTES E PROCEDIMENTOS REALIZADOS NA PROLE (FÊMEA E MACHO).....	83
8.2.1	Ninhadas no dia 1 e 2 pós-parto (DPP1-2).....	82
8.2.2	Ganho de peso da ninhada (DPP4-19) e dos filhotes (pós desmame).....	83
8.2.3	Desenvolvimento físico e reflexo dos filhotes.....	84
8.2.4	Locomoção no teste de Campo Aberto.....	85
8.2.5	Memória de Reconhecimento de objetos.....	86
8.2.6	Aprendizagem e memória espacial no teste de labirinto de Morris.....	87
8.2.7	Expressão das proteínas BDNF, DCX e Sinaptofisina pela técnica de <i>Western Blotting</i>	91
9	CONCLUSÃO.....	94
	REFERÊNCIAS.....	95

1 INTRODUÇÃO

O estresse, durante os períodos pré-natal e pós-natal, período perinatal, está fortemente associado a transtornos do humor, tais como depressão e ansiedade, na adolescência e na idade adulta dos descendentes (CHAPMAN *et al.*, 2004; DUNN *et al.*, 2013; HUGHES *et al.*, 2017; KESSLER *et al.*, 2010). Além disso, a exposição ao estresse no período perinatal, também, pode desencadear inúmeros efeitos sobre a função cognitiva e sobre a neuroplasticidade dos descendentes, uma vez que o período perinatal é fundamental para o desenvolvimento do sistema nervoso central (VAN DEN BERGH, DAHNKE; MENNES, 2018).

Assim, exposição a eventos ambientais estressantes, no período mencionado anteriormente, pode afetar a plasticidade neural e aumentar a vulnerabilidade às psicopatologias, causando alterações neuroendócrinas associadas a mudanças no comportamento cognitivo e emocional; essas alterações podem aparecer no início da vida e persistir ao longo dela (CAO *et al.*, 2014; FRAU *et al.*, 2019; KNAFO; JAFFEE, 2013). Isso porque, desde o período pré-natal e, até mesmo, no início da vida pós-natal, o cérebro ainda está em desenvolvimento, e é altamente sensível à influência de experiências externas, sejam elas positivas e negativas (de CAMPO *et al.*, 2017; MARCO *et al.*, 2015).

Existem estudos os quais demonstram que o estresse, no período perinatal, afeta não apenas a mãe, mas, também, o desenvolvimento dos seus descendentes, podendo levar a efeitos duradouros; esses efeitos contribuem para ocorrência precoce de muitas condições patológicas (WARD *et al.*, 2013).

Embora existam tais estudos, pouco se aborda sobre a relação de estresse perinatal e déficits cognitivos, avaliados em fase precoce. Sendo assim, faz-se necessário estudar a influência do estresse perinatal, na aprendizagem e memória em modelos animais na idade pré-púbere e os possíveis mecanismos envolvidos em tais alterações.

Outro fator a ser considerado é que existem diversos modelos de indução de estresse perinatal, porém não existem estudos sobre um modelo do transtorno do estresse pós-traumático (TEPT), durante a gestação, e as consequências no aprendizado e memória da prole.

Esse transtorno é considerado um distúrbio comum, crônico, incapacitante e apresenta manifestações concomitantes de três sintomas: reexposição ao trauma causando o estresse, fuga de situações semelhantes às anteriores, as quais levaram ao desenvolvimento do transtorno e estado de hipervigilância (BERARDI *et al.*, 2014). Além disso, o TEPT inclui mudanças neuroendócrinas ocasionando prejuízo na memória, desenvolvimento de desordens emocionais

como depressão e ansiedade, e prejuízos na interação social (TREZZA; CAMPOLONGO, 2013).

Um modelo experimental em roedores, que os induz ao estresse pós-traumático, é a exposição ao choque elétrico inescapável, seguida por isolamento social por um período, normalmente, igual ou superior a sete dias. Após esse decurso de tempo, quando os animais são reexpostos ao local do trauma, eles apresentam comportamento de congelamento dos movimentos (BERARDI *et al.*, 2014).

Considerando que o TEPT é reconhecido como um distúrbio comum, crônico e incapacitante, e que não existem estudos demonstrando a relação do TEPT, durante a gestação, e o aprendizado e memória da prole, nesta proposta, torna-se relevante buscar possíveis mecanismos neurogênicos, os quais podem estar associados a essas alterações cognitivas na prole.

Na literatura, já é bem estabelecida a relação da função cognitiva com a neurogênese hipocampal (VAN DEN BERGH, DAHNKE; MENNES, 2018); dessa forma, realizamos uma correlação dos parâmetros comportamentais alterados com a marcação e expressão, no hipocampo das seguintes proteínas: a) Fator Neutrófico Cerebral (BDNF); b) Doblecortina (DCX); c) sinaptofisina detectadas e quantificadas através da técnica de *Western Blotting*. Nesse sentido, acreditamos que o TEPT gestacional prejudica o aprendizado e memória da prole, e isso pode estar correlacionado com alterações neurogênicas.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 ESTRESSE

O estresse é, comumente, visto como uma resposta do cérebro a uma demanda ou desafio - denominados estressores. Atualmente, ainda, não existe uma definição perfeita de estresse. Segundo o fundador da teoria do estresse, Hans Selye, ‘Stresse é um conceito científico que recebeu a benção de ser muito conhecido e também pouco compreendido’. O termo apresentava uma dualidade, sendo visto como causa e efeito.

Sendo assim, para facilitar a compreensão, Selye criou um neologismo, o termo “estressor”. Esse termo é usado para denominar o agente causador ou estímulo, e estresse, propriamente dito, significa a condição gerada pelo desafio (TAN; YIP, 2018).

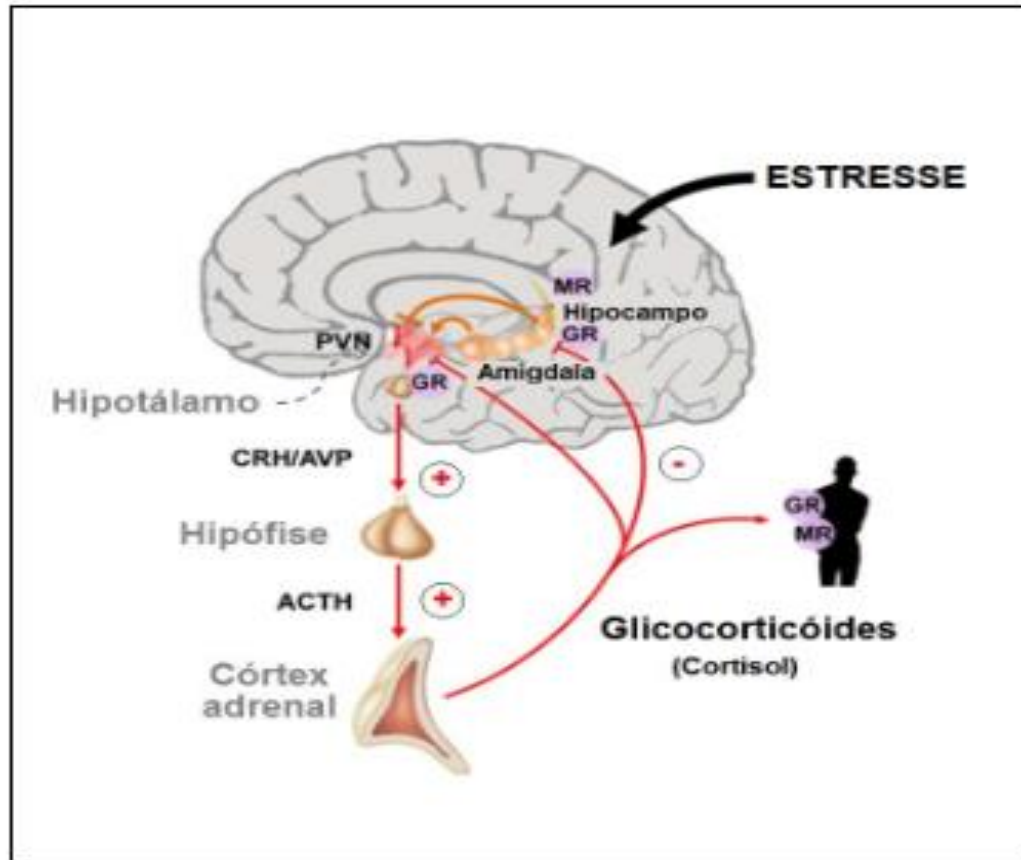
Os estressores podem ser reais ou percebidos, não dependendo apenas do sujeito, mas também de sua temporalidade, recorrente, curto prazo ou prolongado. Variações físicas, de temperatura e comportamentais podem atuar como agentes estressores e diversas situações encontradas em nossa vida cotidiana podem se encaixar nesse perfil de estressor, entre elas: acidentes, violência, abuso sexual, catástrofes naturais dentre muitas outras (SOUSA, 2016).

O estresse, nem sempre, é prejudicial ou negativo; é importante enfatizar que ele tem sido essencial para garantir a nossa sobrevivência, estando intimamente ligado à evolução das espécies. Dessa forma, o que pode ser danoso ao organismo é uma resposta ao estressor sem controle e de forma não moderada.

Essa resposta descontrolada, também denominada como mal adaptativo da resposta ao estresse, depende de características tais como, a dinâmica temporal dos efeitos do estresse no cérebro, a previsibilidade do evento (dado que o indivíduo enfrenta, repetidamente, o mesmo estressor, a resposta ao estresse evolui para ser, rigidamente, controlada e regulada), a forma de adaptação; a controlabilidade, ter ou não ter controle do estressor é fundamental para instalação dos seus efeitos; além da variabilidade individual, diferentes indivíduos experimentam o estresse de maneiras distintas (SOUSA, 2016).

A resposta do organismo a um agente estressor funciona por meio da ativação rápida do sistema nervoso simpático; e, em caso de estresse severo ou persistente, ocorre a estimulação do eixo Hipotálamo-Pituitária-Adrenal (HPA) que regula a resposta adaptativa ao estresse (JOSEPH; WHIRLEDGE, 2017; SOARES-CUNHA *et al.*, 2018). A ativação do eixo HPA e, conseqüentemente, a liberação de hormônios que desencadeia uma resposta em cascata é demonstrada na Figura 1.

Figura 1 - A ativação do Eixo Hipotálamo-Pituitária-Adrenal (HPA) pelo estresse



Fonte: Adaptado de RAABE E SPENGLER (2013, p. 81)

Nota: O Eixo Hipotálamo-Pituitária-Adrenal (HPA) integra e medeia a resposta ao estresse mediante às adversidades da vida. A percepção de ameaças físicas e sociais reais e/ou presumidas provoca a ativação do eixo HPA. Estados de ansiedade surgem da ativação da amígdala e aumentam a resposta ao estresse por meio de Projeções Neurais para o Núcleo Paraventricular (PVN). O hipocampo exerce um papel importante na avaliação dos estressores e é um sítio de Receptores de Glicocorticóides (GR) que medeia a regulação do eixo HPA por retroalimentação negativa. A liberação de neuropeptídeos hipotalâmicos, hormônio liberador de corticotropina (CRH) e arginina-vasopressina (AVP), promovem a síntese e a secreção de hormônio adrenocorticotrófico (ACTH) na hipófise (pituitária) anterior. O ACTH estimula a liberação de glicocorticóides das glândulas adrenais. Esses hormônios Circulam pelo corpo todo e pelo encéfalo, ligando-se a receptores esteróides intracelulares nucleares. Os receptores de mineralo corticóides (MR), presentes no hipocampo, agem no início da resposta ao estresse, enquanto que os GR no hipocampo, PVN e hipófise anterior, agem no final da resposta ao estresse.

Sendo assim, a presença do estresse de forma excessiva, gerando uma resposta sem controle e não moderada, pode ser responsável por causar diversas doenças e afetar diferentes sistemas como: imunológico, cardiovascular, gastrointestinal, endócrino e nervoso. Dessa forma, quando o estresse afeta o sistema neurológico, o indivíduo pode apresentar as seguintes doenças: depressão, transtornos de ansiedade e TEPT (SOUSA, 2016; YARIBEYGI *et al.*, 2017).

2.2 TRANSTORNO DO ESTRESSE PÓS-TRAUMÁTICO (TEPT)

2.2.1 Aspectos históricos do TEPT

O TEPT foi, inicialmente, estudado em veteranos de guerra, no entanto, naquela época essa patologia era pouco conhecida e não se denominava como transtorno do estresse pós-traumático (CORVALAN; KLEIN, 2011).

Assim, durante a Guerra Civil dos Estados Unidos (1861- 1865), os médicos rotulavam essa doença, que hoje conhecemos como TEPT, como: “coração de soldado”, “coração irritável”, “nostalgia”; essas doenças psiquiátricas matavam mais do que as próprias batalhas. Nessa época, a medicina estava iniciando o entendimento de que o trauma poderia ser responsável pelas desordens psiquiátricas (CORVALAN; KLEIN, 2011).

Durante a Segunda Guerra Mundial (1939-1945), a psiquiatria já estava mais evoluída, e os psiquiatras militares descobriram que o impacto do estresse do combate eram preditores mais fortes que os fatores pré-trauma ou pós-trauma.

No entanto, foi apenas, na Guerra do Vietnã (1955-1975), que ocorreu uma guinada na compreensão sobre o papel das lesões traumáticas na guerra. Nesse contexto, foi estimado um número total de 450.000 veteranos de guerra que sofreram do TEPT (CORVALAN; KLEIN, 2011). Mas, ainda, faltava muito para entender esse transtorno psiquiátrico.

Com as guerras no Iraque e Afeganistão ocorreram maiores investimentos, os quais permitiram entender melhor essa doença. Teve-se então, melhoria nas triagens e serviços de tratamento, atualizações de diretrizes de prática clínica, iniciação de ensaios clínicos randomizados para refinar as abordagens de tratamento (HOGE ; CHARD, 2018). Esses esforços foram cruciais para o que conhecemos, hoje, a respeito do TEPT. No entanto, ainda, é encontrada-se diversas limitações como, estigma e barreira aos cuidados dos pacientes, altas taxas de abandono de tratamento, tratamentos não totalmente efetivos, entre outras (HOGE; CHARD, 2018)

O Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais (DSM) consiste em um documento da Associação Psiquiátrica Americana, no qual são listadas diversas doenças mentais e seus critérios para diagnóstico. Atualmente, o documento se apresenta na versão 5. As novas versões têm o intuito de atualização do conteúdo - inclusões, reformulação e exclusão de diagnósticos, por profissionais da área que se baseiam em estudos, revisões e pesquisa de

campo, fornecendo uma fonte confiável e com embasamento científico para aplicação em pesquisas e prática clínica.

Entender o contexto histórico das desordens mentais é importante, pois as novas versões DSM acompanham essas mudanças que ocorreram, ao longo dos anos, em relação ao diagnóstico do TEPT (ARAÚJO; LOTUFO NETO, 2014).

Na sua primeira versão DSM-I, o TEPT foi chamado de “neurose traumática”; já na sua segunda edição, ele foi considerado “distúrbio situacional”. A partir do DSM-III, em 1980, a denotação TEPT foi criada. Dessa forma, ocorreu uma evolução nos critérios diagnósticos do TEPT, assim como, atualmente, há uma melhor compreensão do papel de estressores traumáticos e das características que os diferenciam de outros eventos estressantes (SCHESTATSKY *et al.*, 2003)

Sendo assim, as duas últimas décadas testemunharam uma transformação fundamental da compreensão e conceptualização das psicopatologias. Os distúrbios psiquiátricos deixaram de ser vistos como não relacionados a substratos neurobiológicos e, nos dias atuais, entende-se que esses distúrbios apresentam alterações de componentes específicos dentro do sistema nervoso central. Essa mudança propiciou o estudo dos fundamentos biológicos dos processos psicológicos, gerando uma crescente compreensão dos circuitos neurais, mecanismos celulares e processos moleculares de várias patologias psiquiátricas incluindo o TEPT (LIBERZON; ABELSON, 2016). Atualmente, o TEPT é melhor compreendido; sabe-se quais são os sinais e sintomas de um indivíduo com esse transtorno, e sabe-se também que esses sintomas se desenvolveram em resposta a um estressor traumático (CORVALAN; KLEIN, 2011).

2.2.2 Apresentação clínica do TEPT

O Transtorno do Estresse Pós-traumático (TEPT) é uma desordem psiquiátrica crônica em que o indivíduo apresenta uma dificuldade persistente em processar eventos extremos com risco de vida, como violência no combate, desastres naturais, acidentes de trânsito, agressões, doenças críticas, abuso sexual, entre outras (BERARDI *et al.*, 2012; LEE *et al.*, 2019; PATEL *et al.*, 2016).

O TEPT se caracteriza por exposição ao trauma; por reexperimentar o evento traumático por meio de lembranças persistentes e/ou pesadelos traumáticos (intrusão); por tentar evitar lembranças do evento que é um esforço do indivíduo para evitar pensamentos, sentimentos, atividades ou pessoas relacionadas ao trauma; por embotamento, que representa uma diminuição do interesse em realizar suas atividades diárias, um sentimento de alheamento e um

espectro restrito de afeto; por excitabilidade aumentada que se caracteriza pela presença de insônia, irritabilidade, dificuldades de concentração, hipervigilância e respostas de sobressalto exageradas. O indivíduo também pode apresentar alterações negativas na cognição e no humor (COLVONEN *et al.*, 2019; LEE *et al.*, 2019; PATEL *et al.*, 2016).

Desse modo, o Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais (DSM-5) estabelece que o Transtorno do Estresse Pós-traumático (TEPT) é um “transtorno relacionado ao trauma e ao estressor” e é identificado através de 8 critérios diagnósticos: a) presença de um estressor; b) sintomas de intrusão; c) A pessoa tenta evitar estímulos que sejam relacionados com o trauma; d) Presença de alterações negativas na cognição e humor; e) Presença de alterações na reatividade e excitação; f) os sintomas devem durar pelo menos um mês; g) deve apresentar significância funcional (ou seja, prejuízos nas relações sociais e/ou nas atividades laborais) e h) deve se excluir outras possíveis causas para a sintomatologia.

A depressão e a ansiedade são conceituadas como subcomponentes da psicopatologia do TEPT, sendo essas comorbidades muito comuns em pessoas com a doença, o que torna esse transtorno psiquiátrico ainda mais incapacitante. (PENG *et al.*, 2013). O TEPT, por si só, é uma doença debilitante; está associada a ideação suicida, comportamentos de autoagressão e tentativas de suicídio. No entanto, quando o indivíduo, além do TEPT, apresenta depressão, o risco de comportamentos suicidas é mais elevado (LEE *et al.*, 2014).

O TEPT é uma doença, altamente, complexa e pode ser difícil de diagnosticar devido a presença de comorbidades, como o transtorno depressivo maior. Aproximadamente 50 % dos veteranos de guerra com TEPT, também, foram diagnosticados com depressão; e, tais indivíduos com as duas doenças podem apresentar sintomas mais graves e crônicos, além de piores resultados de tratamento em comparação com aqueles que apresentam qualquer um dos dois transtornos, isoladamente (HURLOCKER *et al.*, 2018).

Os indivíduos com TEPT apresentam alta taxa de incapacidade, o que inclui: aumento da probabilidade de desemprego; deficiência na saúde física; altas taxas de utilização de serviços de saúde; redução da qualidade de vida. Desse modo, quando o TEPT está associado à depressão essa taxa de incapacidade é ainda maior, gerando, assim, maiores prejuízos para a sociedade em geral (RONCONI *et al.*, 2015).

Além disso, os indivíduos com TEPT podem apresentar diminuição da memória não associada ao trauma, que foram demonstrados por estudos clínicos e em animais (SOLANKI *et al.*, 2015).

Os pacientes com TEPT exibem déficits cognitivos significativos o que inclui prejuízo na memória declarativa e de trabalho, além de deficiências na atenção e concentração. Como

hipótese da relação entre déficits cognitivos e TEPT tem-se que as memórias desagradáveis interferem, temporariamente, na capacidade de processar novas memórias ou informações (LEE et al., 2018).

O TEPT pode ocorrer em qualquer momento da vida de um indivíduo e a presença dessa doença pode ser extremamente preocupante devido a toda sua sintomatologia e comorbidades. Contudo, quando esse transtorno afeta a mulher durante a gestação, ele pode ser muito mais prejudicial do que se imagina, tendo características únicas quando contrastados com o TEPT que ocorre na idade adulta e em outro contexto (VIGNATO *et al.*, 2017).

2.3 TEPT E GESTAÇÃO

O TEPT perinatal pode ser conceituado pela ocorrência de uma situação traumática vivenciada pela mãe, em qualquer momento antes da concepção e até 6 meses após o parto, levando a sintomas negativos - intrusão, evitação, alterações negativas no humor e cognição, e alterações na excitação e reatividade, com duração superior a um mês.

Diversas situações podem ser traumáticas para determinada pessoa, como violência, desastres natural, acidentes, dificuldades financeiras entre outras. No entanto, uma gestante, além de estar exposta a essas situações, ela pode ter vivenciado algum trauma que seja inerente à gravidez por exemplo, experiências antigas ou recente de parto traumático, aborto espontâneo anterior, parto prematuro tornando esse momento ainda mais difícil para essas mulheres (DIKMEN-YILDIZ; AYERS; PHILLIPS, 2018; VIGNATO *et al.*, 2017)

Há uma ampla variação na prevalência de TEPT gestacional (variando de 0 a 35%), e isso pode estar relacionado a diversos fatores tais como, diferenças de amostragem, forma de medição, contexto cultural, país de origem (YILDIZ; AYERS; PHILLIPS, 2016). No Brasil, o estudo, conduzido por Farias e colaboradores (2013), identificou uma prevalência de 1,7%. Já, no estudo de Ferri e colaboradores (2007), a prevalência foi de 9,8%. No entanto, esses estudos são antigos, sendo necessário uma avaliação mais atual para saber a real situação do país frente a esse transtorno nessa parcela da população.

A presença do TEPT durante a gestação pode trazer consigo dificuldades adicionais, como complicações na gestação e/ou parto; por exemplo, gravidez ectópica, aborto espontâneo, trabalho de parto prematuro, redução do crescimento fetal, baixo peso ao nascer, cuidados pré-natais inadequados, diminuição do apego materno-infantil, falta de amamentação (COOK *et al.*, 2018; MUZIK *et al.*, 2016; VIGNATO *et al.*, 2017). A presença das comorbidades como

ansiedade e depressão, também, podem aumentar as chances de ocorrência desses problemas (COOK *et al.*, 2018).

Certamente que todos os prejuízos, citados anteriormente, que são causados pelo TEPT, também, estarão presentes nas gestantes com a doença; no entanto, as psicopatologias, ansiedade e depressão, e os prejuízos cognitivos se estendem também aos descendentes, podendo ocorrer em fase precoce da vida, infância e adolescência, ou na fase adulta (CHAPMAN *et al.*, 2004; DUNN *et al.*, 2013; HUGHES *et al.*, 2017; KESSLER *et al.*, 2010).

2.4 ESTRESSE GESTACIONAL E TRANSTORNOS PSIQUIÁTRICOS PARA A PROLE

Atualmente, já é bem conhecido que os descendentes de mães com o transtorno de estresse pós-traumático apresentam um risco maior de psicopatologias, quando comparadas àquelas de mães sem a doença. Essas psicopatologias incluem ansiedade generalizada, depressão, transtornos alimentares, Transtorno de Déficit de Atenção e Hiperatividade (TDAH), autismo, esquizofrenia. Assim sendo, as evidências decorrentes de estudos observacionais em humanos têm demonstrado uma associação significativa entre vários tipos de percepção de sofrimento materno ao risco de transtornos psiquiátricos nos descendentes (SCHEPANSKI *et al.*, 2018).

Em uma extensa revisão sistemática de todos os estudos publicados em humanos realizados entre 2010 e 2017, a qual inclui estudos longitudinais, epidemiológicos prospectivos ou observacionais clínicos, foi concluído que o sofrimento materno em diferentes fases da gestação prediz problemas comportamentais para os filhos de ambos os sexos, como, ansiedade, depressão, problemas de conduta dentre outros (MONK *et al.*, 2019).

Para melhor compreender essa relação, entre estresse e psicopatologias e seus mecanismos, vários estudos em animais têm replicado as ocorrências desses transtornos em humanos. Por exemplo, em um estudo com ratas prenhas expuseram-nas ao protocolo de estresse variável a partir do 14º DG (dia de gestação) até o parto, estresse por contenção durante 1 hora, exposição a um ambiente frio 4°C por 6 horas, privação de alimento durante a noite, natação forçada em água a temperatura ambiente por 15 minutos, reversão do ciclo claro-escuro e estresse social induzido por superpopulação; apresentaram elevações nos níveis plasmáticos de corticosterona. E sua prole quando exposta ao estresse agudo, exibiu também um aumento de corticosterona plasmática quando comparado ao controle. Além disso, nesse mesmo estudo, a prole de ratas, que foram submetidas ao estresse variável, apresentou comportamentos semelhantes à ansiedade na idade adulta (WILSON; TERRY JUNIOR, 2012).

Um outro estudo realizado em ratos, conduzido por Soares-Cunha e colaboradores (2018), avaliou as consequências do estresse leve pré-natal (contenção ou luz aversiva ou ruído, três vezes na semana durante os dias gestacionais de 3-20 e de forma aleatória) na progênie de ambos os sexos aos dois meses de idade em relação ao comportamento tipo ansioso, depressivo, impulsivo e de recompensa, e conseguiu demonstrar essa relação de estresse com ansiedade e depressão para ambos os sexos.

Além de todos esses prejuízos citados, o estresse gestacional pode apresentar muitos efeitos na cognição da prole, os quais dependem de sua intensidade, origem, duração e magnitude (YARIBEYGI *et al.*, 2017).

2.5 ESTRESSE GESTACIONAL E CONSEQUÊNCIAS NA COGNIÇÃO PARA A PROLE

A presença de desafios (estressores) no período perinatal, sejam experiências de estresse ou até mesmo infecções, tem sido relacionada a um comprometimento do desenvolvimento cognitivo, baixo desempenho intelectual, assim como desordens de neurodesenvolvimento para os filhos em uma fase mais tarde na vida (SCHEPANSKI *et al.*, 2018 ;YARIBEYGI *et al.*, 2017).

Levantamentos epidemiológicos e estudos em animais têm demonstrado a relação entre o estresse materno e as consequências cognitivas para a prole. Dessa forma, há evidências as quais demonstram que o estresse perinatal pode ocasionar prejuízo na aprendizagem e na memória (LI *et al.*,2012; SHANG *et al.*, 2019).

Estudos em humanos identificaram que as piores notas escolares aos seis anos de idade podem estar associadas ao estresse na gestação (NIEDERHOFER; REITER, 2004). O estudo de Laplante e colaboradores (2008) relacionou a exposição de gestantes a um desastre natural, que resultou em 40 dias sem energia elétrica, a piores resultados de habilidades intelectual e linguística de seus filhos aos cinco anos de idade.

Um estudo em animais, conduzido por Modir *et al.*, (2014) avaliou o efeito do estresse - utilizou um modelo heterogêneo, no qual uma mesma rata foi exposta a vários agentes estressores, quando aplicado em três períodos distintos: antes da gestação; em sua primeira metade e na segunda metade da gestação. Os resultados mostraram que os descendentes machos adultos apresentaram prejuízos tanto no processo de aprendizagem quanto na memória, quando o estresse foi aplicado antes da gestação e em sua primeira metade.

Já outro estudo submeteu ratas entre o 11-20º dia de gestação ao estresse de contenção três vezes ao dia e, posteriormente, foi avaliada a memória espacial nos descendentes machos

e fêmeas, e foi concluído que apenas a prole fêmea apresentou comprometimento da memória espacial (SU *et al.*, 2019).

O processo cognitivo é complexo e envolve várias regiões do cérebro tais como, amígdala, córtex e hipocampo. Estudos anteriores, os quais avaliaram o estresse pré-natal e suas consequências na prole, descobriram uma perda neuronal, acúmulo de glutamato no hipocampo, e produção excessiva de Espécies Reativas de Oxigênio Intracelular (ROS) em neurônios piramidais do hipocampo associados aos prejuízos, na aprendizagem e memória de ratos juvenis (JIA *et al.*, 2016).

Diversos fatores são importantes para formação de memórias, e a neurogênese está, intimamente, relacionada com a função do hipocampo, incluindo aprendizado e memória, regulação da ansiedade dentre outros (GULYAEVA, 2018).

2.6 COGNIÇÃO, NEUROPLASTICIDADE E NEUROGÊNESE HIPOCAMPAL

O processo de cognição abrange aprendizagem, memória, percepção, atenção, vigilância, raciocínio e tomada de decisão; sendo o hipocampo essencial para todo esse processo (MELO *et al.*, 2017; YARIBEYGI *et al.*, 2017).

O hipocampo é uma estrutura límbica do cérebro que possui diversas funções garantindo o papel integrador do cérebro na sobrevivência, desenvolvimento e bem-estar do organismo (GULYAEVA, 2018). As funções do hipocampo incluem processamento espacial e contextual, memória e processamento emocional, além dessas funções o hipocampo influencia a ativação de neurônios do córtex pré-frontal, que, por sua vez, atua em numerosas funções cognitivas: memória operacional, processamento temporal, tomada de decisão, comportamento orientado, entre outras (GODSIL *et al.*, 2013).

De acordo com MecEwen *et al.*, (2016) “o hipocampo forneceu a porta de entrada para muito do que aprendemos sobre estresse e estrutura cerebral e plasticidade funcional”. O hipocampo mostra uma extensa plasticidade em resposta ao estresse sugerindo um papel crítico desta região cerebral no TEPT.

A neuroplasticidade é definida como a capacidade dos neurônios transformarem sua função e forma em relação ao meio externo. Existem diversas formas de neuroplasticidade como, a neuroplasticidade dendrítica, sináptica, estrutural, entre outras. Em relação à formação de memórias, a plasticidade sináptica e estrutural são essenciais para esse processo. Por sua vez, a plasticidade sináptica refere-se às mudanças na atividade sináptica em resposta ao uso e desuso. A Potenciação de Longo Prazo (LTP) é a principal forma de plasticidade sináptica e é

considerada um mecanismo celular para a formação da memória (LEAL;BRAMHAM; DURARTE,2017).

Já a plasticidade estrutural é a capacidade de moldar-se a nível de sua estrutura; como exemplo, temos a neurogênese que consiste na formação de novas células granulares, na região do giro denteado do hipocampo; ocorre durante toda a vida e reduz, consideravelmente, com a idade. A neurogênese desempenha um papel fundamental na preservação da função cognitiva, na ansiedade e regulação do estresse e no comportamento social. Fatores intrínsecos, envelhecimento, e extrínsecos, dieta rica em açúcar e gordura, alcoolismo e estresse, podem afetar, negativamente, a neurogênese; já a atividade física, alimentação rica em polifenóis de mirtilo, curcumina, resveratrol mostraram induzir a neurogênese adulta (COPE E GOULD, 2019; GULYAEVA, 2018; SCHOENFELD *et al.*, 2019; POULOSE *et al.*, 2017).

Estudos têm demonstrado que os animais com neurogênese alterada são mais propensos a comportamento tipo ansioso/depressivo após estresse agudo. Além disso, a neurogênese reduzida pode estar relacionada com o desenvolvimento de doenças neurodegenerativas (GULYAEVA, 2018; SCHOENFELD *et al.*, 2019).

Investigações científicas identificaram que a redução de neurônios gerados, recentemente, prejudica o desempenho cognitivo de animais, em testes que são dependentes do hipocampo, como: Reconhecimento de Objeto e Labirinto Aquático de Morris, além dos testes de Condicionamento de Medo Contextual, Labirinto de Braço Radial, entre outros (COPE E GOULD, 2019).

Contudo, a cognição é, totalmente, dependente do processo de neurogênese hipocampal e da plasticidade sináptica; para tal ocorrência destaca-se a importância das proteínas cerebrais, tais como, Fator Neurotrófico Cerebral (BDNF), *Doublecortin* (DCX) e Sinaptofisina (FOLTRAN; DIAZ, 2016; SAALTINK; VANZWET; XU *et al.*, 2020).

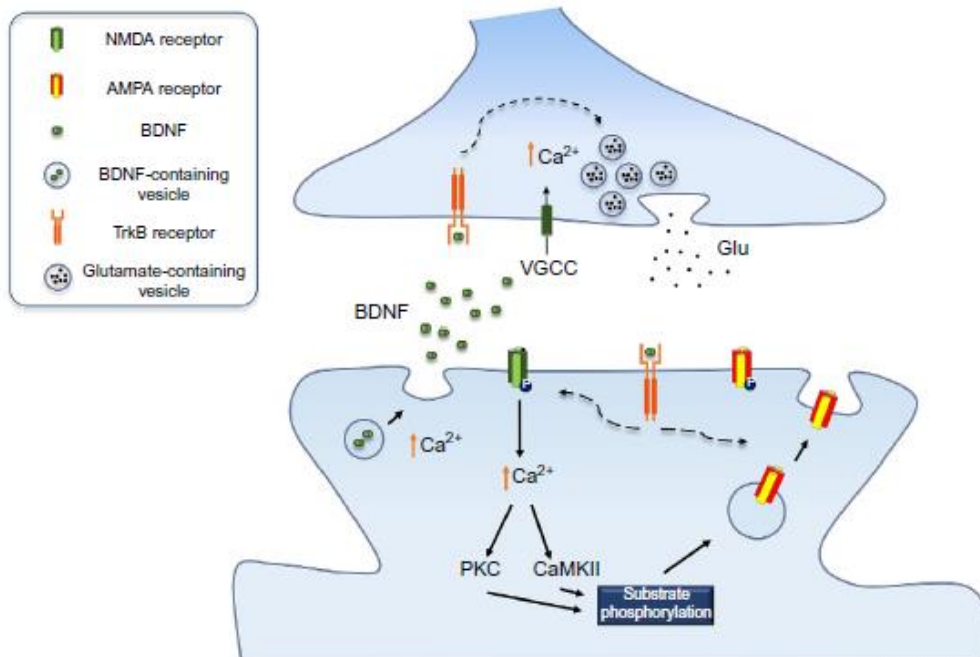
2.7 BDNF, DCX E SINAPTOFISINA E SUA RELAÇÃO COM A NEUROGÊNESE HIPOCAMPAL E PLASTICIDADE SINÁPTICA

O BDNF é pertencente à família das neurotrofinas, foi descoberto há mais de trinta anos, e é sintetizado, inicialmente, como precursor (31-35 kDa) para, depois através do processo de clivagem, formar o BDNF maduro (13,2-15,9 kDa).

Esse fator tem por função promover o crescimento e sobrevivência de neurônios (neurogênese hipocampal) e, também, possui um papel crítico na plasticidade sináptica; portanto, mas não surpreendentemente, é fundamental no processo de aprendizagem e memória

(FOLTRAN; DIAZ, 2016; LEAL; BRAMHAM; DURARTE, 2017; OZBEYLI *et al.*, 2019). Alterações no gene do BDNF foram associadas a diversos transtornos neuropsiquiátricos (NIKNAZAR *et al.*, 2016). A potenciação de longo prazo (LTP) é um mecanismo para formação de memória e é dependente da proteína BDNF (conforme demonstrado na Figura 2).

Figura 2 - Regulação mediada por BDNF de sinapses excitatórias durante o início da LTP.



Fonte: Adaptado de LEAL; BRAMHAM; DUARTE (2017, p.158).

Nota: O BDNF é secretado em resposta à atividade e pode ativar receptores TrkB pré e pós-sináptico. Em regiões pré-sinápticas, o BDNF aumenta a exocitose de células contendo glutamato contidos nas vesículas sinápticas. Em regiões pós-sinápticas, a sinalização BDNF-TrkB induz a fosforilação de receptores NMDA que aumentam as chances de abertura do canal iônico. O BDNF também aumenta a fosforilação e a inserção na membrana dos receptores AMPA. Durante o início da LTP, o influxo de cálcio via receptores NMDA ativa PKC e CaMKII que fosforilam vários substratos, incluindo receptores AMPA para manter o aumento da eficácia sináptica.

O DCX é uma proteína do citoesqueleto (40kDa) e funciona como um marcador de migração neuronal essencial para os processos iniciais de dispersão neuronal e laminação do córtex durante o desenvolvimento do córtex cerebral. A expressão de DCX é específica para neurônios gerados recentemente, sendo portanto, um bom marcador para células progenitoras imaturas na neurogênese do cérebro adulto (AYANLAJA *et al.*, 2017; KIM *et al.*, 2009).

A sinaptofisina é uma proteína transmembrana integral (38 kDa), presente nas vesículas sinápticas, e está envolvida em diferentes etapas da biogênese sináptica. Essa proteína é considerada um marcador indireto de densidade sináptica que regula a função das vesículas sinápticas e a liberação de neurotransmissores (GUDI *et al.*, 2017; MILNER; MCEWEN;

WATERS, 2014). Outras proteínas como sinaptobrevina II também estão presentes na vesícula sináptica e possuem um papel fundamental na fusão das vesículas (KOKOTOS *et al.*,2019). O aumento de sinaptofisina tem sido correlacionado, positivamente, com um melhor desempenho da memória (XU *et al.*,2019).

3 JUSTIFICATIVA

Como já mencionado, o TEPT gestacional causa consequências consideráveis à pacientes que apresentam a doença, e, também, a seus descendentes.

A avaliação dos prejuízos cognitivos nos descendentes na fase pré-púbere é de fundamental importância, visto que, essa é uma fase extremamente essencial na aprendizagem escolar.

Outro fator relevante é a prevalência de TEPT gestacional no Brasil, que de acordo com o estudo Ferri *et al.* (2007) teve taxa de 9,8%. Dessa forma, a prevalência do TEPT durante a gestação no Brasil é substancial, e esses valores podem ser, ainda, mais elevados se considerada a nossa realidade atual.

Além disso, o TEPT pode ser uma consequência comum de grandes desastres, catástrofe natural, pandemias, etc. Na atualidade, frente à pandemia do Coronavírus (COVID-19) que assim como outras pandemias, as quais ocorreram no passado, podem contribuir para o desenvolvimento do TEPT e, desse modo, aumentar a prevalência desse transtorno psicológico (DUTHEIL; MONDILLON; NAVEL, 2020). A própria doença assim como a quarentena forçada podem ser responsáveis pela presença de transtornos psiquiátricos como ansiedade, depressão e TEPT (DUBEY *et al.*, 2020).

Diante do exposto, este estudo propõe avaliar em ratos (machos e fêmeas) na idade pré-púbere os prejuízos cognitivos que foram gerados pelo TEPT gestacional e posteriormente avaliar possíveis alterações neurogênicas.

4 OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GERAL

Investigar os possíveis prejuízos na cognição da prole decorrentes do TEPT gestacional e associá-los às possíveis alterações neurogênicas.

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Parâmetros das progenitoras:

- I) Investigar o ganho de peso (gestante e lactante);
- II) Investigar a retenção da memória ao trauma no processo de reexposição ao trauma (lactante);
- III) Investigar os parâmetros de cuidados maternos e não maternos com a prole (lactante);
- IV) Investigar a atividade locomotora/exploratória e o comportamento tipo ansioso (lactante);

Parâmetros da prole (fêmea e macho):

- I) Investigar o ganho de peso da ninhada - antes do desmame, e dos filhotes no pós-desmame;
- II) Investigar o desenvolvimento físico e reflexo;
- III) Investigar a atividade locomotora e exploratória;
- IV) Investigar os possíveis déficits de memória reconhecimento de Objetos (memória de curto prazo e memória de longo prazo);
- V) Investigar os possíveis déficits de aprendizado e de memória espacial;
- VI) Investigar e quantificar a expressão das proteínas BDNF, DCX e sinaptofisina e correlacionar os resultados com as possíveis alterações comportamentais.

5 MATERIAL E MÉTODOS

A seguir serão apresentados o material e métodos.

5.1 ANIMAIS

Para desenvolvimento deste trabalho, foram utilizadas 20 ratas *Wistar* e dez ratos *Wistar* adultos (250-280 gramas) obtidos do Biotério Central da Universidade Federal de Alfenas. Os animais passaram por um período de ambientação de sete dias, nos quais foram agrupados em caixas de polipropileno adequadas à sua manutenção, que abrigaram um total de quatro animais por caixa.

Esses animais permaneceram em ambiente com temperatura controlada (22 ± 2 °C) e ciclo claro-escuro de 12 horas, sendo as luzes acesas às 7:00 horas e desligadas às 19:00. Os procedimentos experimentais, também, foram realizados a uma temperatura controlada (23 ± 1 °C) e os animais receberam água e ração comercial *ad libitum* durante todo período experimental.

Todos os procedimentos experimentais seguiram os Princípios Éticos em Pesquisa Animal, adotados pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Alfenas (protocolo 50/2018).

5.2 GRUPOS EXPERIMENTAIS

O trabalho de pesquisa está investigando os mecanismos neurogênicos associados aos déficits no aprendizado e memória decorrentes do TEPT gestacional.

Assim, foram colocadas para acasalamento 24 ratas, sendo que os grupos de progenitoras foram:

- Progenitoras controle (n = 10);
- Progenitoras com TEPT (n = 14).

E os filhotes seguem nos seguintes grupos:

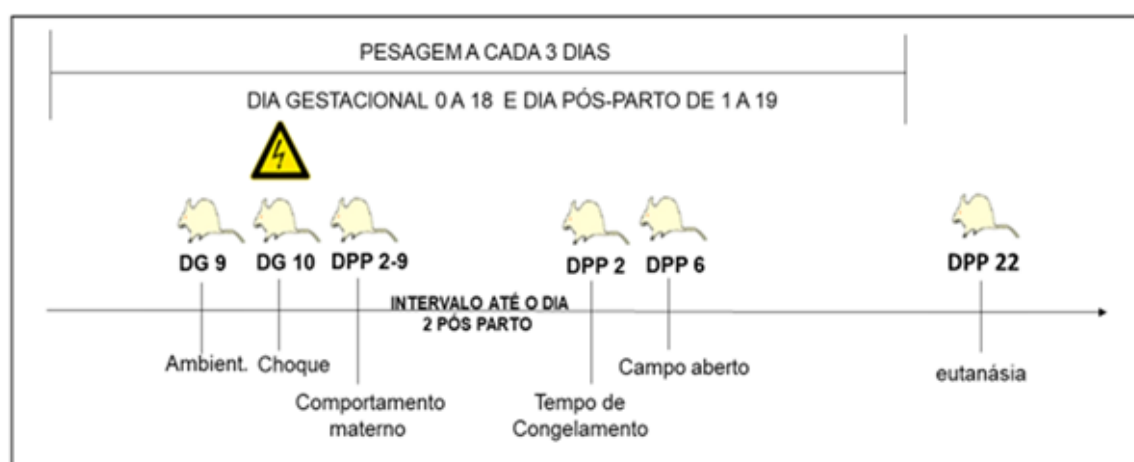
- 40 filhotes machos provenientes de progenitoras controle;
- 40 filhotes fêmeas provenientes de progenitoras controle;
- 40 filhotes machos provenientes de progenitoras com TEPT;
- 40 filhotes fêmeas provenientes de progenitoras com TEPT.

5.3 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

O delineamento experimental para as ratas progenitoras está indicado na figura 3 e demonstra a sequência temporal de todos os procedimentos realizados nesses animais.

As ratas (n = 14 por grupo) foram submetidas ou não a indução do TEPT no dia gestacional 10 (DG 10), e foram reexpostas à caixa de choque para avaliação da retenção da memória relacionada ao trauma no segundo dia pós-parto (DPP2). O ganho de peso das progenitoras foi registrado durante a gestação e a lactação, e das ninhadas durante a lactação a cada 3 dias. O comportamento materno foi registrado nos DPP2-9, e a avaliação da atividade locomotora/exploratória e parâmetros relacionados à ansiedade das progenitoras foram avaliados no teste de campo aberto no DPP6.

Figura 3 - Representação temporal dos testes realizados nas ratas com/ou sem indução do Transtorno do Estresse Pós-traumático



Fonte: Da autora

Para os procedimentos experimentais envolvendo os filhotes, foram utilizados um macho e uma fêmea de cada ninhada (n = 10 por grupo), tais como seguem abaixo:

F1 e M1: desenvolvimento físico e reflexo;

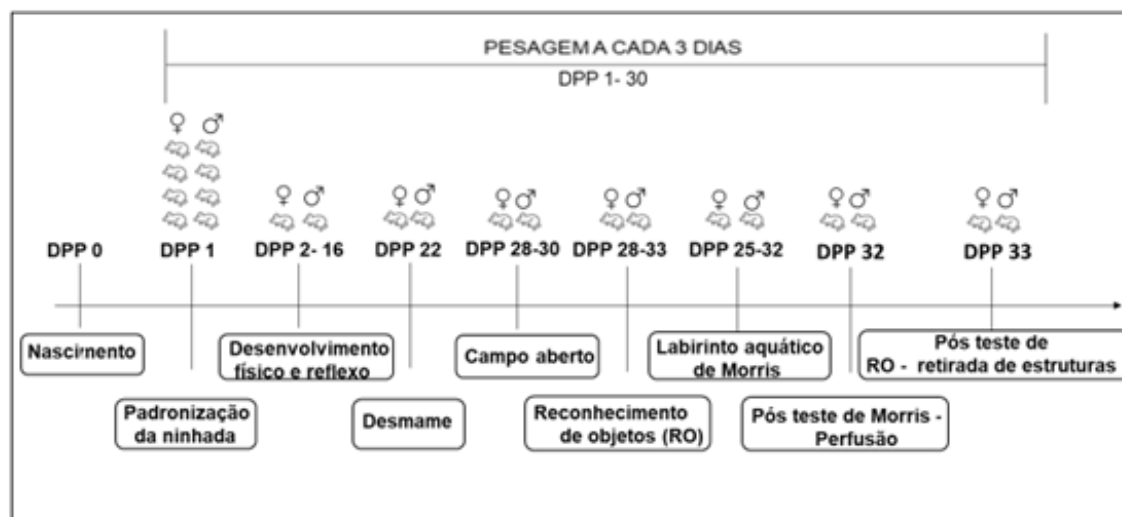
F2 e M2: teste de campo aberto e reconhecimento de objetos;

F3 e M3: labirinto aquático de Morris.

O delineamento experimental para a prole está indicado na figura 4. O nascimento foi considerado como dia pós-parto 0 (DPP0) e foram realizadas as seguintes avaliações: padronização da ninhada em 8 filhotes (4 machos e 4 fêmeas); pesagem a cada 3 dias (a partir do DPP1); avaliação do desenvolvimento físico e de reflexos, no DPP 28-32, o teste de Campo

Aberto; teste Reconhecimento de Objetos e Labirinto Aquático de Morris. Enfatiza-se que para cada teste utilizamos animais diferentes.

Figura 4 - Representação temporal dos testes realizados na prole de ratas com/ou sem indução do transtorno do estresse pós-traumático.



Fonte: Da autora

Após o término dos testes comportamentais, os animais que concluíram o teste de reconhecimento de objetos foram submetidos à eutanásia por excesso de anestésico inalatório isoflurano (isoflurano 100%, 1ml/ml) e, em seguida, estruturas encefálicas (hipocampo) foram dissecadas para procedimentos moleculares (Western Blotting). Os animais que saíram do teste de Morris foram perfundidos, e o encéfalo coletado para procedimentos de imuno-histoquímica posteriores.

5.3.1 Acasalamento e confirmação da prenhez

Duas ratas fêmeas foram colocadas para acasalar com um rato macho fértil e sexualmente ativo durante uma noite. Na manhã do dia seguinte, o lavado vaginal foi coletado, preparado e examinado ao microscópio para a presença de espermatozoides. A presença de espermatozoides foi indicativa de prenhes, e esse dia foi indicado como dia zero da gestação. As ratas prenhas foram alojadas em caixas, sendo três ratas na mesma condição por caixa (BATISTA *et al.*, 2018).

5.3.2 Indução do Transtorno do Estresse Pós-traumático (TEPT)

Para indução do transtorno do estresse pós-traumático foi seguido o protocolo de Berardi *et al.*, 2014. No DG9, as ratas prenhas foram colocadas, individualmente, na caixa de choque por 10 minutos para habituação. No dia seguinte (DG10), as ratas foram colocadas na caixa de choque, novamente, onde um grupo receberia 5 choques aleatórios inescapáveis de 0,8 mA e 2 segundos de duração, do 2º até o 5º minuto, sendo que permaneceriam mais um minuto sem receber o choque (total de 6 minutos de permanência na caixa).

O grupo controle permaneceu na caixa por 6 minutos, porém, sem receber os choques. Ao final desse procedimento, todos os animais foram isolados em caixas individuais e sendo reexpostos à caixa no DPP2, onde foi avaliado o comportamento de congelamento das ratas durante o período de 10 minutos. A fotografia 1 mostra uma rata em congelamento após reexposição à situação traumática.

Fotografia 1 - Reexposição da rata à caixa de choque no DPP2.

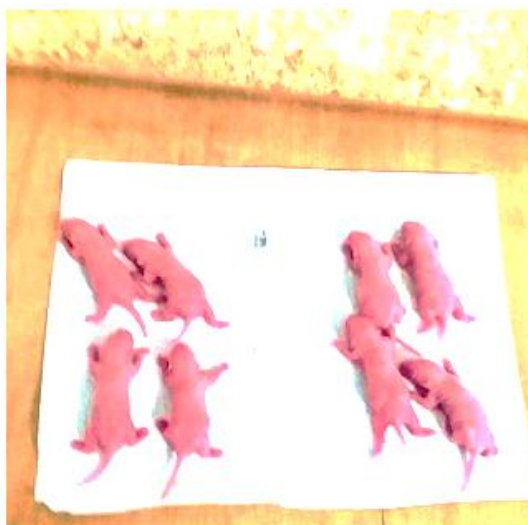


Fonte: Da autora

5.3.3 Padronização da ninhada

No primeiro dia pós-parto, todos os filhotes foram avaliados quanto ao sexo, peso e sobrevivência. Todas as ninhadas foram padronizadas em quatro fêmeas e quatro machos. A fotografia 2 mostra quatro fêmeas à esquerda e quatro machos à direita (DPP 1).

Fotografia 2 - Padronização das ninhadas em 4 fêmeas e 4 machos



Fonte: Da autora

5.3.4 Acompanhamento do ganho de peso das progenitoras e dos filhotes

O ganho de peso das progenitoras foi registrado a cada três dias no período gestacional e de lactação. O peso da ninhada também foi registrado a cada três dias, durante todo o período de lactação. Após o desmame, os filhotes foram pesados a cada três dias até o dia de cada teste.

5.3.5 Avaliação dos cuidados maternos

Os cuidados maternos foram registrados do DPP2 ao DPP8. Para essa avaliação específica, as ratas foram colocadas em gaiolas transparentes. O comportamento materno foi observado de 3 em 3 minutos no período da manhã das 7:30 até às 9:00 e no período da tarde, das 15:30 às 17:00, somando 30 observações por período e um total final de 60 observações por dia (Vilela *et al.*, 2017). Foram observados e registrados a cada momento os seguintes parâmetros: posição de cifose (arqueada), posição sobre a ninhada, posição passiva (deitada e região ventral para cima ou de lado, na presença de seus filhotes encaixados em suas tetas), lambida nos filhotes, construindo o ninho, autolimpeza das mamas e fora do ninho. A fotografia 3 mostra os comportamentos maternos e não maternos durante o período de avaliação dos cuidados maternos (DPP2-8).

Fotografia 3 – Observação do comportamento das mães. Comportamento não maternal em (A) sem filhotes não explorando; (B) Filhotes em ninhada sozinhos; Comportamentos maternos em (C) posição de cifose; (D) Posição passiva; (E) Lambendo os filhotes.



Fonte: Da autora

5.3.6 Teste de Campo Aberto com as progenitoras

O teste do Campo Aberto consiste em uma arena circular de acrílico, com diâmetro de 60 cm e paredes com 50 cm de altura. O teste foi realizado com as progenitoras no DPP6. Cada rata foi colocada no centro da arena e a sua atividade exploratória foi filmada por dez minutos. O software *Ethovision XT* versão 9.0 foi utilizado para análise automática dos parâmetros: distância percorrida no centro e na periferia e tempo de imobilidade. Após o teste com cada animal, o aparato foi limpo com álcool 5% (RIBEIRO *et al.*, 2020).

5.3.7 Desenvolvimento físico e de reflexos dos filhotes

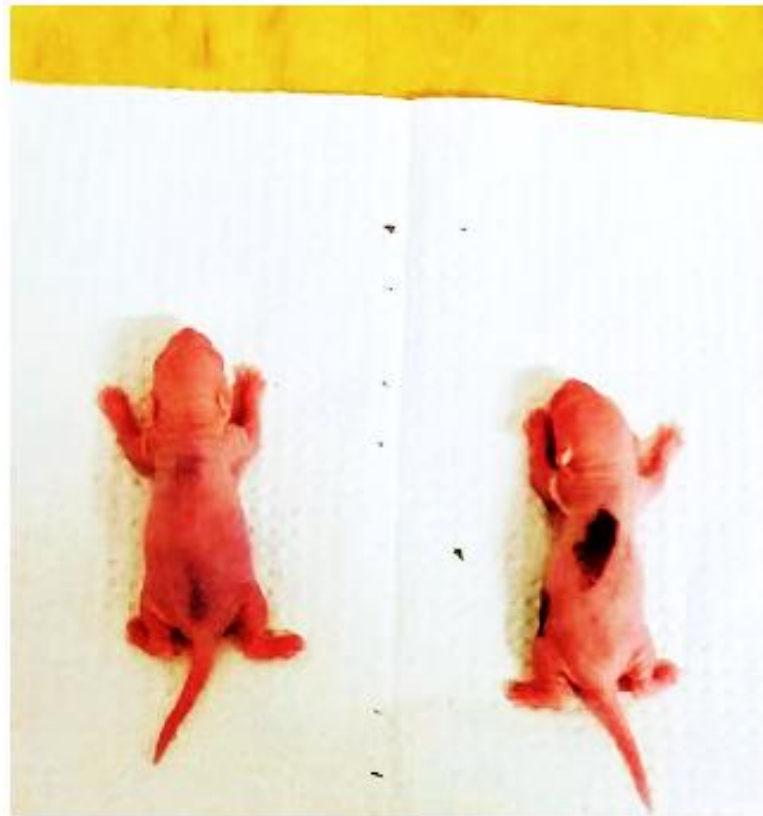
Para a avaliação do desenvolvimento físico dos animais foram observados os dias de ocorrência dos seguintes parâmetros: desdobraimento das orelhas, abertura dos olhos, erupção dos dentes incisivos e nascimento de pelos. Essas observações foram realizadas, diretamente, em cada filhote, um macho e uma fêmea de cada ninhada, durante a lactação. Para avaliação do desenvolvimento dos reflexos, os animais foram observados durante a lactação quanto ao dia

de ocorrência: do reflexo de preensão palmar, do reflexo de endireitamento de postura, do reflexo de geotaxia negativa e do dia de andar adulto (VERONESI *et al.*, 2017).

Os testes foram avaliados a partir do DPP2 em todos os filhotes, para a preensão palmar, um clipe aberto foi posicionado de leve na pata de cada filhote e foi indicativo de presença do reflexo, a ação de fechar a pata segurando o clipe. Para o reflexo de endireitamento de postura, os filhotes foram posicionados com a região ventral para cima, o animal que retornasse com a posição ventral para baixo em 30 segundos foi considerado como capaz de realizar o reflexo. A geotaxia negativa foi avaliada colocando o animal em um plano inclinado a 45°C , com a sua cabeça virada para baixo, o animal conseguisse mudar de posição com a cabeça para cima em 30 segundos foi considerado que o reflexo estava presente. O dia de andar adulto foi considerado quando o animal conseguisse andar com as quatro patas sem se rastejar.

A fotografia 4 mostra os filhotes no DPP3, na qual se pode observar que a fêmea (esquerda) não apresentou desdobramento das orelhas e o macho (direita) apresentou o desdobramento. A fotografia 5 mostra o desenvolvimento físico (aparecimento dos incisivos inferiores e presença de pelos) e a fotografia 6 mostra a presença do reflexo de geotaxia negativa.

Fotografia 4- Filhotes no DPP 3. Fêmea à esquerda e macho à direita.



Fonte: Da autora

Fotografia 5 – Avaliação do desenvolvimento físico.

A



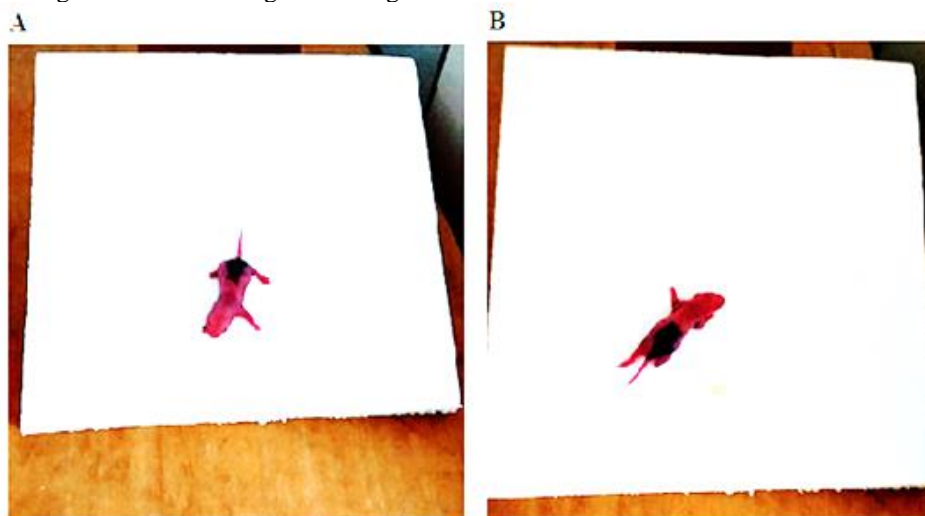
B



Fonte: Da autora

Legenda: A) Aparecimento dos incisivos inferiores
B) Presença dos pelos.

Fotografia 6 - Teste de geotaxia negativa.



Fonte: Da autora

Legenda: A) Filhote na posição inicial do teste

B) Filhote com reflexo de geotaxia negativa

5.3.8 Teste de Campo Aberto dos filhotes

O teste de Campo Aberto foi realizado conforme descrito no item 4.3.5. No entanto, foi utilizado o aparato quadrado (60 X 60 X 60 cm) (RIBEIRO *et al.*, 2020).

5.3.9 Teste de Reconhecimento de Objetos dos filhotes

O teste de Reconhecimento de Objetos avalia a habilidade do roedor em reconhecer um objeto, previamente, explorado na presença de um novo objeto não conhecido. Dois dias antes do teste, os animais foram expostos à caixa teste (10 minutos) para a habituação, com o objetivo de garantir que os animais passassem quantidade suficiente de tempo explorando os objetos e não o ambiente. O teste foi realizado no PND28-32 em uma arena quadrada (60 cm x 60 cm) com o chão coberto com maravalha.

No dia do teste, os animais foram apresentados a dois objetos idênticos (A e B) durante 10 minutos (treinamento), 2 horas após, o objeto de treinamento B foi substituído por um novo objeto C (objeto novo) e 24 horas após, o objeto C foi substituído por um novo objeto D (objeto novo). Todos os objetos apresentaram texturas e tamanhos semelhantes, mas, formas e cores

distintas. Os filhotes foram colocados, individualmente, na arena e seu comportamento foi filmado por 10 minutos para análise subsequente.

A exploração foi definida quando o animal cheirou ou tocou o objeto com o focinho. O tempo gasto pelo animal explorando os dois objetos (objeto familiar ou novo) foi registrado como uma medida de exploração de objetos. Um índice de reconhecimento (RI) foi calculado para cada animal e foi expresso pela razão: $RI = TN / (TF + TN)$, TF = tempo gasto explorando o objeto familiar (objeto A ou B); TN = tempo gasto explorando o novo objeto em 2h (objeto C) e 24h (objeto D). Entre os testes, os objetos e a arena foram, devidamente, limpos com álcool 5% (BATISTA *et al.*, 2017). A fotografia 7 mostra um animal no teste de Reconhecimento de Objetos, transcorridas 2 horas após a familiarização ou treinamento.

Fotografia 7- Teste de Reconhecimento de Objetos (memória de 2 horas)



Fonte: Da autora

5.3.10 Labirinto Aquático de Morris dos filhotes

Esse teste foi utilizado para avaliar o processo de aprendizagem e memória espacial. Para a realização do teste, foi utilizado um tanque circular, de cor azul, com as dimensões de 90 centímetros de diâmetro e 50 centímetros de altura, com uma plataforma de acrílico transparente de 35 centímetros de altura, com uma plataforma superior circular de 13 centímetros de diâmetro. O tanque foi preenchido com água até que a plataforma se encontre submersa dois centímetros abaixo da linha d'água. Para a completa invisibilidade da plataforma, foram utilizados 15 gramas de corante alimentício azul, de maneira que a água adquirisse a mesma coloração do tanque.

O animal passou por uma etapa de treinamento durante cinco dias. O treinamento consistia em quatro ensaios diários, com tempo máximo de 120 segundos cada, e intervalo de 60 segundos entre um ensaio e outro. Quando o tempo máximo do ensaio era atingido, sem que o animal encontrasse a plataforma, ele era guiado até ela. O tempo de permanência na plataforma foi de 15 segundos e o tempo de latência despendido por cada animal para alcançar a plataforma em cada ensaio, nos cinco dias da etapa de treinos, foi registrado.

O teste foi conduzido 24 horas, após o último treino, e consiste em um único ensaio, com duração de 120 segundos, sem a presença da plataforma no tanque. A análise foi realizada automaticamente pelo software *Ethovision*® (*Ethovision; Noldus Information Technology, Leesburg, VA, EUA*) e foram analisados os seguintes parâmetros: latência para alcançar a plataforma durante os treinos, e latência para chegar ao quadrante alvo no dia do teste; a distância total percorrida pelo animal e o tempo de permanência no quadrante em que estava a plataforma durante os treinos (BATINIC *et al.*, 2016). A fotografia 8 mostra um animal na plataforma de escape do Labirinto Aquático de Morris.

Fotografia 8 - Filhote em treinamento para o Labirinto Aquático de Morris.



Fonte: Da autora

5.3.11 *Western Blotting*

Após o término do teste de Reconhecimento de Objetos, os animais foram eutanasiados, o hipocampo foi dissecado e armazenado na câmara fria com temperatura de -80°C até realização do processo de *Western Blotting*. Antes de iniciar o processo de *Western Blotting* é

necessário realizar o *Bradford* (que tem por objetivo garantir que a quantidade de proteínas inseridas no processo de eletroforese em gel de poliacrilamida, seja igual para todas as amostras). Para realização desse processo as amostras foram homogeneizadas em tampão de lise com coquetel de inibidores de proteases (Sigma-Aldrich, St Louis, MO). Em seguida as amostras foram centrifugadas (9200 rpm, 15 minutos, 4°C) e a concentração das proteínas no sobrenadante foi quantificada pelo teste de Bradford.

As amostras acrescidas de tampão de lise, juntamente, com *Laemmli* foram aquecidas a 100°C por 5 minutos, e levado a geladeira por 15 minutos. As amostras foram aplicadas no gel de poliacrilamida 12 %, processo denominado de eletroforese em gel para separação das proteínas por peso molecular. Em seguida, foi realizado a transferência do conteúdo do gel de poliacrilamida para a membrana de nitrocelulose com um sistema electroforético semi-seco (Bio-Rad, Hercules, CA). Para visualização das proteínas, na membrana, foi acrescentado o corante *Ponceau* (SIGMA®) e em seguida a membrana foi lavada com tampão fosfato-salino (PBS) até a retirada total do corante. Posteriormente a membrana foi colocada em solução de bloqueio (5% de leite desnatado em PBS 0,1 M contendo *Tween* 20 a 0,05%) durante 2 horas a temperatura (21°C). Após esse processo foi lavada com PBS até a retirada do leite e incubada *overnight*, a 4 °C com determinado anticorpo primário (conforme a proteína avaliada: BDNF, DCX ou sinaptofisina).

No dia seguinte, após 3 lavagens em PBS, as membranas foram incubadas, durante 1 hora, a uma temperatura de 4 °C com anticorpo secundário específico (apenas para a sinaptofisina). Após o período de incubação, a membrana foi lavada 3 vezes em PBS e, depois, foi utilizado um *kit* de detecção comercial durante, aproximadamente, 1 a 2 minutos (*kit* de detecção ECL, Bio-Rad, Hercules, CA). As imagens de análise foram capturadas por analisador de imagem por quimioluminescência (Chemidoc, Bio-Rad, Hercules, CA). Posteriormente, as membranas passaram pelo processo de *stripping*, seguido do bloqueio em 5% de leite desnatado em PBS, durante 2 horas. Após o bloqueio, as membranas foram lavadas com PBS até a retirada do leite, seguido da incubação *overnight* a 4 °C, com anticorpo anti-actina (1:5000, Sigma Aldrich 4700).

No dia seguinte, as membranas foram lavadas 3 vezes, em PBS 0,1 M, e as membranas foram incubadas, por 1 hora, com o anticorpo secundário à 4°C (1:2000, Abcam-ab 6789). Após incubação, as membranas foram, novamente, lavadas, 3 vezes, em PBS 0,1 M. Em seguida, foi utilizado o mesmo *kit* de detecção durante, aproximadamente, 1 a 2 minutos (*kit* de detecção ECL, Bio-Rad, Hercules, CA). As imagens de análise foram capturadas por analisador de imagem - quimioluminescência (Chemidoc, Bio-Rad, Hercules, CA) - e as intensidades das

bandas foram quantificadas utilizando um *software* específico da Bio-Rad. A intensidade de cada banda foi expressa em relação à da β -actina e os dados foram expressos normalizados para o controle (RIBEIRO *et al.*, 2020).

6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados obtidos foram analisados pelo *software GraphPad* versão 8.0 e expressos como média \pm desvio padrão da média. Para comparação de dois fatores, foi utilizado a análise de variância *two way* ANOVA, seguida pelo pós-teste de *Bonferroni* e para comparação entre duas médias foi realizado o teste “t” de *Student*. No entanto, na avaliação dos fatores (sexo e estresse) para os testes realizados nos filhotes não houve diferença entre o sexo, portanto foi optado em aplicar o teste “t” de *Student* e colocar os gráficos separados em relação ao sexo. Para testar as correlações entre concentração de proteínas cerebrais (BDNF, DCX e Sinaptofisina) com o índice de reconhecimento de objetos foi utilizado teste de *Pearson*. Os resultados com $p < 0.05$ foram considerados, estatisticamente, significativos.

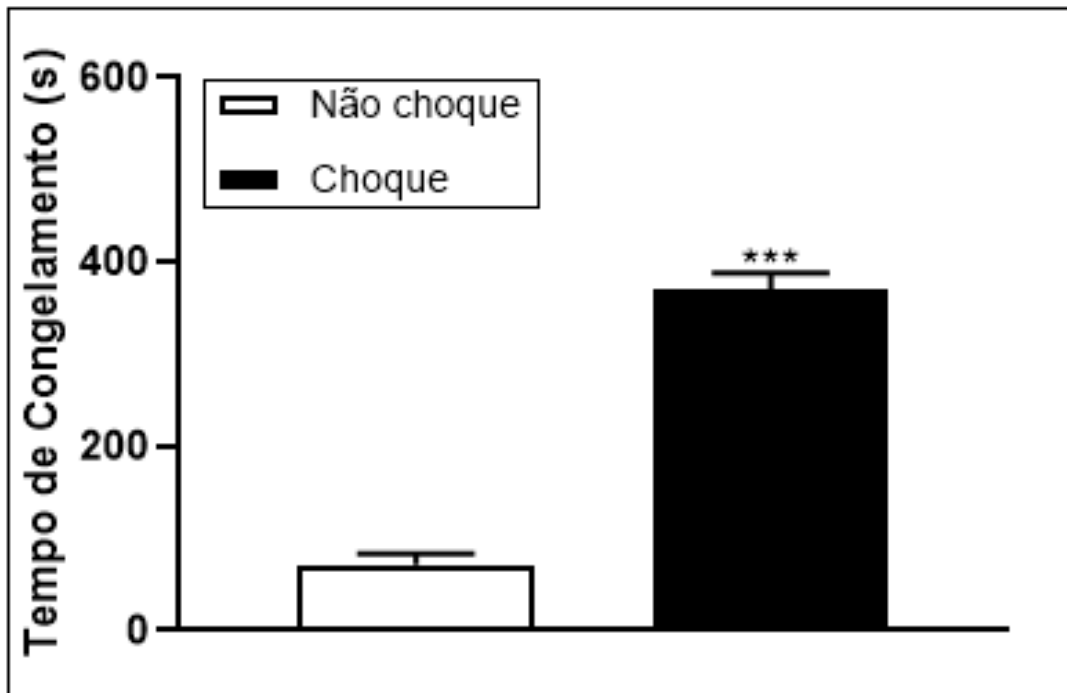
7 RESULTADOS

7.1. PROCEDIMENTOS E TESTES REALIZADOS NAS RATAS PROGENITORAS

7.1.1 Tempo de congelamento

A Figura 5 mostra o tempo de congelamento dos grupos não choque e choque (dia 2 pós-parto) quando colocados no aparato de choque (reexposição a situação traumática). A análise, através do teste “t” de *Student*, mostrou um aumento do tempo de congelamento do grupo choque em relação ao grupo não choque ($p < 0,0001$).

Figura 5 – Efeitos do TEPT gestacional no tempo de congelamento após reexposição a caixa indutora de choque das ratas progenitoras dos grupos não choque (n=10) e choque (n=10).



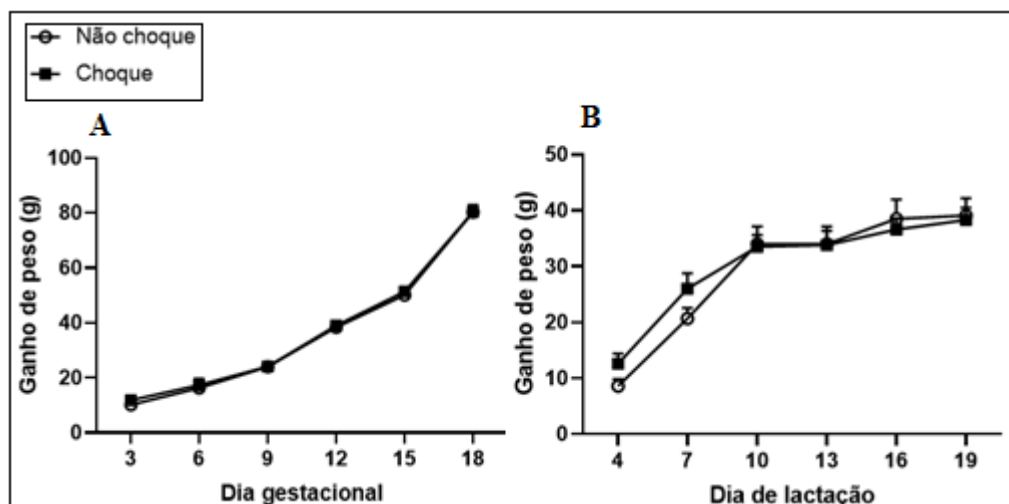
Fonte: Da autora

Legenda: Os valores foram expressos como média \pm SEM *** $p < 0,001$ quando o grupo choque (não choque) foi comparado com o grupo controle (teste "t" Student).

7.1.2 Avaliação do ganho de peso durante o período gestacional e de lactação

A Figura 6 (A) mostra o ganho de peso das ratas prenhas nos dias gestacional (0,3,6,9,12,15 e 18) e (B) o ganho de peso nos dias de lactação (4,7,10,13,16 e 19). A análise, através da ANOVA *two-way*, demonstrou que não houve efeito no fator choque ($F_{1,108} = 0,6795$, $p = 0,412$), houve efeito no fator dia ($F_{5,108} = 450,8$ $p < 0,001$) e não ocorreu interação entre os dois fatores ($F_{5,108} = 0,7364$ $p = 0,6795$).

Figura 6 – Efeitos do TEPT gestacional no ganho de peso das ratas não choque (n=10) e choque (n=10).



Fonte: Da autora

Legenda: Gráfico A) Ganho de peso no período gestacional (DG 3-18)

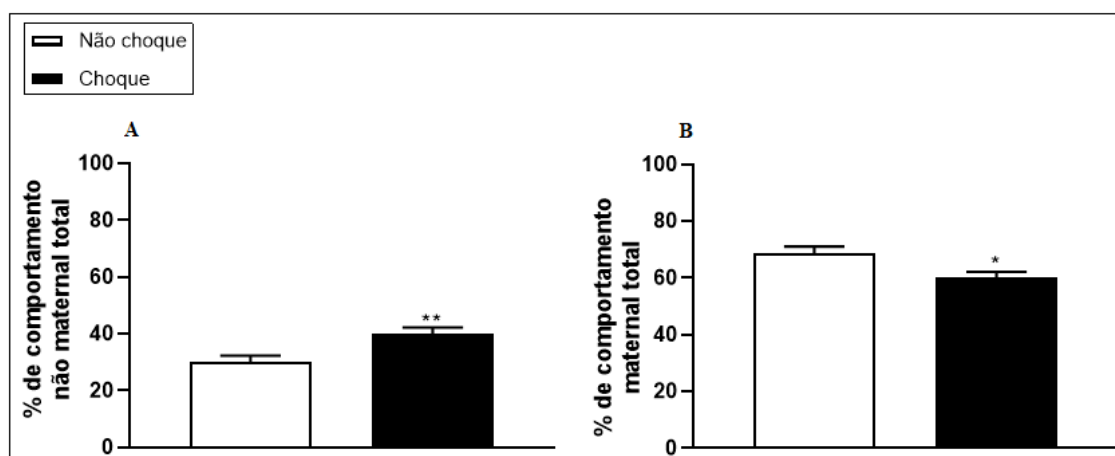
Gráfico B) Ganho de peso no período de lactação (DPP 4-19)

Os valores foram expressos como média \pm SEM (teste ANOVA *two-way*).

7.1.3 Comportamento materno

A Figura 7 (A) mostra o comportamento não materno total (%) e (B) revela o comportamento materno total (%) das ratas do grupo não choque e choque. Foram realizadas um total de 60 observações diárias durante um período de 7 dias. A análise, através do teste “t” de *Student*, mostrou que o grupo choque apresentou maior porcentagem de comportamento não maternal em relação ao grupo não choque ($p=0,0052$). O grupo choque também obteve menor porcentagem de comportamentos maternais em relação ao grupo não choque ($p=0,0146$).

Figura 7 – Efeitos do TEPT gestacional no comportamento materno total das ratas progenitoras dos grupos não choque ($n=10$) e choque ($n=10$).



Fonte: Da autora

Legenda: Gráfico A) Comportamento não maternal total (%)

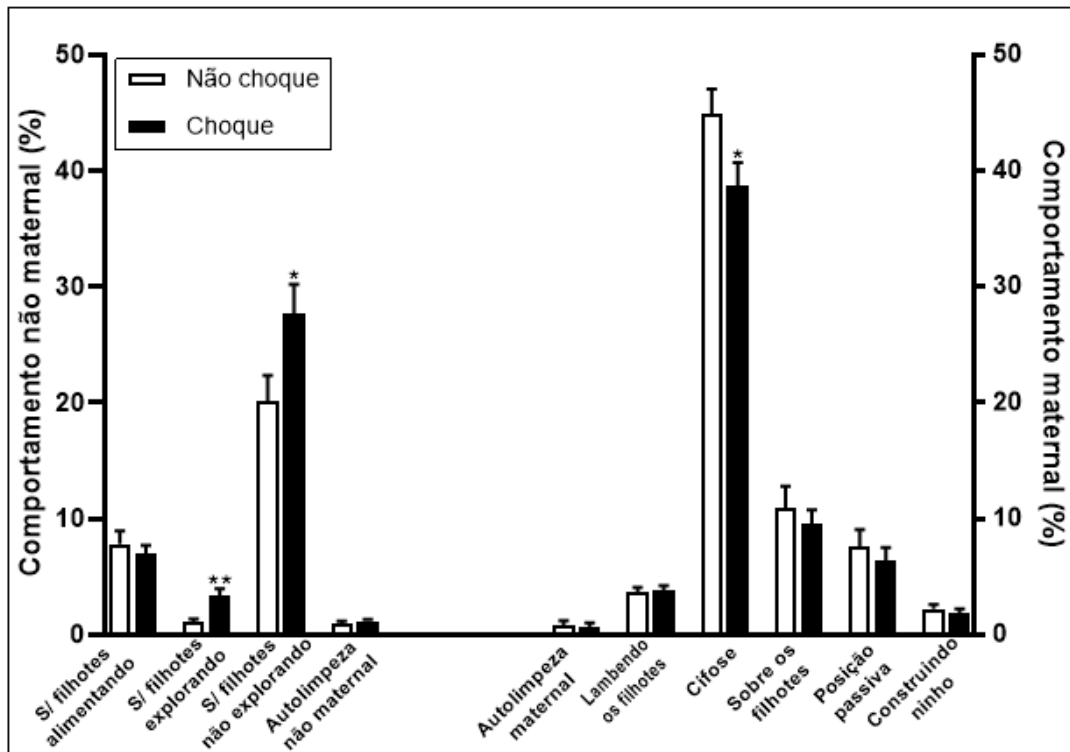
Gráfico B) Comportamento maternal total (%)

Os valores foram expressos como média \pm SEM * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ (teste “t” *Student*).

A Figura 8 mostra o comportamento das ratas junto a sua prole, sendo inclusos os parâmetros maternais (autolimpeza maternal; lambadura dos filhotes; cifose ou posição arqueada sobre os filhotes; posição passiva e construção do ninho), e os parâmetros não maternais (sem os filhotes alimentando; sem os filhotes explorando; sem os filhotes não explorando; autolimpeza não maternal). A figura revela a porcentagem de cada parâmetro em específico. Neste sentido, a análise, através do teste “t” de *Student*, apontou que o grupo choque em relação ao grupo não choque apresentou: maior porcentagem de vezes sem os filhotes explorando ($p= 0,0065$) e maior porcentagem de vezes sem os filhotes não explorando

($p=0,0216$). Em relação ao parâmetro maternal, cifose, o grupo choque apresentou menor porcentagem de vezes nesta posição comparado ao grupo não choque ($p= 0,0171$). As ratas do grupo choque apresentaram aumento dos parâmetros não maternais e redução de um parâmetro maternal em relação ao controle. Para os demais indicadores avaliados, o teste “t” de *Student* não demonstrou diferenças entre os grupos analisados ($p>0,05$).

Figura 8 – Efeitos do TEPT gestacional no comportamento das lactantes para com a prole dos grupos não choque (n=10) e choque (n=10).



Fonte: Da autora

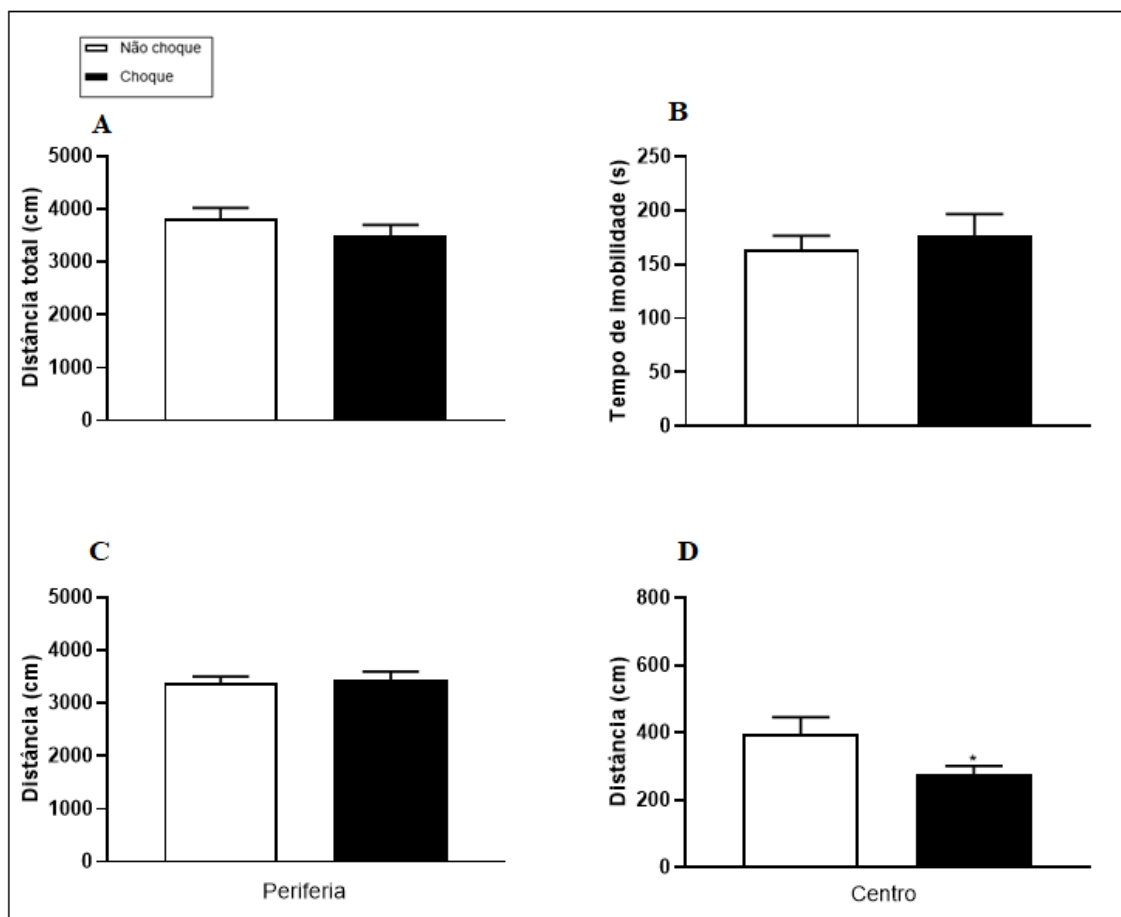
Legenda: (Esquerda) Comportamento não maternal específico (%)
(Direita) Comportamento maternal específico (%)

Nota: Os valores foram expressos como média \pm SEM ** $p<0,01$ e * $p<0,05$ (teste “t” *Student*).

7.1.4 Locomoção e comportamento tipo ansioso no teste de Campo Aberto

A Figura 9 externa o comportamento das ratas no teste de Campo Aberto. Em (A), a distância total movida durante o teste, (B) distância movida na periferia e no centro, e (C) o tempo que os animais ficaram imóveis. A análise, através do teste “t” de *Student*, mostrou que o grupo choque apresentou menor distância percorrida no centro, em relação ao grupo não choque ($p=0,0437$). Já a distância total percorrida e o tempo de imobilidade, não diferiram entre os grupos ($p>0,05$).

Figura 9 – Efeitos do TEPT gestacional na locomoção e comportamento tipo ansioso dos grupos não choque (n=10) e choque (n=10).



Fonte: Da autora

Legenda: Gráfico (A) distância total percorrida (cm)

Gráfico (B) tempo de imobilidade (s)

Gráfico (C) distância percorrida na periferia (cm)

Gráfico (D) distância percorrida no centro (cm).

Os valores foram expressos como média \pm SEM * $p < 0,05$ (teste "t" Student).

Nota: (A) e (B) avaliam locomoção e (C) e (D) avaliam o comportamento tipo ansioso.

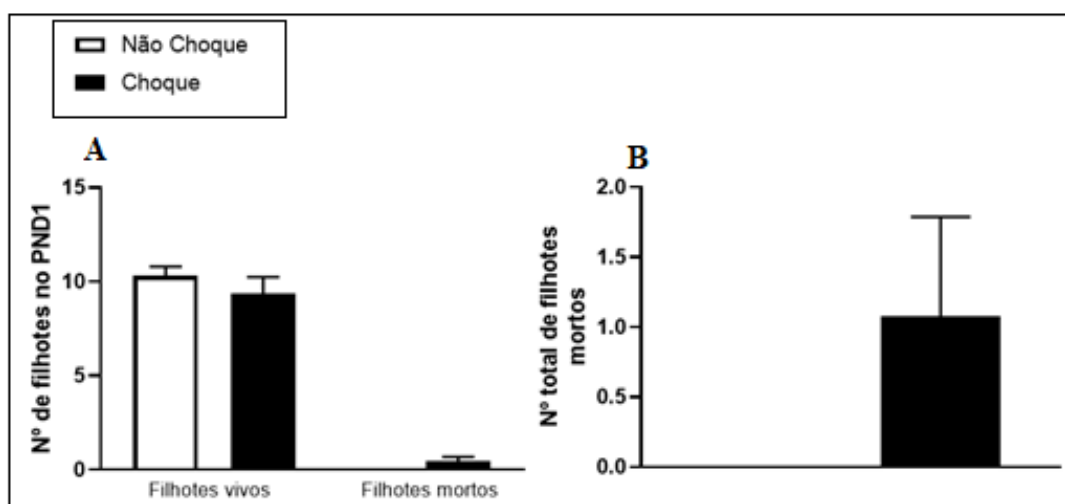
7.2 TESTES E PROCEDIMENTOS REALIZADOS NA PROLE (FÊMEA E MACHO)

7.2.1 Ninhadas no dia 1 e 2 pós-parto (DPP1-2)

A Figura 10 (A) mostra a avaliação da ninhada em relação a quantidade de animais encontrados vivos e mortos no dia 1 pós-parto e, em (B), a soma de todos os filhotes que morreram no dia 1 pós-parto e no dia 2 pós-parto. A avaliação foi marcada até o dia 2 pós-parto, pois esse foi o período máximo para encontrar algum filhote morto.

A análise, através do teste “t” de *Student*, revelou que o número de filhotes vivos e mortos não diferiram entre os grupos. A tabela 1 aponta o número total de ratas que perderam os filhotes, assim como as ratas que apresentaram atraso ou adiantamento do nascimento dos filhotes.

Figura 10 - Efeitos do TEPT gestacional no número de filhotes vivos e mortos. Grupo não choque (n=10) e grupo choque (n=14).



Fonte: Da autora

Legenda: Gráfico (A) Número de filhotes vivos e mortos no DPP1

Gráfico (B) Número total de filhotes mortos até o DPP2

Os valores foram expressos como média \pm SEM (teste “t” *Student*).

Tabela 1 - Prevalência de mães que perderam filhotes, atrasaram ou adiantaram o parto

Parâmetro	Controle (não choque)	Choque
Nº de ratas que perderam filhotes	0	3 (21,4%)
Nº de ratas que atrasaram* o parto	0	3 (21,4%)
Nº de ratas que adiantaram# o parto	0	1 (7,1%)

Fonte: Da autora

Nota: controle (n=10) choque (n=14). Foi considerado o dia 22 da gestação para nascimento dos filhotes.

*dia 23 da gestação.

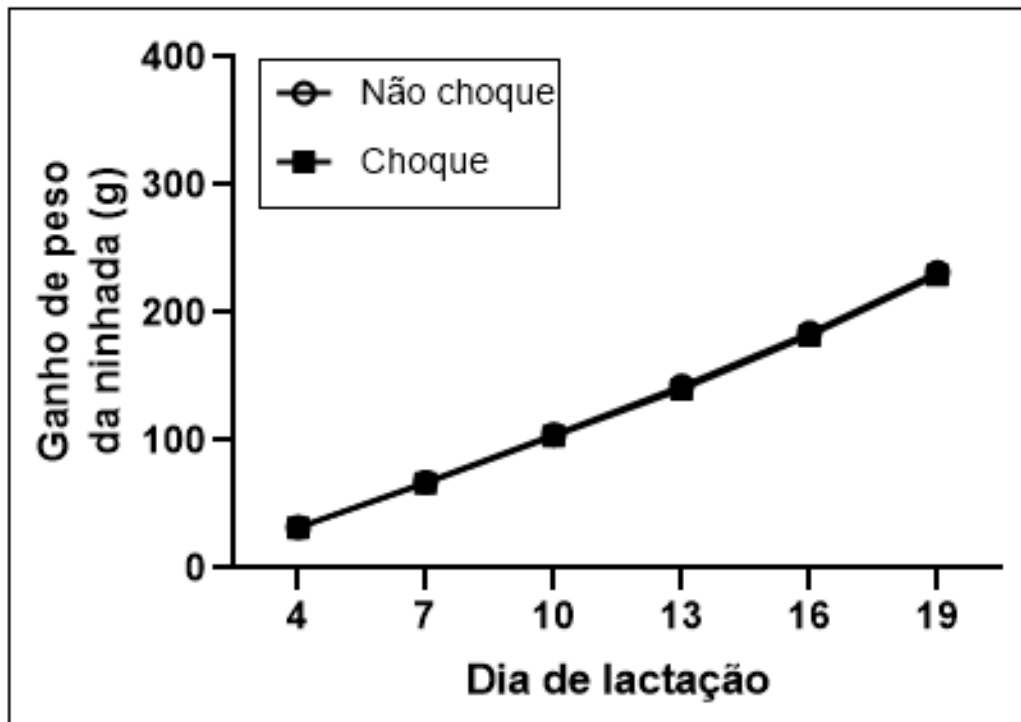
dia 21 da gestação.

7.2.2 Ganho de peso da ninhada (DPP 4-19) e dos filhotes (pós-desmame)

A Figura 11 mostra o ganho das ninhadas nos dias de lactação (4,7,10,13,16 e 19). A análise, através do pós-teste *Bonferroni's*, aponta que os grupos não diferiram entre si. A

análise, através da ANOVA *two-way*, indicou que não ocorreu efeito do fator choque ($F_{1,108} = 1,018$, $p = 0,3153$), ocorreu efeito no fator dia ($F_{5,108} = 1275$ $p < 0,001$) e não ocorreu interação entre os dois fatores ($F_{5,108} = 0,0561$ $p = 0,9979$).

Figura 11 - Efeitos do TEPT gestacional no ganho de peso da ninhada no período de lactação. Grupos de progenitoras não choque (n=10) e choque (n=10).

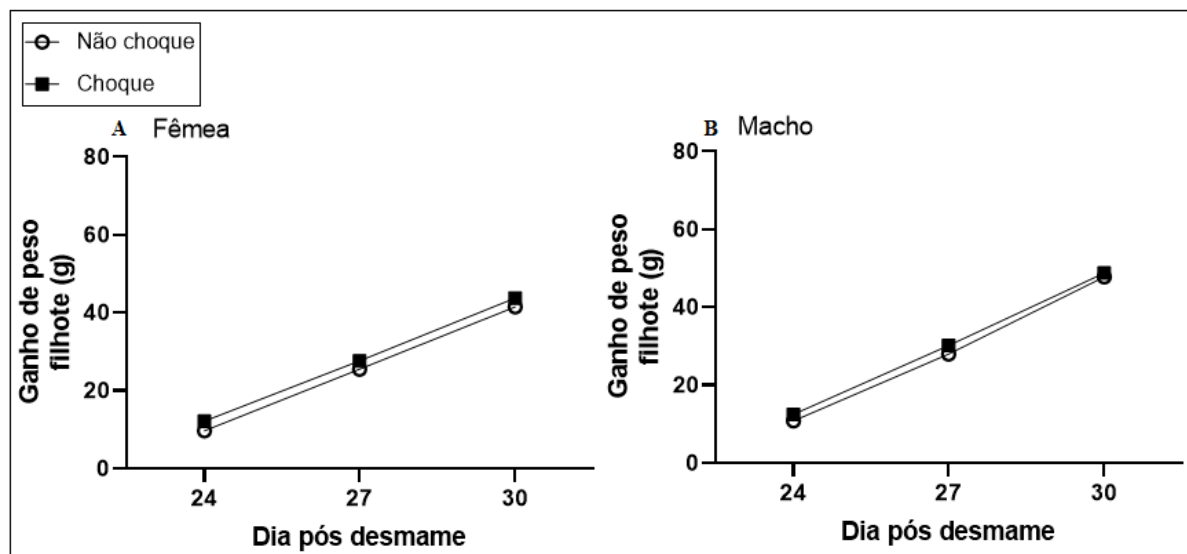


Fonte: Da autora

Os valores foram expressos como média \pm SEM (teste ANOVA *two-way* seguido do pós-teste *Bonferroni*).

A Figura 12 mostra o ganho de peso dos filhotes nos dias de lactação (24, 27 e 30), em (A), fêmeas, e, em (B), machos. A análise, através do pós-teste *Bonferroni*'s, mostrou que, em ambos os sexos, os grupos não diferiram entre si. Para (A) fêmea, a análise, através da ANOVA *two-way*, apontou que houve efeito no fator choque ($F_{1,174} = 11,78$, $p = 0,0007$), houve efeito no fator dia ($F_{2,174} = 759,9$ $p < 0,0001$) e não ocorreu interação entre os dois fatores ($F_{2,174} = 0,0189$, $p = 0,9812$). Para (B) machos, a análise, através da ANOVA *two-way*, revelou que houve efeito no fator choque ($F_{1,174} = 3,954$, $p = 0,0483$), houve efeito no fator dia ($F_{2,174} = 700,6$, $p < 0,0001$) e não ocorreu interação entre os dois fatores ($F_{2,174} = 0,2046$, $p = 0,8152$).

Figura 12 - Efeitos do TEPT gestacional no ganho de peso dos filhotes no desmame (dia 22 pós-parto).
Grupos dos filhotes de mães não choque (n=30) e choque (n=30).



Fonte: Da autora

Legenda: Gráfico (A) fêmea

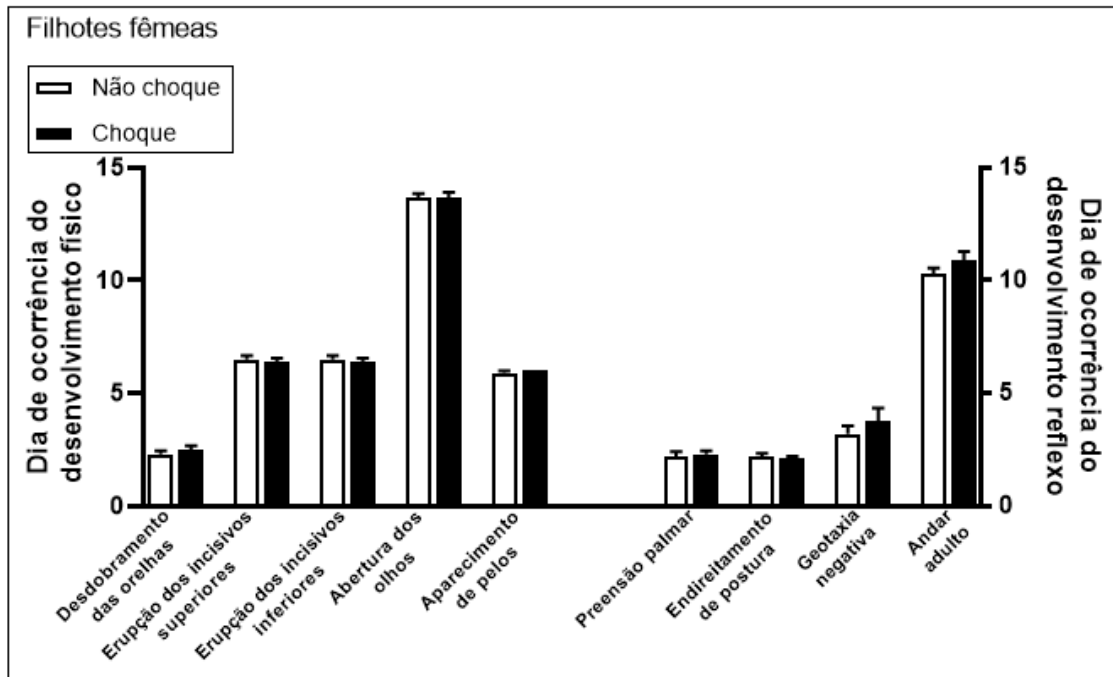
Gráfico (B) macho

Nota: Os valores foram expressos como média \pm SEM (teste ANOVA *two-way* seguido do pós-teste *Bonferroni*).

7.2.3 Desenvolvimento físico e reflexo dos filhotes

A Figura 13 mostra o desenvolvimento físico (desdobramento das orelhas; erupção dos incisivos inferiores e superiores; abertura dos olhos; aparecimento de pelos) e o desenvolvimento do reflexo (preensão palmar; endireitamento de postura; geotaxia negativa; andar adulto) dos filhotes fêmeas de mães não choque e choque. A análise, através do teste “t” de *Student*, revelou que ambos os grupos não diferiram entre si para todos os parâmetros avaliados ($p > 0,05$).

Figura 13 - Efeitos do TEPT gestacional no desenvolvimento físico e reflexo dos filhotes. Grupo de filhotes fêmeas de mães não choque (n=10) e filhotes fêmeas de mães choque (n=10).

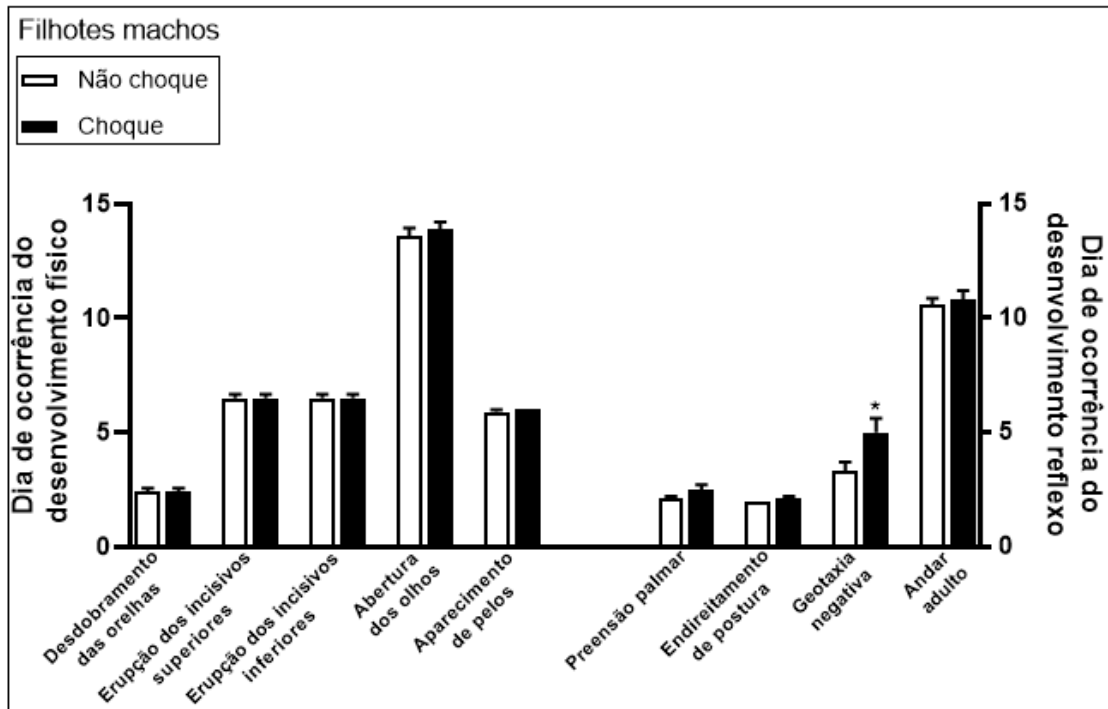


Fonte: Da autora

Nota: Os valores foram expressos como média \pm SEM $p > 0,05$ quando o grupo choque é comparado com o grupo controle (teste "t" Student).

A Figura 14 mostra o desenvolvimento físico e o desenvolvimento reflexo dos filhotes machos de mães não choque e choque. A análise, através do teste "t" de Student, indicou que o grupo choque apresentou maior tempo para realização do reflexo de geotaxia negativa, em relação ao grupo controle ($p = 0,0384$), e para os demais parâmetros, os grupos não diferiram entre si ($p > 0,05$).

Figura 14 - Efeitos do TEPT gestacional no desenvolvimento físico e reflexo dos filhotes machos. Grupo de filhotes das progenitoras não choque (n=10) e choque (n=10).



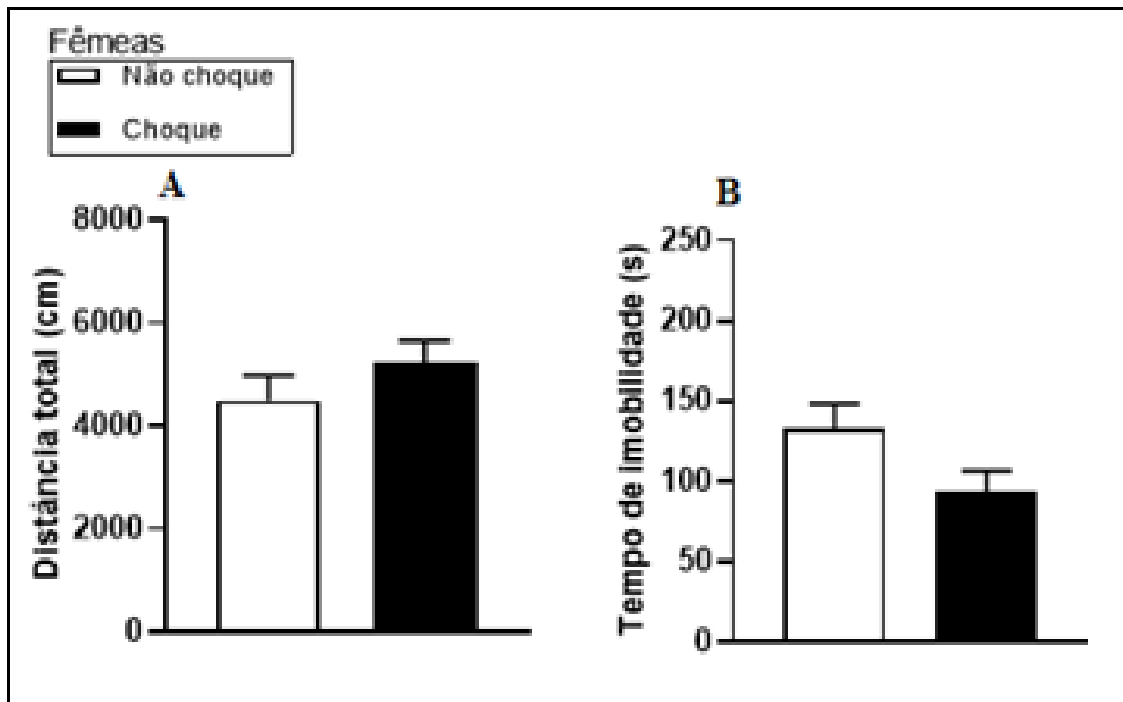
Fonte: Da autora

Nota: Os valores foram expressos como média \pm SEM * $p < 0,05$, quando o grupo choque é comparado com o grupo controle (teste "t" Student).

7.2.4 Locomoção no teste de Campo Aberto

A Figura 15 mostra o comportamento dos filhotes fêmeas no teste de Campo Aberto. Em (A), a distância total movida durante o teste. Em (B), o tempo que os animais ficaram imóveis, já (C), a distância movida na periferia e no centro. A análise, através do teste "t" de Student, revelou que os grupos não diferiram entre si em relação a distância total percorrida ($p=0,2728$), nem em relação ao tempo de imobilidade ($p=0,0705$).

Figura 15 - Efeitos do TEPT gestacional na locomoção dos filhotes fêmeas. Grupo de filhotes das progenitoras não choque (n=10) e choque (n=10).



Fonte: Da autora

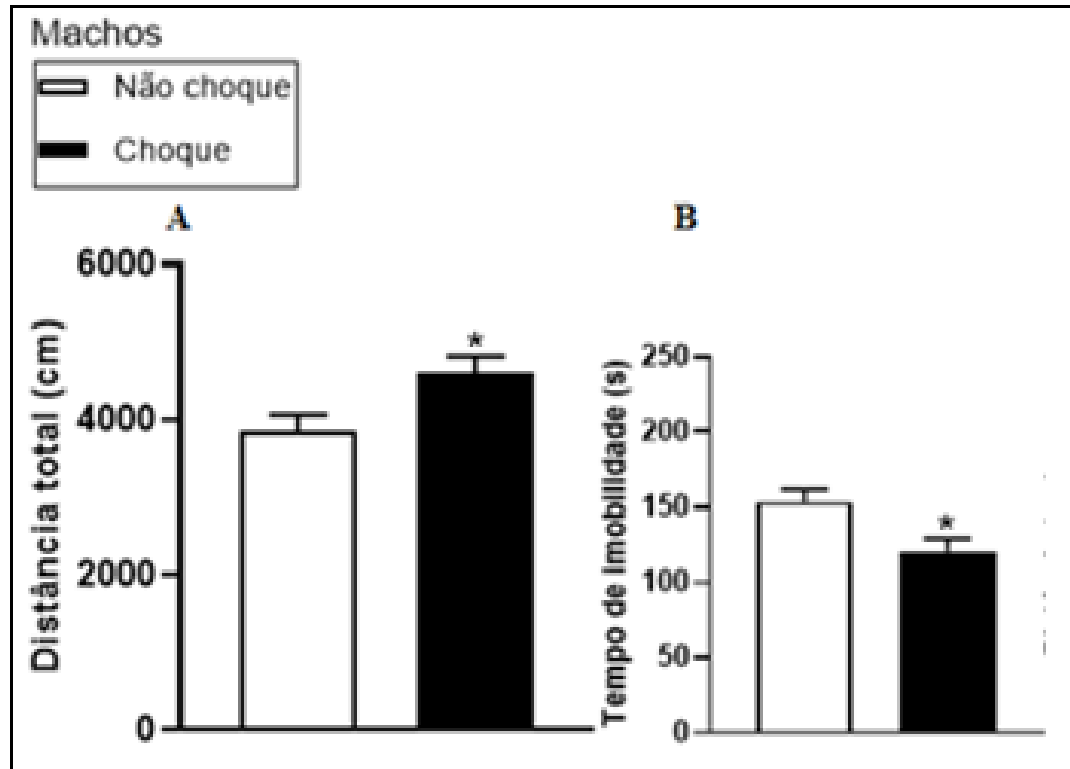
Legenda: Gráfico (A): distância total percorrida (cm)

Gráfico (B): tempo de imobilidade (s)

Nota: Os valores foram expressos como média \pm SEM * $p < 0,05$ (teste "t" Student).

A Figura 16 mostra o comportamento dos filhotes machos no teste de Campo Aberto. Em (A), a distância total movida durante o teste e, em (B), o tempo que os animais ficaram imóveis. A análise, através do teste "t" de Student, apontou que o grupo choque, comparado ao grupo não choque, apresentou maior distância total percorrida ($p=0,0271$) e menor tempo de imobilidade ($p= 0,0123$).

Figura 16 - Efeitos do TEPT gestacional na locomoção dos filhotes machos. Grupos de filhotes das progenitoras não choque (n=10) e choque (n=10)



Fonte: Da autora

Legenda: Gráfico A) distância total percorrida (cm)

Gráfico B) tempo de imobilidade (s)

Nota: Os valores foram expressos como média \pm SEM * $p < 0,05$ (teste "t" Student).

7.2.5 Memória de Reconhecimento de objetos

Segue abaixo a tabela 2 com os resultados TWO-WAY ANOVA e de acordo com a tabela pode-se observar que não houve diferenças para o fator sexo, encontramos, portanto, diferenças importantes no fator tratamento.

Tabela 2 - Resultados para os testes de memória e quantificação de proteínas através da análise TWO-WAY ANOVA.

<i>Resultados TWO-WAY ANOVA</i>			
Reconhecimento de Objetos	Fator tratamento	Fator sexo	Interação – tratamento x sexo
IR (2 horas)	F (1, 36) = 8,106 p=0,0072	F (1, 36) = 6,018 p=0,0191	F (1, 36) = 1,804; p=0,1877
IR (24 horas)	F (1, 36) = 22,68 p<0,0001	F (1, 36) = 2,667 p=0,1112	F (1, 36) = 0,0026; p=0,9592
Labirinto Aquático de Morris			
Distância percorrida	F (1, 36) = 3,871 p=0,0569	F (1, 36) = 0,03443 p=0,8538	F (1, 36) = 0,1937; p=0,6625
Latência	F (1, 36) = 10,45 p=0,0026	F (1, 36) = 2,313 p=0,1370	F (1, 36) = 0,9036; p=0,3482
Tempo no quadrante alvo	F (1, 36) = 10,04 p=0,0031	F (1, 36) = 1,073 p=0,3072	F (1, 36) = 0,9889; p=0,3267
Frequência no quadrante alvo	F (1, 36) = 0,4890 p=0,4889	F (1, 36) = 0,1010 p=0,7524	F (1, 36) = 3,399; p=0,0735
Western Blotting			
BDNF	F (1, 18) = 1,007 p= 0,3290	F (1, 18) = 0,09194 p=0,7652	F (1, 18) = 1,660; p=0,2140
DCX	F (1, 25) = 0,5980 p=0,4466	F (1, 25) = 3,791 p=0,0628	F (1, 25) = 3,791; p=0,0628
Sinaptofisina	F (1, 19) = 0,4901 p=0,4924	F (1, 19) = 0,2796 p=0,6031	F (1, 19) = 0,2796; p=0,6031

Fonte: Da autora

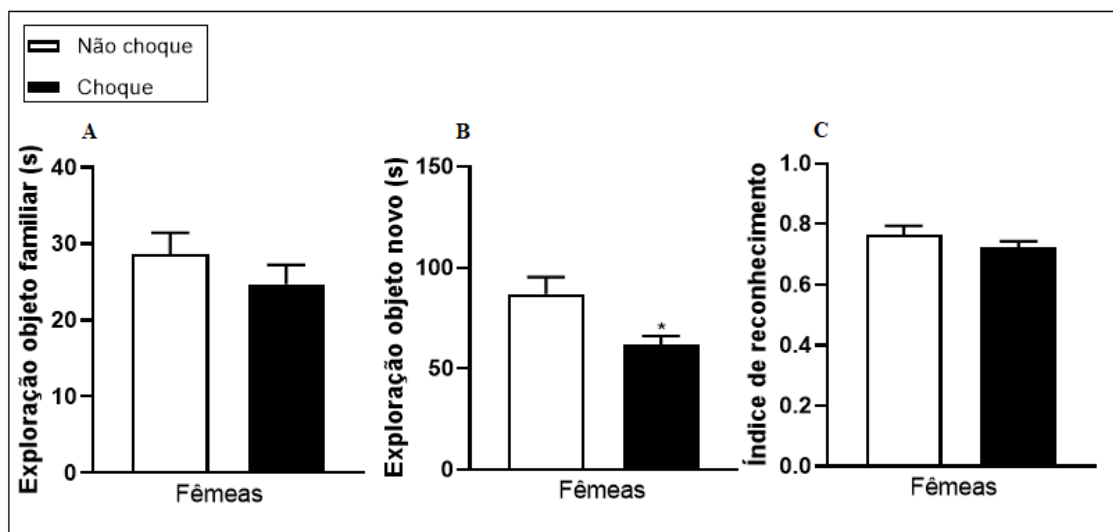
Nota: Para os testes de memória grupo de filhotes provindos de mães choque (n=10) e provindos de mães não choque (n=10) para fêmeas e machos. Para Western Blotting BDNF: filhotes fêmeas e machos de mães não choque (n=5) e filhotes fêmeas e machos de mães choque (n=6); DCX: filhotes fêmeas e machos de mães não choque (n=7) e filhotes fêmeas e machos de mães choque (n=7) e Sinaptofisina: filhotes fêmeas (n=5) e machos (n=6) de mães não choque (n=5) e filhotes fêmeas e machos de mães choque (n=6).

IR (índice de reconhecimento de objetos).

A Figura 17 externa a memória de reconhecimento de objetos após 2 horas da familiarização dos objetos dos filhotes fêmeas de mães que receberam, ou não, choque na pata. A análise, através do teste “t” de *Student*, mostrou que o grupo choque apresentou menor tempo explorando o objeto novo, em relação ao grupo não choque ($p = 0,0160$). Para a exploração no objeto familiar e índice de reconhecimento, os grupos não diferiram entre si.

Figura 17 – Efeitos do TEPT gestacional na da memória de reconhecimento de objetos de curto prazo (2 horas).

Grupos de filhotes fêmeas de progenitoras choque (n=10) e não choque (n=10).



Fonte: Da autora

Legenda: Gráfico A) tempo explorando o objeto familiar (s)

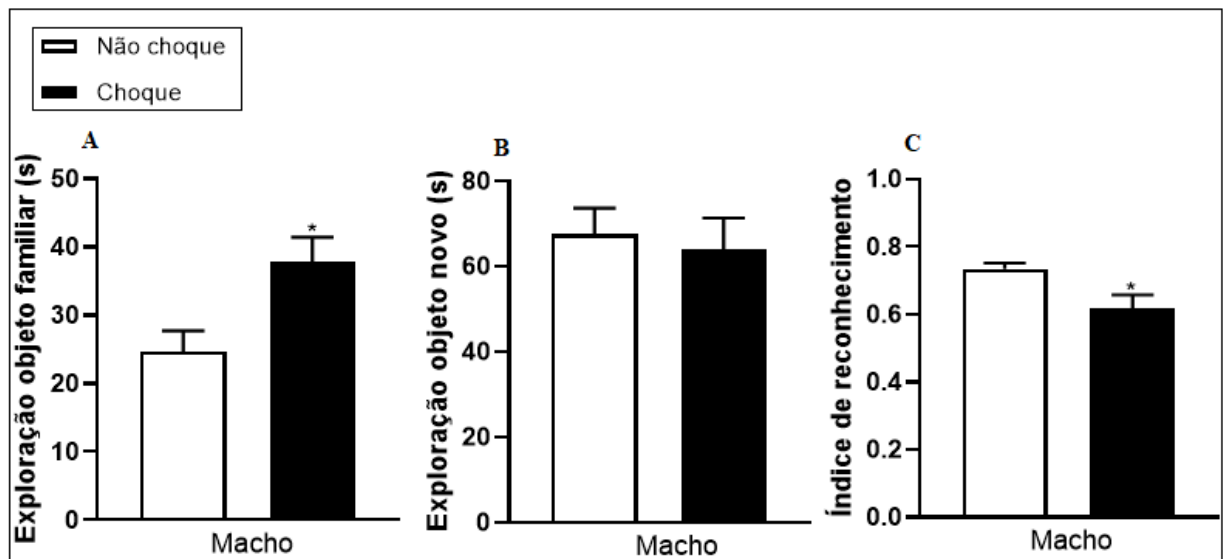
Gráfico B) o tempo explorando o objeto novo (s)

Gráfico C) o índice reconhecimento de objetos (tempo no objeto novo/tempo no objeto novo + tempo no objeto familiar).

Nota: Os valores foram expressos como média \pm SEM * $p < 0,05$ e ** $p < 0,01$ quando o grupo choque é comparado com o grupo controle (teste “t” *Student*).

A Figura 18 mostra a memória de reconhecimento de objetos após 2 horas da familiarização dos objetos dos filhotes machos de mães que receberam ou não choque na pata. A análise, através do teste “t” de *Student*, mostrou que o grupo choque, em relação ao grupo não choque, apresentou maior tempo explorando o objeto familiar ($p = 0,0128$) e menor índice de reconhecimento de objetos ($p = 0,0157$). Para a exploração no objeto novo, os grupos não diferiram entre si.

Figura 18 – Efeitos do TEPT gestacional na memória de reconhecimento de objetos de 2 horas dos filhotes machos. Grupo de filhotes das progenitoras choque (n=10) e não choque (n=10).



Fonte: Da autora

Legenda: Gráfico A) tempo explorando o objeto familiar (s)

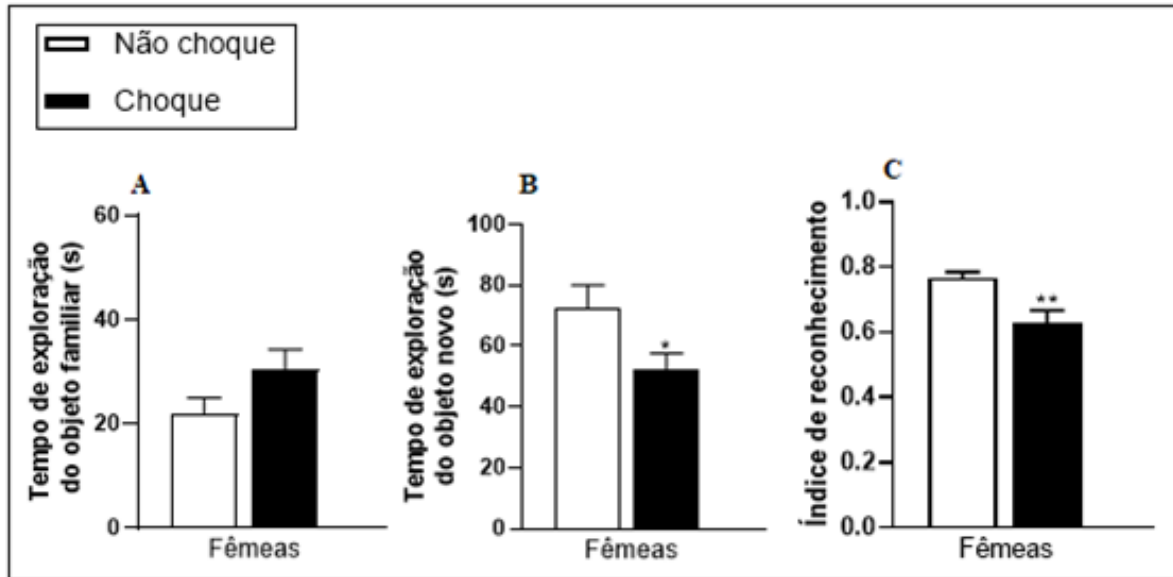
Gráfico B) tempo explorando o objeto novo (s)

Gráfico C) índice reconhecimento de objetos (tempo no objeto novo/tempo no objeto novo + tempo no objeto familiar)

Nota: Os valores foram expressos como média \pm SEM * $p < 0,05$ e ** $p < 0,01$ quando o grupo choque é comparado com o grupo controle (teste “t” Student).

A Figura 19 mostra a memória de reconhecimento de objetos após 24 horas da familiarização dos objetos dos filhotes fêmeas gerados por mães que receberam, ou não, choque na pata. A análise, através do teste “t” de Student, mostrou que o grupo choque, em relação ao grupo não choque, apresentou menor tempo explorando o objeto novo ($p=0,0425$) e menor índice de reconhecimento dos objetos ($p=0,0043$). Para o tempo explorando o objeto familiar, os grupos não diferiram entre si ($p=0,0984$).

Figura 19 - Efeitos do TEPT gestacional na da memória de reconhecimento de objetos de 24 horas dos filhotes fêmeas. Grupos de filhotes das progenitoras do grupo choque (n=10) e grupo não choque (n=10).



Fonte: Da autora

Legenda: Gráfico A) tempo explorando o objeto familiar (s)

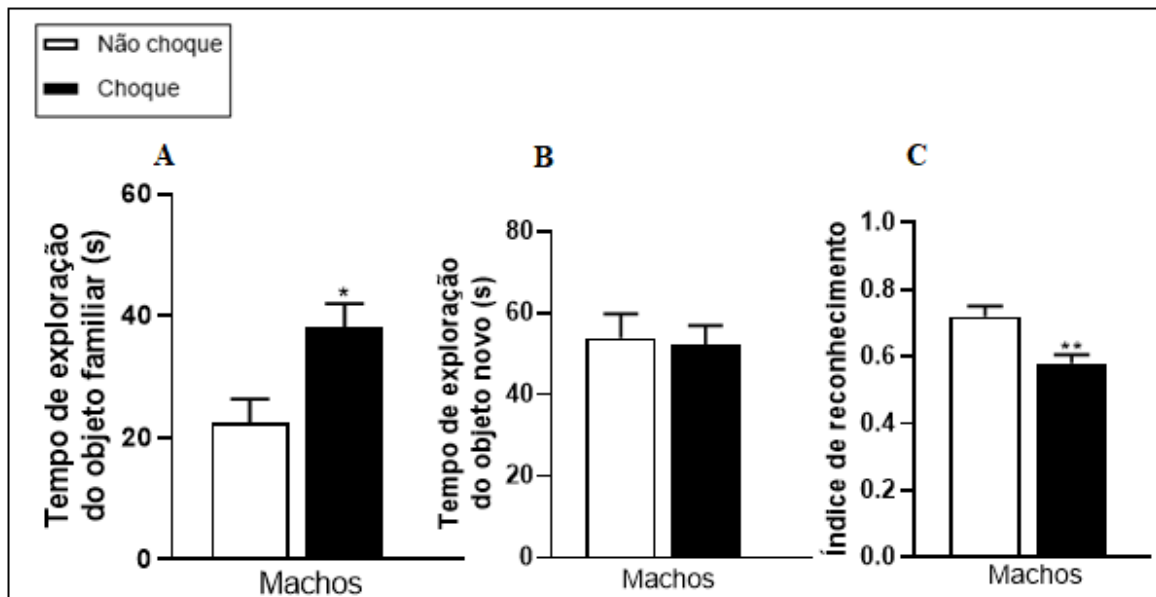
Gráfico B) tempo explorando o objeto novo (s)

Gráfico C) índice reconhecimento de objetos (tempo no objeto novo/tempo no objeto novo + tempo no objeto familiar)

Nota: Os valores foram expressos como média \pm SEM * $p < 0,05$ e ** $p < 0,01$ quando o grupo choque é comparado com o grupo controle (teste "t" Student).

A Figura 20 revela a memória de reconhecimento de objetos após 24 horas da familiarização dos objetos dos filhotes machos gerados por mães que receberam, ou não, choque na pata. A análise, através do teste "t" de Student, mostrou que o grupo choque, em relação ao grupo não choque, apresentou maior tempo de exploração no objeto familiar ($p=0,0123$) e menor índice de reconhecimento dos objetos ($p=0,0027$). Para o tempo explorando o objeto novo, os grupos não diferiram entre si ($p=0,8067$).

Figura 20 - Efeitos do TEPT gestacional na da memória de reconhecimento de objetos de 24 horas dos filhotes machos. Grupos de filhotes das progenitoras choque (n=10) e não choque (n=10).



Fonte: Da autora

Legenda: Gráfico A) tempo explorando o objeto familiar (s)

Gráfico B) tempo explorando o objeto novo (s)

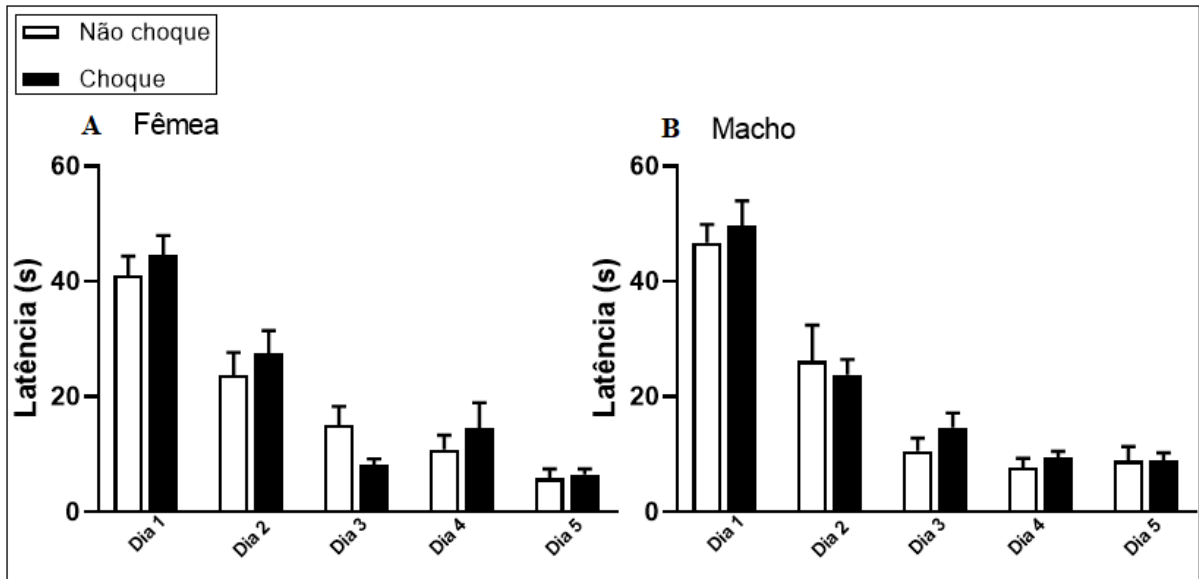
Gráfico C) índice reconhecimento de objetos (tempo no objeto novo/tempo no objeto novo + tempo no objeto familiar)

Nota: Os valores foram expressos como média \pm SEM * $p < 0,05$ e ** $p < 0,01$ quando o grupo choque é comparado com o grupo controle (teste "t" Student).

7.2.6 Aprendizagem e memória espacial no teste de Labirinto de Morris

A Figura 21 mostra a latência para encontrar a plataforma de escape nos dias 1 a 5 de treinamento dos filhotes (A) fêmea e (B) macho. A análise, através do teste "t" de Student, mostrou que os grupos não diferiram entre si em nenhum dos dias avaliados ($p > 0,05$).

Figura 21 - Efeitos do TEPT gestacional na aprendizagem espacial no teste do Labirinto de Morris dos filhotes fêmeas e machos. Grupos de filhotes das progenitoras choque (n=10) e não choque (n=10).



Fonte: Da autora

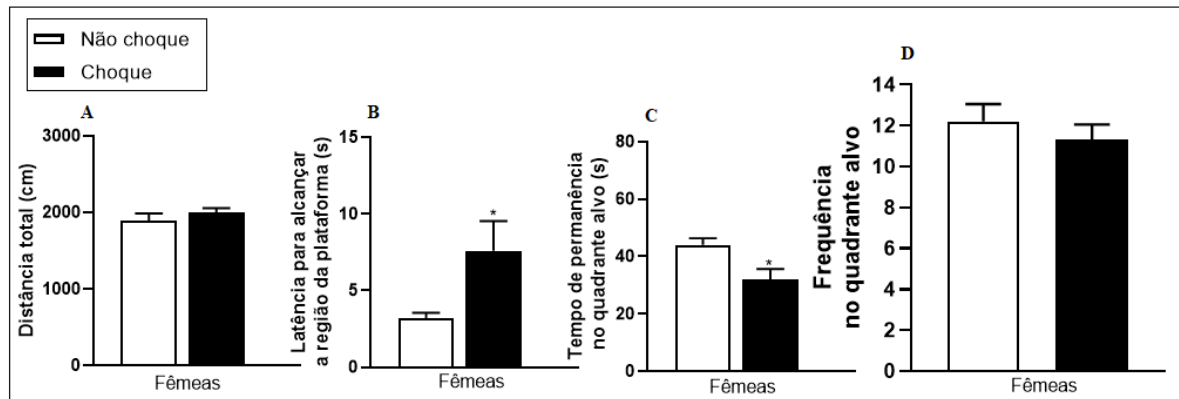
Legenda: Gráfico A) filhotes fêmeas

Gráfico B) filhotes machos

Nota: Os valores foram expressos como média \pm SEM (teste "t" Student).

A Figura 22 mostra a avaliação da memória espacial no teste de Labirinto de Morris para os filhotes fêmeas (A) distância total de nado (B) latência para o quadrante alvo (C) tempo de permanência no quadrante alvo e (D) frequência de entradas no quadrante alvo. A análise, através do teste "t" de Student, mostrou que o grupo choque, em relação ao grupo não choque, apresentou maior latência para alcançar o quadrante alvo ($p=0,0391$) e menor tempo de permanência no quadrante alvo ($p=0,0139$). Para a distância total percorrida e a frequência de entradas no quadrante alvo, os grupos não diferiram entre si ($p=0,3748$ e $p=0,4377$ respectivamente).

Figura 22 - Efeitos do TEPT gestacional na memória espacial no teste do Labirinto de Morris dos filhotes fêmeas. Grupos de filhotes de progenitoras choque (n=10) e não choque (n=10).



Fonte: Da autora

Legenda: Gráfico A) distância total percorrida (cm)

Gráfico B) latência para chegar na região da plataforma (s)

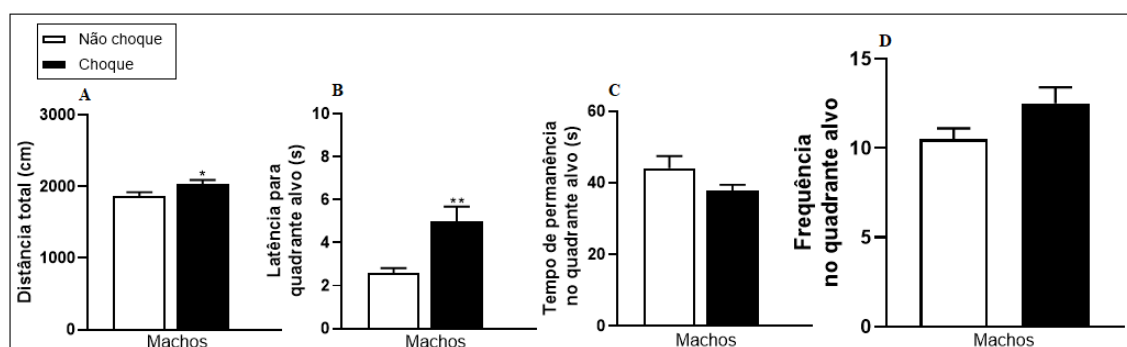
Gráfico C) tempo de permanência no quadrante alvo (s)

Gráfico D) frequência no quadrante alvo (número de vezes)

Nota: Os valores foram expressos como média \pm SEM (teste “t” Student)

A Figura 23 mostra a avaliação da memória espacial no teste de Labirinto de Morris para os filhotes machos. A análise, através do teste “t” de Student, demonstrou que o grupo choque, em relação ao grupo não choque, apresentou maior distância total de nado ($p=0,0400$), maior latência para alcançar o quadrante alvo ($p=0,0036$). Para o tempo de permanência no quadrante alvo e para a frequência de entradas no quadrante alvo, os grupos não diferiram entre si ($p=0,1092$ e $0,0832$, respectivamente).

Figura 23 - Efeitos do TEPT gestacional na memória espacial no teste do Labirinto de Morris dos filhotes machos. Grupos de filhotes de progenitoras choque (n=10) e não choque (n=10).



Fonte: Da autora

Legenda: Gráfico A) distância total percorrida (cm)

Gráfico B) latência para chegar na região da plataforma (s)

Gráfico C) tempo de permanência no quadrante alvo (s)

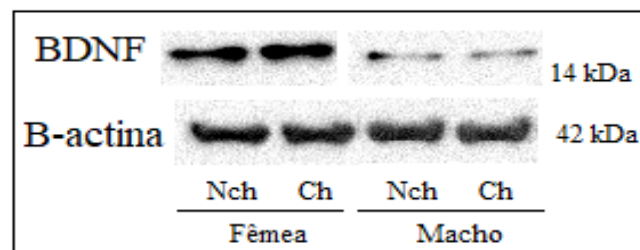
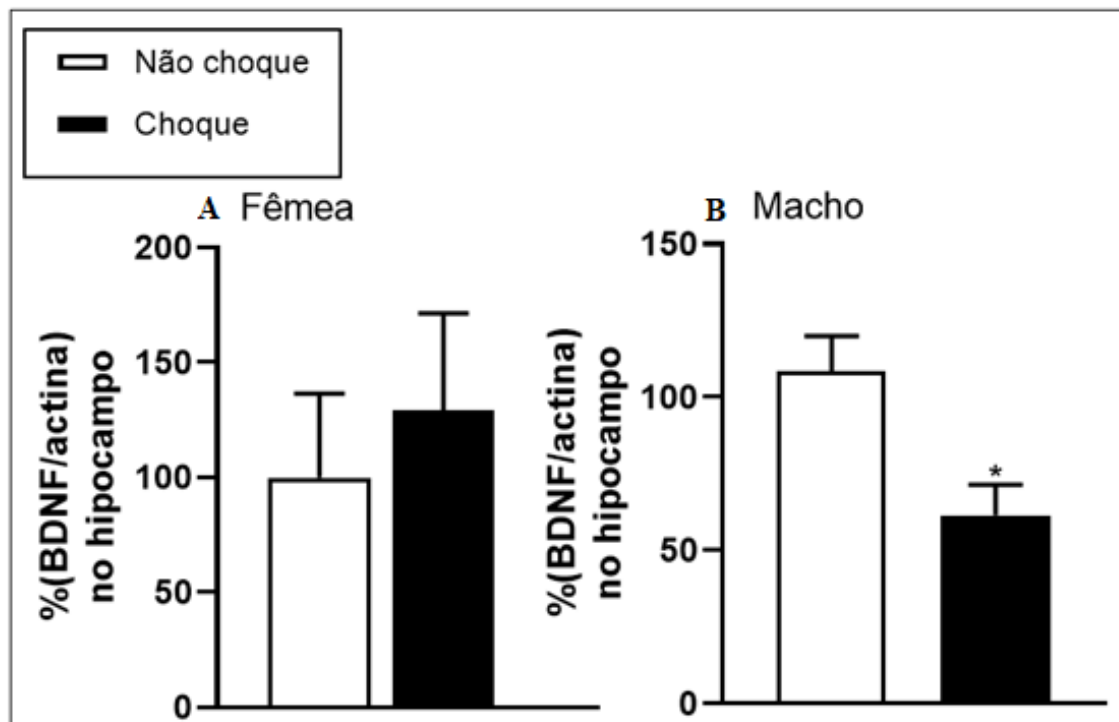
Gráfico D) frequência no quadrante alvo (número de vezes)

Nota: Os valores foram expressos como média \pm SEM (teste “t” Student)

7.2.7 Expressão das proteínas BDNF, DCX e Sinaptofisina no hipocampo pela técnica de *Western Blotting*

A Figura 24 mostra a porcentagem da expressão da proteína BDNF/Actina em (A) fêmeas e (B) machos. A análise, através do teste “t” de *Student*, mostrou que o grupo choque, em relação ao grupo não choque, apresentou que, para as fêmeas (A), não houve diferenças entre os grupos ($p=0,6226$); e, para os machos (B), houve redução da proteína BDNF/actina ($p=0,0127$).

Figura 24: Efeitos do TEPT na expressão de proteínas BDNF/actina dos filhotes. Grupos de filhotes das progenitoras choque (n=6) e não choque (n=5).



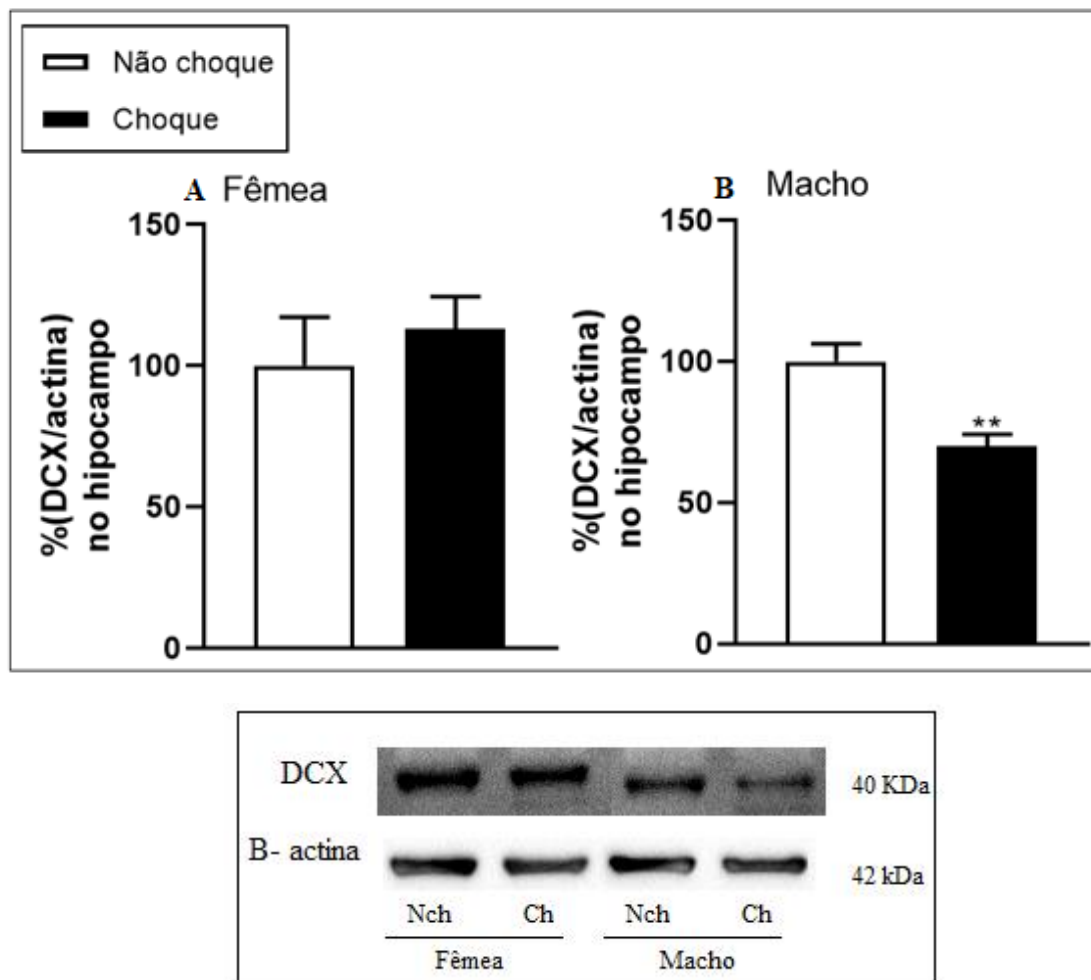
Fonte: Da autora
 Legenda: Gráfico A) Fêmea

Gráfico B) Macho

Nota: Os valores foram expressos como média \pm SEM * $p < 0,05$, quando o grupo choque é comparado com o grupo controle (teste "t" *Student*).

A Figura 25 mostra a porcentagem da expressão da proteína DCX/Actina para as fêmeas (A) e machos (B). A análise, através do teste "t" de *Student*, revelou que o grupo choque, em relação ao grupo não choque, apresentou que, para as fêmeas (A), não houve diferenças entre os grupos ($p=0,5308$); e, para os machos (B), houve redução da proteína DCX/actina ($p=0,0018$).

Figura 25 - Efeitos do TEPT na expressão de proteínas DCX/actina dos filhotes. Grupos de filhotes das progenitoras choque ($n=6$) e não choque ($n=5$).



Fonte: Da autora

Legenda: Gráfico A) Fêmea

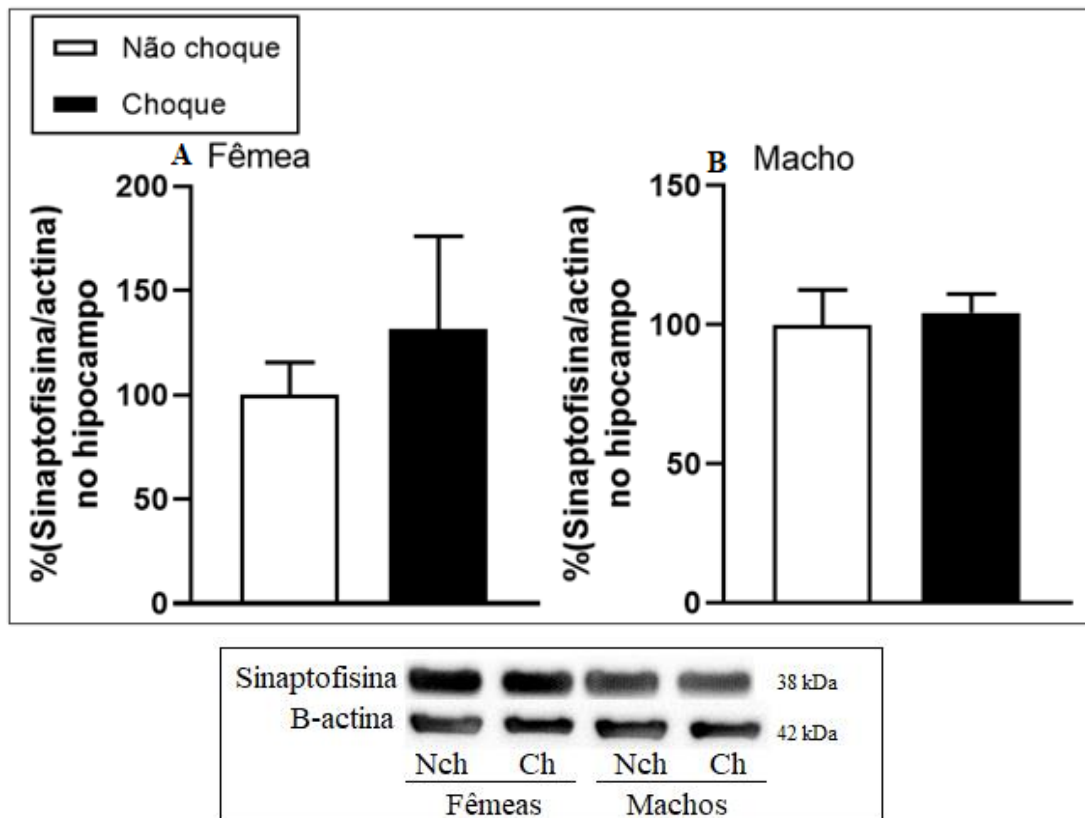
Gráfico B) Macho

Nota: Os valores foram expressos como média \pm SEM * $p < 0,05$, quando o grupo choque é comparado com o grupo controle (teste "t" *Student*).

A Figura 26 mostra a porcentagem da expressão da proteína Sinaptofisina/Actina para as fêmeas (A) e machos (B). A análise, através do teste "t" de *Student*, indicou que o grupo

choque. em relação ao grupo não choque, não apresentou diferenças tanto para fêmeas ($p=0,5563$) quanto para os machos ($p=0,7645$).

Figura 26 - Efeitos do TEPT na expressão de proteínas Sinaptofisina/actina dos filhotes. Grupos de filhotes das progenitoras choque ($n=6$) e não choque ($n=5$).



Fonte: Da autora

Legenda: Gráfico A) Fêmea

Gráfico B) Macho

Nota: Os valores foram expressos como média \pm SEM * $p < 0,05$, quando o grupo choque é comparado com o grupo controle (teste "t" Student).

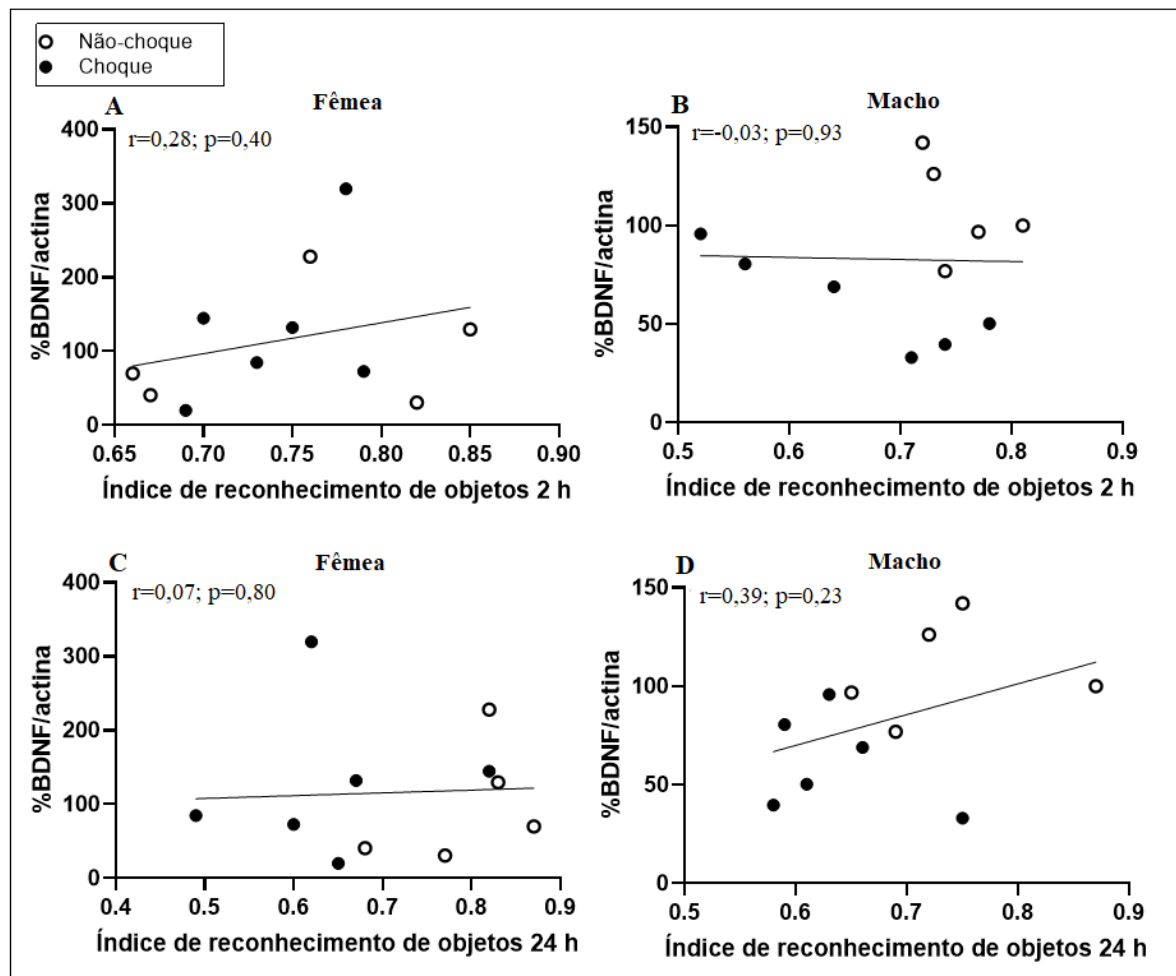
7.2.8 Correlação entre porcentagem das proteínas BDNF, DCX e Sinaptofisina com o índice de reconhecimento de objetos.

As correlações de Pearson foram realizadas para ambos os grupos (choque e não choque) e sua classificação foi considerada de acordo com o valor de r (coeficiente de correlação de Pearson) como: pequena (0,10-0,29); moderada (0,30-0,49); grande (0,50-0,69); muito grande (0,70-0,89); quase perfeito (0,90-0,99) e perfeito (1,0) (HOPKINS *et al.*, 2009).

A Figura 27 indica as correlações entre índice de reconhecimento de objetos e % de BDNF/actina. Em (A) fêmea e índice de reconhecimento de 2 horas, (B) macho e índice de

reconhecimento de 2 horas, (C) fêmea e índice de reconhecimento de 24 horas e em (D) macho e índice de reconhecimento de 24 horas. A análise de correlação de Pearson mostrou uma correlação positiva em (A), com $r=0,28$ e sendo classificada como pequena correlação e (D), com $r=0,39$, classificado como moderada correlação. Em (B) e (C) não foi encontrado nenhuma correlação ($r=0,03$ e $0,07$ respectivamente). No entanto, em todos os casos o $p>0,05$.

Figura 27 - Correlação entre índice de reconhecimento de objetos e % de BDNF/actina.



Fonte: Da autora

Legenda: Gráfico A) Correlação % de BDNF/actina com índice de reconhecimento de objetos de curta duração em filhotes fêmeas. Grupos de progenitoras choque (n=5) e não choque (n=6).

Gráfico B) Correlação % de BDNF/actina com índice de reconhecimento de objetos de curta duração em filhotes machos. Grupos de progenitoras choque (n=5) e não choque (n=6).

Gráfico C) Correlação % de BDNF/actina com índice de reconhecimento de objetos de longa duração em filhotes fêmeas. Grupos de progenitoras choque (n=5) e não choque (n=6).

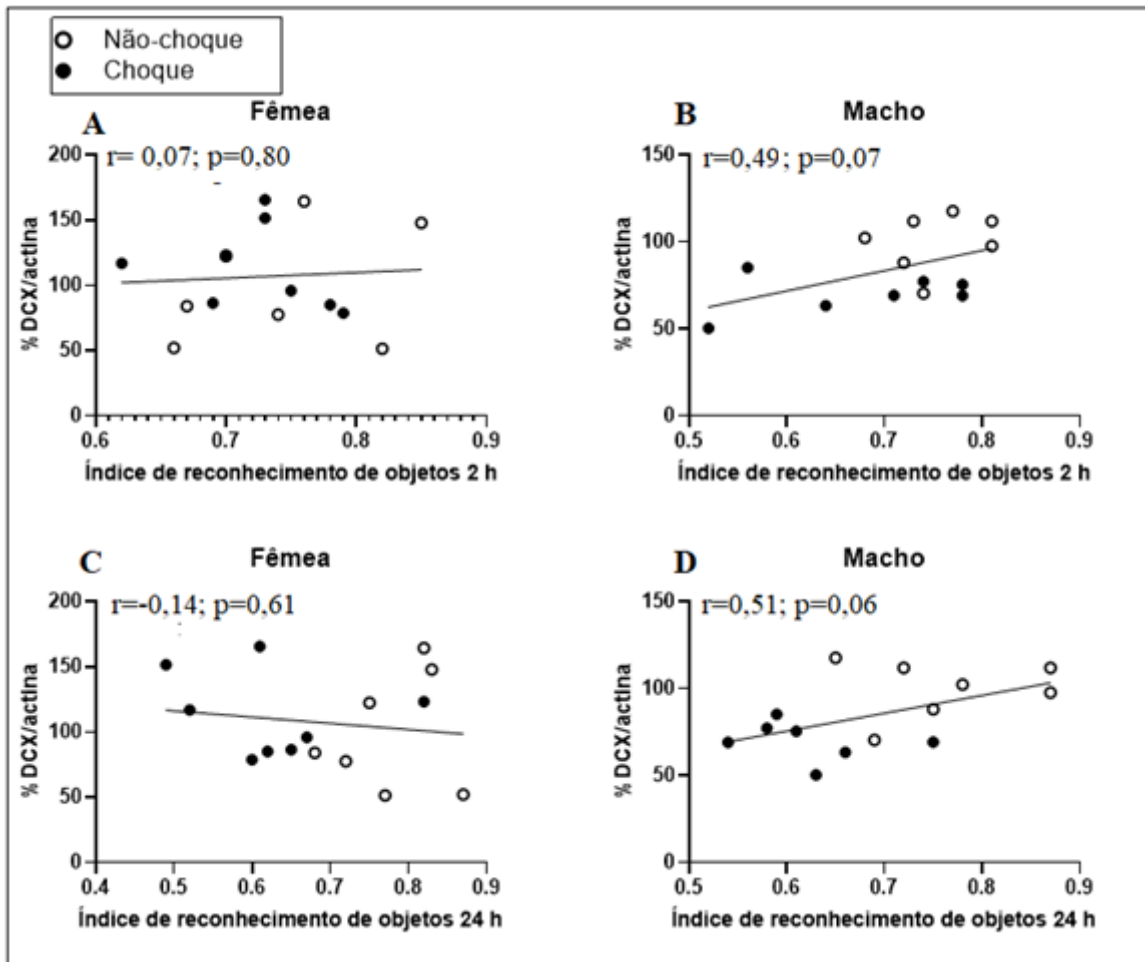
Gráfico D) Correlação % de BDNF/actina com índice de reconhecimento de objetos de longa duração em filhotes machos. Grupos de progenitoras choque (n=5) e não choque (n=6).

Nota: As correlações foram classificadas da seguinte forma: pequenas (0,10-0,29); moderada (0,30-0,49); grande (0,50-0,69); muito grande (0,70-0,89); quase perfeito (0,90-0,99) e perfeito (1,0).

A inclinação de cada gráfico indica o coeficiente de correlação (r) e para cada análise foi demonstrada sua significância (valor de p).

A Figura 28 indica a correlação entre índice de reconhecimento de objetos e % de DCX/actina. Em (A) fêmea e índice de reconhecimento de 2 horas, (B) macho e índice de reconhecimento de 2 horas, (C) fêmea e índice de reconhecimento de 24 horas e em (D) macho e índice de reconhecimento de 24 horas. A análise de correlação de Pearson mostrou uma positiva correlação em (B), com $r = 0,49$ e sendo classificado como moderada correlação, e em (D), com $r = 0,51$, classificado como grande correlação; e uma negativa correlação em (C), com $r = -0,14$, classificada como pequena correlação. Em (A) não foi encontrado nenhuma correlação ($r = 0,07$). No entanto, em todos os casos o $p > 0,05$.

Figura 28 - Correlação entre índice de reconhecimento de objetos e % de DCX/actina.



Fonte: Da autora

Legenda: Gráfico A) Correlação % de BDNF/actina com índice de reconhecimento de objetos de curta duração em filhotes fêmeas. Grupos de progenitoras choque ($n = 7$) e não choque ($n = 7$).

Gráfico B) Correlação % de BDNF/actina com índice de reconhecimento de objetos de curta duração em filhotes machos. Grupos de progenitoras choque ($n = 7$) e não choque ($n = 7$).

Gráfico C) Correlação % de BDNF/actina com índice de reconhecimento de objetos de longa duração em filhotes fêmeas. Grupos de progenitoras choque ($n = 7$) e não choque ($n = 7$).

Gráfico D) Correlação % de BDNF/actina com índice de reconhecimento de objetos de longa duração em filhotes machos. Grupos de progenitoras choque ($n = 7$) e não choque ($n = 7$).

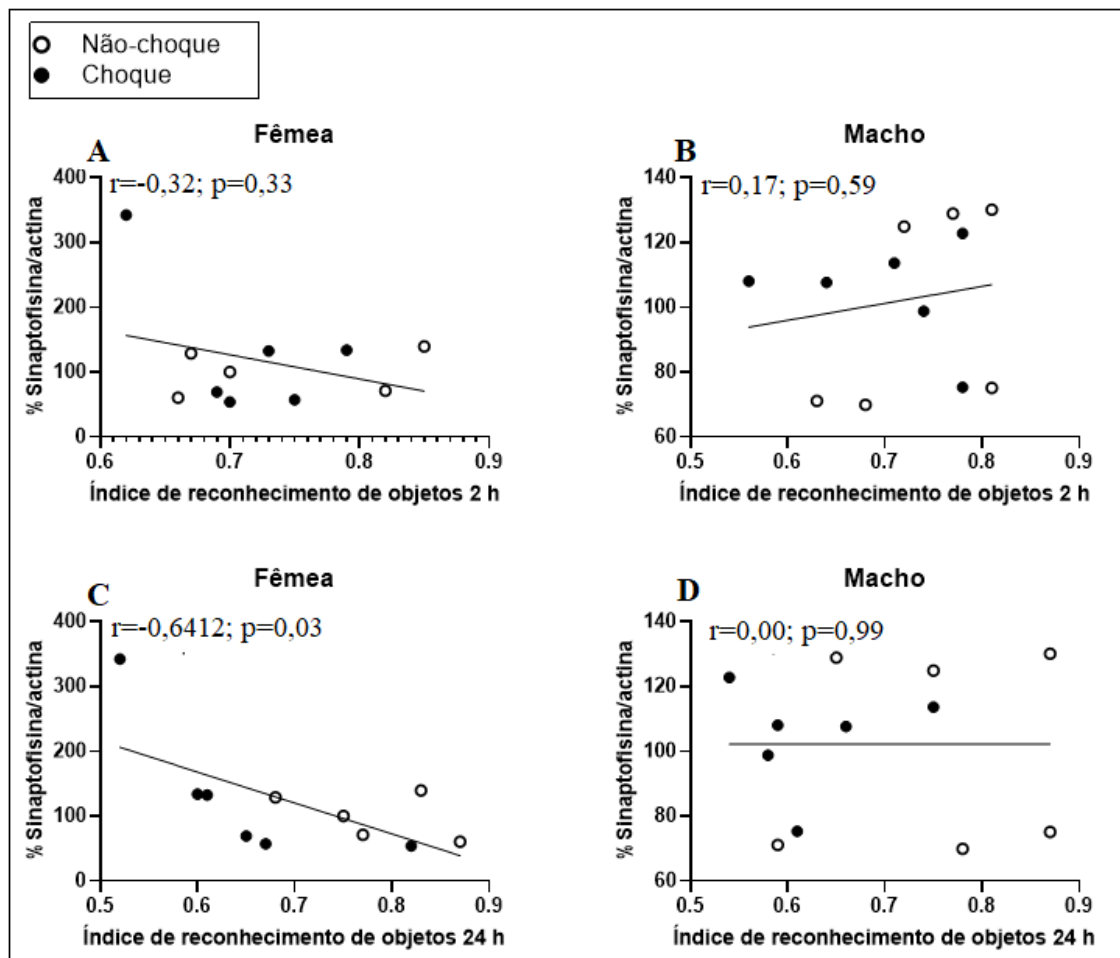
Nota: As correlações foram classificadas da seguinte forma: pequenas (0,10-0,29); moderada (0,30-

0,49); grande (0,50-0,69); muito grande (0,70-0,89); quase perfeito (0,90-0,99) e perfeito (1,0).

A inclinação de cada gráfico indica o coeficiente de correlação (r) e para cada análise foi demonstrada sua significância (valor de p).

A Figura 29 indica a correlação entre índice de reconhecimento de objetos e % de Sinaptofisina/actina. Em (A) fêmea e índice de reconhecimento de 2 horas, (B) macho e índice de reconhecimento de 2 horas, (C) fêmea e índice de reconhecimento de 24 horas e em (D) macho e índice de reconhecimento de 24 horas. A análise de correlação de Pearson mostrou uma positiva correlação em (B), com $r=0,17$ e sendo classificado como pequena correlação; e uma negativa correlação em (A), com $r=-0,32$, classificada como moderada correlação e em (C), com $r=-0,64$, classificado como grande correlação. Em (D) não foi encontrado nenhuma correlação ($r=0,00$). Em C encontramos um $p=0,03$ e para os outros casos $p>0,05$.

Figura 29: Correlação entre índice de reconhecimento de objetos e % de Sinaptofisina/actina.



Fonte: Da autora

Legenda: Gráfico A) Correlação % de BDNF/actina com índice de reconhecimento de objetos de curta duração em filhotes fêmeas. Grupos de progenitoras choque ($n=5$) e não choque ($n=6$).

Gráfico B) Correlação % de BDNF/actina com índice de reconhecimento de objetos de curta duração em filhotes machos. Grupos de progenitoras choque ($n=6$) e não

choque (n=6).

Gráfico C) Correlação % de BDNF/actina com índice de reconhecimento de objetos de Longa duração em filhotes fêmeas. Grupos de progenitoras choque (n=5) e não choque (n=6).

Gráfico D) Correlação % de BDNF/actina com índice de reconhecimento de objetos de longa duração em filhotes machos. Grupos de progenitoras choque (n=6) e não choque (n=6).

Nota: As correlações foram classificadas da seguinte forma: pequenas (0,10-0,29); moderada (0,30-0,49); grande (0,50-0,69); muito grande (0,70-0,89); quase perfeito (0,90-0,99) e perfeito (1,0). A inclinação de cada gráfico indica o coeficiente de correlação (r) e para cada análise foi demonstrada sua significância (valor de p).

7.3 RESUMO DOS RESULTADOS

Tabela 3 - Resumo dos resultados obtidos no estudo

PARÂMETRO AVALIADO	RESULTADO ENCONTRADO (continua)
Ratas progenitoras	
Reexposição a caixa de choque - tempo de congelamento.	Maior tempo de congelamento*.
Ganho de peso das ratas gestantes e lactantes.	Sem diferenças para o peso*.
Comportamento materno	Redução dos comportamentos Maternais*.
Locomoção e comportamento tipo ansioso no Teste de Campo Aberto.	Sem diferenças na locomoção e menor distância percorrida no centro (comportamento tipo ansioso)*.
Filhotes Fêmeas e Machos	
Animais vivos e mortos no DPP1-2	Sem diferenças*.
Ganho de peso da ninhada (até o desmame) e filhotes (pós-desmame)	Sem diferenças*.
Desenvolvimento físico e reflexo	Fêmea – sem diferenças Macho – atraso na Geotaxia negativa.

Tabela 3 - Resumo dos resultados obtidos no estudo

(continuação)

PARÂMETRO AVALIADO	RESULTADO ENCONTRADO
Filhotes Fêmeas e Machos	
Locomoção no teste de Campo Aberto	Fêmeas – sem diferenças. Machos – maior distância percorrida, menor tempo de imobilidade*.
Memória de reconhecimento de objetos (2 horas)	Fêmea – diminuição do tempo explorando objeto novo.* Macho – maior tempo explorando o objeto familiar e menor índice de reconhecimento de objeto*.
Memória de reconhecimento de objetos (24 horas)	Fêmea – menor tempo explorando o objeto novo e menor índice de reconhecimento de objetos*. Macho – maior tempo explorando o objeto familiar e menor índice de reconhecimento de objetos*.
Aprendizagem espacial no teste de Labirinto Aquático de Morris	Sem diferenças para ambos os sexos*.
Memória espacial no teste de labirinto Aquático de Morris	Fêmea – maior latência para alcançar o quadrante alvo e menor tempo de permanência no quadrante alvo. Macho – maior distância percorrida de nado e maior latência para alcançar o quadrante alvo*.

Tabela 3 - Resumo dos resultados obtidos no estudo

(continuação)

PARÂMETRO AVALIADO	RESULTADO ENCONTRADO
Filhotes Fêmeas e Machos	
Quantificação de proteínas por <i>Western Blotting</i>	
BDNF	Fêmea – sem diferenças. Macho – redução de BDNF.
DCX	Fêmea – sem diferenças. Macho – redução de DCX.
Sinaptofisina	Sem diferenças para ambos os sexos.
Correlação entre porcentagem das proteínas BDNF, DCX e Sinaptofisina com o índice de reconhecimento de objetos.	
BDNF X RO (2 horas)	Fêmea - positiva e pequena correlação Macho - ausência de correlação
BDNF X RO (24 horas)	Fêmea - ausência de correlação Macho - positiva e moderada correlação.
DCX X RO (2 horas)	Fêmea - ausência de correlação Macho - positiva e moderada correlação.
DCX X RO (24 horas)	Fêmea - negativa e pequena correlação. Macho - positiva e grande correlação.

Tabela 3 - Resumo dos resultados obtidos no estudo

PARÂMETRO AVALIADO	(conclusão) RESULTADO ENCONTRADO
Filhotes Fêmeas e Machos	
Correlação entre porcentagem das proteínas BDNF, DCX e Sinaptofisina com o índice de reconhecimento de objetos.	
Sinaptofisina X RO (2 horas)	Fêmea - negativa e moderada correlação. Macho - positiva e pequena correlação.
Sinaptofisina X RO (24 horas)	Fêmea - negativa e grande correlação. Macho - ausência de correlação.

Fonte Da autora.

Nota: *Os resultados obtidos foram pela comparação entre o grupo choque em relação ao grupo controle (não choque).

A comparação de Pearson foi realizada para todos os animais juntos (choque e não choque). Apenas para sinaptofisina fêmeas (24 horas) foi encontrado $p < 0,05$.

A tabela 4 indica os resultados encontrados nos filhotes (média \pm SEM) para as proteínas cerebrais (BDNF, DCX e Sinaptofisina) e para os testes de memória realizados (Labirinto aquático de Morris e Reconhecimento de objetos).

Como pode-se observar na tabela 4, apenas os filhotes machos apresentaram médias diferentes, quando foi comparado o grupo de filhotes de mães choque em relação aos de mãe não choque para as proteínas cerebrais. O grupo dos filhotes de mães choque apresentou menor média para as concentrações de BDNF (61,39) em relação ao grupo não choque (108,4). Em relação a proteína DCX, o grupo de filhotes de mães choque apresentou também menor média para a concentração de DCX (69,94) e para o grupo de filhotes de mães não choque (100). Para a proteína Sinaptofisina não houve diferenças entre os grupos.

Em relação ao teste de Labirinto Aquático de Morris foi avaliado 4 parâmetros (distância percorrida, latência para o quadrante alvo, tempo no quadrante alvo e frequência no quadrante

alvo. Os filhotes machos provindos de mães choque apresentaram maior média de distância percorrida (2037 cm) em relação aos filhotes de mães não choque (1869 cm), e maior latência para alcançar o quadrante alvo (5 segundos) em relação aos filhotes de mães não choque (2,6 segundos). Para os filhotes fêmeas foi encontrado uma maior latência para alcançar o quadrante alvo nos filhotes de mães choque (7,6 segundos) em relação aos de mães não choque (3,2 segundos) e um menor tempo no quadrante alvo (31,9 segundos) em relação aos filhotes de mães não choque (44 segundos).

Para o teste de reconhecimento de objetos foi encontrado para os filhotes machos de mães choque um menor índice de reconhecimento de objetos de 2 horas (0,62) em relação aos filhotes provindos de mães não choque (0,74) e para o índice de reconhecimento de 24 horas (0,58) para os filhotes provindos de mães choque e (0,72) para os filhotes provindos de mães não choque. Já para os filhotes fêmeas encontramos diferenças apenas para o índice de reconhecimento de 24 horas, em que os filhotes de mães choque apresentaram menor média (0,63) em relação aos filhotes de mães não choque (0,77).

Tabela 4 - Efeitos do estresse gestacional nas proteínas cerebrais e testes de memórias dos filhotes.

(continua)

PARÂMETROS	GRUPOS EXPERIMENTAIS			
	Não choque (filhotes fêmeas)	Choque (filhotes fêmeas)	Não choque (filhotes machos)	Choque (filhotes machos)
WESTERN BLOTTING				
BDNF	100 ± 81,38	129,1 ± 103,53	108,4 ± 25,72	61,39 ± 24,50*
DCX	100 ± 45,38	113 ± 32,35	100 ± 16,47	69,94 ± 11,14**
SINAPTOFISINA	100 ± 34,69	131,4 ± 109,39	100 ± 30,73	104,4 ± 16,28
LABIRINTO AQUÁTICO DE MORRIS				
DISTÂNCIA PERCORRIDA (Cm)	1887 ± 310,81	1993 ± 199,70	1869 ± 167,18	2037 ± 171,44*
LATÊNCIA (s)	3,2 ± 1,14	7,6 ± 6,15*	2,6 ± 0,70	5,0 ± 2,16**
TEMPO NO QUADRANTE ALVO (s)	44,0 ± 7,44	31,9 ± 11,91*	44,12 ± 10,57	37,8 ± 5,37
FREQUÊNCIA NO QUADRANTE ALVO	12,20 ± 2,70	11,30 ± 2,36	10,50 ± 1,90	12,50 ± 2,88

Tabela 4 - Efeitos do estresse gestacional nas proteínas cerebrais e testes de memórias dos filhotes.

(conclusão)

PARÂMETROS	GRUPOS EXPERIMENTAIS			
	Não choque (filhotes fêmeas)	Choque (filhotes fêmeas)	Não choque (filhotes machos)	Choque (filhotes machos)
RECONHECIEMTNO DE OBJETOS				
IR (2 HORAS)	0,7660 ± 0,09	0,7250 ± 0,06	0,7350 ± 0,05	0,6180 ± 0,13*
WESTERN BLOTTING				
IR (24 HORAS)	0,7660 ± 0,06	0,6290 ± 0,12**	0,7200 ± 0,10	0,5800 ± 0,08**

Fonte Da autora

Nota: Os valores foram expressos como, média ± SEM. *p <0,05 e **p<0,01 quando comparado o grupo choque com o grupo não choque.

8 DISCUSSÃO

Primeiramente, é importante ressaltar que, na literatura científica, se encontra resultados que corroboram, ou não, com os apresentados neste estudo. Contudo, essas pesquisas, não abordam um modelo animal de TEPT gestacional gerando prejuízos para a prole - sejam esses danos no humor, no desenvolvimento ou no cognitivo- mas sim algum modelo de estresse gestacional gerando esses malefícios.

8.1 PROCEDIMENTOS E TESTES REALIZADOS NAS RATAS PROGENITORAS

8.1.1 Tempo de congelamento

O modelo de indução do TEPT utilizado, neste estudo, foi o choque na pata, seguido de isolamento social - considerado um fator de risco para o TEPT. Posteriormente, dia 2 pós-natal, foi avaliado o tempo de congelamento dos animais quando reexpostos a mesma situação traumática (caixa indutora de choque). Em situações hipoteticamente perigosas, os roedores tendem a ficarem paralisados, sendo esse um comportamento inato (BERARDI et al., 2014).

E, foi observado um tempo de congelamento extremamente elevado para as ratas do grupo choque, em relação ao grupo controle, indicando, assim, que estes animais apresentam uma memória de medo contextual, que está relacionada a todo o ambiente em que ocorreu o trauma - sala e caixa indutora.

De acordo com Berardi e colaboradores (2014), o aumento do tempo de congelamento pode se prolongar por vários dias após o trauma, podendo ser encontrado em até 56 dias após o choque. Um outro estudo de Chen e colaboradores (2012), também encontrou valores elevados para o tempo de congelamento de ratos expostos ao choque na pata, assim como no estudo de Ribeiro e colaboradores (2020).

Desta forma, estes estudos corroboram para os resultados encontrados. No entanto, esses trabalhos, avaliaram ratos machos, não havendo, então, estudos, na literatura, com ratas prenhas.

8.1.2 Ganho de peso durante o período gestacional e de lactação

O período gestacional é considerado um estado de hiperfagia fisiológica necessária para garantir as necessidades crescentes de energia da mãe e do feto. Assim, o corpo da gestante

sofre diversas modificações, incluindo o ganho de peso. Quando ocorre justaposição entre gestação e estresse, a maioria dos estudos com modelos animais, indicam uma redução no peso corporal em relação ao grupo controle (AMUGONGO; HLUKSKO, 2014; GOVINDARAJ *et al.*, 2017; YAO *et al.*, 2014).

O estudo, conduzido por Govindaraj e colaboradores (2017), avaliou a ingestão alimentar, o peso corporal e as medidas corporais em ratas prenhas com estresse de contenção precoce, tardio e durante todo o período gestacional. Considerando este trabalho mencionado, é importante ressaltar que o grupo estressado durante a fase precoce, manifestou redução do peso apenas nos períodos em que foi aplicado o estresse. A ingestão alimentar acompanha esse mesmo raciocínio. Desta forma, se o grupo não estivesse naquele momento recebendo a perturbação, o peso não seria afetado, ou seja, o grupo de estresse precoce reduziu o peso na avaliação dos dias 1 a 10 gestacional e manteve o peso próximo do controle em meados e até o final da gestação. Para o grupo de estresse, durante todo o período gestacional, o peso reduziu inicialmente e em meados da gestação, até o parto reestabeleceu o ganho de peso, não diferindo do controle. Além disso, um menor peso acompanhou uma menor ingestão alimentar.

Estudos anteriores relataram que níveis circulantes mais elevados de glicocorticoide (em ratos corticosterona) podem aumentar o efeito catabólico, que gera um aumento de aminoácidos circulantes, além de glicose e lipídios no plasma e, assim, desligam o sinal de fome do cérebro. Sendo essa, uma possível explicação para a diminuição da ingestão alimentar e, como consequência, a redução do peso (DELAERE; MAGNAN; MITHIEUX, 2010; VEGIOPOULOS; HERZIG, 2007;).

Mesmo que em minoria, foi encontrado um estudo o qual não houve diferenças significativas no peso corporal das ratas prenhas, corroborando, assim, com o resultado deste trabalho (VERSTRAETEN *et al.*, 2019). Nesta pesquisa, as ratas foram pesadas a cada 3 dias, durante todo o período gestacional, e de lactação. No entanto, foi avaliado apenas o peso sem considerar a ingestão alimentar que poderia adicionar informações para este trabalho.

Evidencia-se, ainda, que todos os estudos citados que indicaram redução de peso com o estresse, efetivaram uma perturbação crônica aos animais que foi visto, nos estudos, por um período mínimo de 6 dias. Este trabalho de pesquisa realizou o estresse de choque na pata, por um período curto (apenas 1 dia).

Diante do exposto, o estudo de Verstraeten e colaboradores (2019), também realizou um estresse crônico e não apresentou diferenças no peso. Sendo assim, consideramos que diversos fatores podem estar relacionados com os diferentes resultados encontrados na literatura. Dessa forma, acreditamos que o modelo de estresse, a fase da gestação, o tempo de aplicação do

estresse, além da linhagem do animal, são fatores importantes e que podem ser responsáveis pela variação de resultados da literatura.

8.1.3 Comportamento materno

O cuidado materno em ratos consiste em diversos comportamentos como: amamentar, lambar, limpar, incubar e recuperar os filhotes; sendo de extrema importância para a sobrevivência, para o desenvolvimento reprodutivo e para a função endócrina da prole (POPOOLA; CAMERON, 2017). No que diz respeito a sobrevivência, sabe-se que os filhotes ainda são imaturos e necessitam dos cuidados da mãe para se manterem vivos. Na verdade, sua temperatura corporal ainda não pode ser regulada por mecanismos fisiológicos, desta forma, ela é regulada através da temperatura do meio em que vivem. Sendo assim, a construção do ninho (manter todos os filhotes juntos) e estar sobre eles é essencial para manutenção da temperatura corporal da ninhada, garantindo sua sobrevivência. O comportamento de lambar e cheirar, fazem parte do reconhecimento dos filhotes, além disso, essa ação é crucial para que os filhotes possam urinar e defecar; e falta de estimulação tátil, pode estar relacionada a uma menor sobrevivência dos filhotes (PATIN *et al.*, 2002).

No presente estudo, o TEPT gestacional (induzido por choque na pata, seguido de isolamento social), aplicado no 10º dia da gestação, foi capaz de reduzir a porcentagem do número de vezes em que as ratas passaram em posição arqueada (cifose – posição necessária para amamentação) e aumentar a porcentagem do número de vezes em que elas estavam sem a presença dos filhotes (não explorando ou explorando). No entanto, a redução do cuidado materno encontrado, não afetou o peso e a sobrevivência dos filhotes.

Esse resultado vai de acordo com estudos anteriores, que identificaram que as mães do grupo estressado passaram menos tempo com seus filhotes (BOSCH *et al.*, 2007; CERRO *et al.*, 2010; PATIN *et al.*, 2002). O estresse provocado pela restrição da dieta, também foi relacionado a uma redução dos cuidados maternos para com a prole (JOHN *et al.*, 2019).

O estudo conduzido por Cerro e colaboradores (2010) avaliou o comportamento materno de ratas na presença ou ausência de estresse com ou sem adoção dos filhotes (inverteu-se os filhotes de 2 grupos – com estresse e sem estresse, e foi mantido os filhotes para os outros 2 grupos). Os grupos das mães estressadas foram expostos a 3 sessões diárias de estresse, durante 45 minutos dos dias 14 a 20 de gestação (contenção, luz e calor). Diante disso, os seguintes resultados foram obtidos: mães estressadas com seus próprios filhotes apresentaram

menor tempo com a ninhada e menor duração de lambidas, em relação às mães não estressadas com seus próprios filhotes.

Já o estudo conduzido por Patin e colaboradores (2002), utilizou o estresse de predador (exposição a gato) no 10º e 14º dia gestacional em uma única exposição e nos mesmos dias citados, mas com exposição repetida ao gato. Assim como neste estudo, foi encontrado um aumento no tempo de repouso das ratas estressadas (apenas para o estresse agudo ocorrido no 14º dia). Além disso, foram encontrados, também, um aumento do tempo de alimentação (apenas para ratas com estresse único no 10º dia gestacional); o tempo de lambida foi menor (apenas para o estresse agudo ocorrido no 14º dia); e o tempo cheirando os filhotes foi menor para todos os grupos de rata estressada quando comparadas ao grupo controle.

Como dito anteriormente, há diversos modelos de indução do TEPT, e os estudos que avaliaram os efeitos do estresse gestacional no cuidado materno utilizaram estresse variado e por um tempo maior quando comparado a este estudo. No entanto, os resultados desses estudos, foram de acordo com nosso estudo. Outro fator a ser considerado, é que existem diversas formas de avaliar o comportamento materno, como foi visto nos estudos anteriores.

Portanto, a literatura científica ainda é escassa em relação a artigos que abordem esta temática e não há estudos que avaliem o TEPT gestacional e os cuidados maternos. Sendo necessário a ampliação destes conhecimentos, visto que, o comportamento materno é extremamente essencial para a prole e a presença desta doença pode afetar, de forma significativa, esses cuidados.

8.1.4 Locomoção e comportamento tipo ansioso no teste de Campo Aberto

O teste de Campo Aberto pode ser utilizado para avaliar dois parâmetros distintos: locomoção e comportamento tipo ansioso. A locomoção é avaliada através da distância percorrida e tempo de imobilidade. Já o comportamento semelhante a ansiedade é avaliado através da distância percorrida no centro, ou seu tempo de permanência nessa região. Diferentes artigos têm utilizado destas duas avaliações para considerar o comportamento tipo ansioso (TOUMI; MERZOUG; TAHRAOUI, 2016).

Neste estudo, não foram encontradas diferenças na locomoção. No entanto, as ratas que receberam choque apresentaram menor distância percorrida na região central, indicando um aumento do comportamento tipo ansioso. Conforme o manual Diagnóstico e Estatístico de transtornos Mentais (DSM-5), um dos critérios de diagnóstico para o TEPT, é a presença de alterações negativas na cognição e no humor (ansiedade, depressão). Desta forma, este

resultado ressalta que o modelo de TEPT foi capaz de reproduzir, em animais, o parâmetro de ansiedade. Neste viés, o estudo conduzido por Ribeiro e colaboradores (2020), que utilizou mesmo modelo de TEPT, também observou uma redução da distância percorrida no centro do Campo Aberto, porém, esse parâmetro, foi avaliado em ratos machos.

A relação entre estresse e ansiedade é bem estabelecida. No entanto, quando se avalia o estresse na gestação, muitos estudos demonstram apenas o comportamento tipo ansioso na prole. Mas, ainda assim, foi possível encontrar estudos como o de Toumi e colaboradores (2016), que avaliaram os efeitos do estresse de um predador durante a gestação nas mães. Como resultados, identificaram comportamento semelhante a ansiedade em ambos os testes, caixa claro-escuro e labirinto em cruz elevado.

Não foram encontrados artigos científicos que realizassem estresse nas ratas prenhas e avaliassem o comportamento tipo ansioso na progenitora com o teste de Campo Aberto. No entanto, o estudo de Toumi e colaboradores (2016) demonstrou comportamento semelhante a ansiedade em outros testes e está de acordo com os resultados desta investigação. Ainda assim, há a dissertação de Chagas e colaboradores (2020), que utilizou o mesmo modelo de indução de TEPT, e encontrou que as ratas, do grupo choque, apresentaram comportamento tipo ansioso no teste de Campo Aberto e prejuízo de memória no teste de reconhecimento de objetos. Esses resultados corroboram com os dados encontrados nesta pesquisa e também são importantes por garantir que esse modelo de TEPT foi capaz de reproduzir os prejuízos de humor e cognição encontrados em indivíduos com o transtorno.

8.2 TESTES E PROCEDIMENTOS REALIZADOS NA PROLE (FÊMEA E MACHO)

8.2.1 Ninhadas no dia 1 e 2 pós-parto (DPP1-2)

O estresse durante a gestação tem sido associado a defeitos congênitos, natimortalidade e mortalidade infantil (GOVINDARAJ *et al.*, 2017). Para esta pesquisa, foi entendida a importância de avaliar esses parâmetros, no entanto, esse não era o objetivo de maior relevância. Este estudo não avaliou a natimortalidade e mortalidade infantil, já que não foi avaliado os filhotes no dia do nascimento e sim um dia após, isso também evita estressar as ratas e filhotes. A importância de se avaliar os filhotes no dia do nascimento, é conseguir observar e garantir que o filhote é um natimorto, visto que as ratas podem ingerir os filhotes mortos ou com algum defeito congênito e, assim, tanto resultados de natimortalidade e de defeitos congênitos podem estar subnotificados quando avaliados no DPP1. Outro fator a ser considerado, quando se avalia os filhotes assim que nascem, é evitar o

fator de confusão entre os filhotes que já nasceram mortos (natimortalidade) e os filhotes que morrem depois (mortalidade infantil). Dessa forma, para evitar possíveis erros de colocação dos resultados, foi optado a não utilização destes termos.

Assim, no dia 1 pós-parto, realizou-se a padronização da ninhada para 8 filhotes (4 fêmeas e 4 machos) e registrou-se os animais que foram encontrados mortos, evitando perturbações das ratas no dia do nascimento dos filhotes (DPP0). Este estudo, não encontrou diferenças significativas para o número de filhotes encontrados vivos e mortos, apesar do número maior de filhotes vivos e nenhum filhote morto, ambos para o grupo controle. Outro fator observado, foi que um total de 3 ratas do grupo choque perderam algum de seus filhotes e o grupo controle não perdeu nenhum dos filhotes. Quanto aos defeitos congênitos, não foi observado nenhum caso a partir do DPP1. O número de ratas prenhas do grupo choque foi maior que o grupo controle, exatamente por estas ratas perderem filhotes e impossibilitar a realização dos testes posteriores.

O estudo de Govindaraj e colaboradores (2017) obteve que as ratas, que receberam estresse de contenção, apresentaram efeitos deletérios para a prole, como: deficiência física, mortalidade neonatal e natimortalidade. No entanto, diferentemente desta pesquisa, foi utilizado estresse de contenção por um período de 10 dias (crônico). Desta forma, pode ter apresentado resultados mais danosos quando comparado a esta pesquisa. Mas, ainda assim, é importante frisar que, nesta pesquisa, aproximadamente 22% das ratas do grupo choque perderam algum de seus filhotes e no grupo controle não teve perdas de filhotes.

8.2.2 Ganho de peso da ninhada (DPP4-19) e dos filhotes (pós-desmame)

Como relatado anteriormente, a ninhada é completamente dependente da mãe para garantir sua sobrevivência. O ganho de peso da ninhada, então, é assegurado pelo processo de amamentação, até que, posteriormente, esses filhotes possam se alimentar de forma autônoma.

Há uma grande variação de resultados encontrados, na literatura, em relação ao estresse gestacional e as consequências para o peso da prole. Desta forma, vale ressaltar que o estresse gestacional pode não alterar (BENGOETXEA *et al.*, 2017; CERRO *et al.*, 2010; SUN *et al.*, 2013), reduzir (JIA *et al.*, 2016; SAHU *et al.*, 2012; SUN *et al.*, 2017; ZHANG *et al.*, 2016) ou aumentar (ITURRA-MENA *et al.*, 2018 ;PURCELL *et al.*, 2011) o peso dos descendentes. Alguns estudos avaliaram apenas o peso ao nascer, enquanto, outros, avaliaram em fases posteriores, também. Estes resultados divergentes, podem ser, parcialmente, explicados pelas diferenças metodológicas de cada estudo como, por exemplo, tipo do estresse e idade gestacional da aplicação do estresse.

O estudo conduzido por Sahu e colaboradores (2012), que avaliou os efeitos do tratamento com resveratrol na prole de mães estressadas por contenção (nos dias de gestação 1 a 10 ou 11 até o nascimento), observou que apenas a prole de mães estressadas em meados e, até o final do período gestacional, apresentou uma redução do ganho de peso ao nascer e um atraso no ganho de peso até o dia 14 pós-natal. Assim como nesta pesquisa, não houve diferença significativa no peso da prole das mães estressadas entre o dia 1 a 10 de gestação (neste estudo, o choque na pata foi dado apenas no dia 10 da gestação). Sendo assim, um mesmo estudo conseguiu observar que, filhotes, provindos de mães estressadas, não diferiram no peso quando comparados ao controle; e que a prole de mães estressadas apresentou menor peso quando comparadas com seu controle. Estas diferenças nos resultados foram devido ao momento gestacional em que foi aplicado o estresse.

Já o estudo conduzido por Purcell e colaboradores (2011) avaliou a prole de ratas que sofreram o estresse crônico variável e um outro grupo de ratas com maior ingestão de gordura durante a gestação. Em ambos os grupos, foi observado um aumento do ganho de peso no final da primeira semana, com um aumento da adiposidade ao desmame. Apesar das mães do grupo estresse passarem menos tempo amamentando a ninhada, os filhotes de mães estressadas consumiram mais leite que os do grupo controle durante a primeira semana.

Como dito acima, esta pesquisa, no entanto, não encontrou diferenças no peso, mesmo as mães tendo menor comportamento materno. Desta forma, pode-se considerar a ocorrência de duas condições: 1) realmente essa redução no cuidado materno foi singular e, portanto, não afetou o peso dos filhotes; ou, 2) esta redução do cuidado afetaria o peso, porém, as ratas, do grupo estressado, apresentam maior teor de gorduras no leite ou seus filhotes amamentaram em maior quantidade, quando suas mães estavam disponíveis. Assim, o peso dos dois grupos foram muito parecidos. Investigações mais aprofundadas são necessárias para que ocorra essa confirmação.

8.2.3 Desenvolvimento físico e reflexo dos filhotes

O desenvolvimento motor pode ser medido através de diferentes testes como o reflexo de endireitamento de postura, a geotaxia negativa, além do reflexo de enraizamento e a resposta de colocação de vibrissas. Neste estudo, foi utilizado apenas os dois primeiros. Na literatura científica poucos estudos em animais exploraram os efeitos do estresse gestacional no desenvolvimento inicial da prole, particularmente no desenvolvimento dos reflexos, que é crucial para a sobrevivência (PATIN *et al.*, 2002).

Nesta pesquisa foi avaliado tanto o desenvolvimento físico quanto reflexo e o único parâmetro que houve um atraso de apresentação do reflexo foi a geotaxia negativa. A geotaxia negativa é um reflexo que requer coordenação motora precisa, diferentemente dos outros reflexos avaliados, desta forma, foi observado que apenas os filhotes machos de ratas modelos de TEPT foram retardatários na realização da tarefa, indicando, assim, que os machos, mas não as fêmeas, apresentaram prejuízos em relação a coordenação motora fina (PATIN *et al.*, 2002).

O estudo de Patin e colaboradores (2002) corrobora para os resultados deste estudo. Patin avaliou os efeitos do estresse de exposição ao predador em momentos distintos (dia 10 ou dia 14 da gestação), de forma aguda ou crônica para os dois momentos relatados. O estudo de Patin observou que a prole de mães estressadas no dia 10 ou 14 apresentaram uma alteração no reflexo de geotaxia negativa apenas quando o estresse foi aplicado de forma crônica. Assim, menor porcentagem dos filhotes conseguiram realizar o reflexo em dias específicos.

Como dito anteriormente, há uma escassez de estudos abordando esta relação de estresse gestacional com desenvolvimento físico e reflexo dos filhotes. Desta forma, fazer uma avaliação comparativa com artigos atuais se torna um processo impraticável. Diante desta dificuldade encontrada, e de um possível atraso no desenvolvimento reflexo, torna-se necessário dispor de novos estudos que realizem esta abordagem.

8.2.4 Locomoção no teste de Campo Aberto

O teste de Campo Aberto pode avaliar a locomoção e comportamento tipo ansioso, para os filhotes avaliou-se apenas a locomoção. Na literatura científica foi encontrado uma gama de resultados para o mesmo teste, ou seja, o teste de Campo Aberto pode demonstrar que o estresse na gestação ocasiona em redução da locomoção (hipoatividade) (LIAO *et al.*, 2018); sem alterações na locomoção (EHRlich *et al.*, 2015; TOKUMO; HIRAI; NISHINO, 2006) ou um aumento da locomoção (hiperatividade) (MOURA *et al.*, 2020; TOUMI; MERZOUG; TAHRAOUI, 2016). A presença destas divergências pode ser parcialmente explicada por diferenças metodológicas dos estudos como: o modelo de estresse utilizado (predador, choque, contenção); o tempo de aplicação do estresse (agudo ou crônico); a idade do descendente avaliado (pré-púbere, púbere e adulto); a linhagem de rato utilizada; dentre outros fatores.

O estudo de Ehrlich e colaboradores (2015) corrobora para os resultados que encontrados nesta pesquisa em questão, no qual não houve diferenças significativas na locomoção das fêmeas. No entanto, para os machos, observamos uma hiperatividade nos ratos provindos de mães estressadas. O trabalho de Toumi e colaboradores (2016) reforça, em parte,

os resultados alcançados, uma vez que encontraram maior distância percorrida, maior velocidade e menor tempo de imobilidade (em machos e fêmeas). A pesquisa de Moura e colaboradores (2020) observou que os filhotes de camundongo de mães estressadas fêmeas não apresentaram alterações de locomoção e os machos apresentaram hiperatividade (maior deslocamento), exatamente como nesta pesquisa. Este “achado” (hiperatividade) pode contribuir para a etiologia de alguns transtornos psiquiátricos como: Transtorno do Déficit de Atenção e Hiperatividade (TDAH), esquizofrenia e mania bipolar (MOURA *et al.*, 2020).

Com estes resultados, descartou-se que estes animais possam possuir algum prejuízo na locomoção, o que poderiam afetar, de forma negativa, os testes de reconhecimento de objetos e Labirinto Aquático de Morris. Mais estudos devem ser realizados para avaliar se de fato, o sexo interfere nas alterações da locomoção encontradas neste trabalho.

8.2.5 Memória de Reconhecimento de objetos

O teste de reconhecimento de objetos é muito utilizado e tem como objetivo avaliar a memória do animal quanto a exploração de objetos já conhecidos e objetos novos, já que, naturalmente, os ratos preferem explorar novos objetos a objetos familiares (STRAGIER *et al.*, 2015; WEI *et al.*, 2018). Desta forma, utilizou-se deste teste para avaliar a memória destes animais, visto que estudos demonstraram prejuízos de memória em filhotes de mães estressadas durante a gestação.

Quando um rato passa mais tempo explorando um objeto novo na presença de um familiar, podemos inferir que o rato lembra do objeto familiar. Para avaliar este parâmetro, utilizou-se o índice de reconhecimento de objetos (Tempo no novo/tempo no novo + tempo no familiar). Neste sentido, resultados inferiores a 0,5 indicam um maior tempo de exploração do objeto familiar em relação ao novo; resultados iguais a 0,5 indicam mesmo tempo de exploração dos objetos; e resultados superiores a 0,5 indicam maior tempo de exploração do objeto novo em relação ao familiar (WEI *et al.*, 2018).

Neste trabalho foi utilizado dois períodos para avaliar a memória de reconhecimento, após 2 horas da familiarização e após 24 horas do teste anterior. Desta forma, em períodos superiores a 10 minutos, a região do hipocampo é necessária para a retenção de memória de reconhecimento de objeto e, assim, possíveis prejuízos de memória estarão relacionadas a um comprometimento das funções hipocampais (COHEN; STACKMAN, 2015).

Após a realização dos testes, obteve-se os seguintes resultados para memória após 2 horas de descanso: 1) As fêmeas do grupo de mães modelo de TEPT não apresentaram

diferenças significativas no índice de reconhecimento, mas reduziram o interesse em explorar ambos os objetos (familiar e novo). 2) Os machos de mães modelo de TEPT apresentaram maior tempo no objeto familiar e menor índice de reconhecimento de objetos quando comparados ao grupo controle. Para a memória após 24h de descanso, obteve-se que: 1) As fêmeas do grupo de mães modelo de TEPT exploraram por menos tempo o objeto novo e apresentaram menor índice de reconhecimento. 2) Os machos do grupo de mães modelo de TEPT apresentaram maior tempo explorando o objeto familiar e obtiveram menor índice de reconhecimento de objetos. Portanto, os menores resultados para o índice de reconhecimento podem sugerir possíveis prejuízos na memória.

Os resultados encontrados, neste estudo, estão de acordo com a literatura que observou que o estresse na gestação pode ocasionar em déficits na memória dos descendentes em diversas fases da vida (precoce ou tardia) (CHEN *et al.*, 2020; EHRLICH *et al.*, 2015; LIAO *et al.*, 2019; MOURA *et al.*, 2020; TOUMI; MERZOUG; TAHRAOUI, 2016).

O estudo de Chen e colaboradores (2020) realizou o teste de reconhecimento para avaliar a prole adulta de ambos os sexos, de mães estressadas por contenção (em período precoce e tardio da gestação). Os resultados indicaram que os descendentes machos e fêmeas apresentavam déficits de memória de reconhecimento. No entanto, não foi utilizado o índice de reconhecimento, mas, na verdade, o índice de discriminação (tempo no objeto novo - tempo no objeto familiar/tempo no objeto novo+tempo no familiar) X 100. Um outro estudo de Toumi e colaboradores (2016) avaliou a memória de reconhecimento de objetos em descendentes na idade periadolescentes (dia 44 pós-natal). Os filhotes de mães que sofreram o estresse de exposição a predador apresentaram menor índice de reconhecimento de objetos apenas para a prole fêmea.

Dessa forma, foi encontrado prejuízos de memória nos animais. E, ao transcrever isso para humanos, estes prejuízos de memória, relacionados ao hipocampo, podem ser, extremamente, danosos para crianças e adolescentes, já que eles se encontram em uma fase de aprendizagem escolar.

8.2.6 Aprendizagem e memória espacial no teste de Labirinto de Morris

Conforme introduzido anteriormente, os prejuízos cognitivos encontrados em filhos de pacientes com TEPT gestacional podem ser reproduzidos em animais. Para avaliar aprendizagem e memória espacial, utilizou-se o teste de Labirinto Aquático de Morris (Criado inicialmente por Richard Morris em 1984). Atualmente, este teste é altamente difundido devido

a uma série de fatores: falta de pré-treinamento; alta confiabilidade em uma ampla gama de configurações de tanques e procedimentos de teste; sua utilidade entre as espécies (em humanos pode ser utilizado um labirinto virtual); ampla evidência de sua validade como uma medida de navegação espacial dependente do hipocampo e memória de referência (BROMLEY-BRITS; DENG; SONG, 2011).

Para este estudo em questão, foram encontrados os seguintes resultados para a fase de treinamento: Não houve diferenças significativas para os grupos estudados em relação aos 5 dias de treino do Morris de ambos os sexos. Para o dia do teste de sonda, foi encontrado os resultados a seguir: 1) as fêmeas do grupo de mães choque apresentaram maior latência para alcançar o quadrante alvo; 2) as fêmeas do grupo de mães choque apresentaram menor tempo de permanência no quadrante alvo; 3) os machos do grupo de mães choque apresentaram maior distância percorrida total; 4) os machos do grupo de mães choque apresentaram maior latência para chegar no quadrante alvo.

O estudo conduzido por Wilson e colaboradores (2012) avaliou o estresse pré-natal variável nos prejuízos de aprendizagem e memória da prole, já na fase adulta, no Labirinto Aquático de Morris, e, assim, como nesta pesquisa, o estudo não apresentou diferença significativa na aprendizagem dos animais do grupo estressado em relação ao controle durante os 6 dias de treino (nesta pesquisa, foram utilizados 5 dias). Para ambos os grupos, notou-se uma curva de aprendizagem adequada, ou seja, uma redução gradual na latência para alcançar a plataforma. Mesmo que em um ponto da curva (para a prole fêmea), houve um certo aumento da latência do grupo TEPT, em seguida, prosseguiu com a redução (este pequeno aumento não foi significativo). O estudo de Wilson e colaboradores também não encontrou diferenças para o dia do teste diferindo, nesta parte, do resultado encontrado aqui.

O estudo de Meunier e colaboradores (2014) demonstrou resultados semelhantes a esta pesquisa, tanto na fase de aquisição (aprendizagem) - que não houve diferenças entre os grupos - quanto na fase de teste - que demonstrou uma redução no tempo de permanência no quadrante alvo para o grupo de mães estressadas. No entanto, para Meunier e colaboradores (2014), os machos apresentaram esta redução, mas não as fêmeas, e, nesta pesquisa, ocorreu o inverso. O modelo de estresse utilizado no estudo citado acima é de contenção imprevisível durante 4 dias (DG 17-20) por 90 minutos.

Um outro estudo de Sahu e colaboradores (2012) avaliou a prole (idade 40 dias) de mães estressadas (estresse de contenção 3 vezes ao dia) em dois períodos distintos (dia gestacional de 1 a 10 e dia gestacional 11 até o nascimento). Os filhotes de mães estressadas apresentaram maior latência para alcançar a plataforma nos dias de treino, o que não pode ser observado nesta

pesquisa - que não apresentou diferenças entre os grupos para a fase de treinamento. Já, para a fase de teste, pode-se observar que, assim como em nesta pesquisa, a prole de mães estressadas apresentaram maior latência para o quadrante alvo e menor tempo no quadrante alvo (estes dois parâmetros alterados foram observados para a prole fêmea, para os machos, apenas o parâmetro maior latência foi observado). O estudo de Sahu avaliou tanto macho quanto fêmeas, como a diferença entre os sexos não foi significativa, ele incluiu todos os filhotes em um grupo apenas.

Um estudo mais recente de Zheng e colaboradores (2019) utilizou de estresse de contenção nos períodos gestacional (14 a 20), posteriormente, avaliou os efeitos e tratamento na prole fêmea com 60 dias de idade. No Labirinto Aquático de Morris foi observado uma latência maior para as ratas do grupo estresse do dia 3 a 5 de treinamento, sendo que, nesta pesquisa em questão, não foi possível observar diferenças significativas em nenhum dos dias de treinamento, tanto para a prole de fêmeas quanto de machos. Em relação ao dia do teste de sonda, foi observado, no estudo de Zheng e colaboradores (2009), menor tempo no quadrante alvo para o grupo do estresse, em relação ao grupo controle. Tal dado também foi encontrado nesta pesquisa, apenas para a prole fêmea.

Desta forma, pode-se observar que, diversos estudos corroboram para os resultados encontrados no dia do teste de Morris. No dia da aprendizagem não foi obtido diferenças significativas e foi encontrado um estudo com este mesmo resultado. O estudo de Wilson, citado anteriormente, não encontrou diferenças significativas no treino, mas também não foram encontradas no dia do teste.

Esta grande variabilidade de resultados encontrados nas pesquisas pode estar relacionada a diversos fatores, tais como: linhagem distintas de ratos; modelos de estresse distintos (estresse único ou variável, crônico ou agudo); diferentes períodos de aplicação do estresse nas ratas prenhas (início, meio ou final da fase gestacional); testes realizados em diferentes idades da prole (pré-púberes, púberes, adultos); uso de diferentes protocolos do Labirinto de Morris. Apesar de nenhum estudo ter esses parâmetros exatamente iguais, neste trabalho pode-se considerar que, no geral, os resultados foram mais congruentes do que conflitantes.

Desta forma, este estudo demonstrou que, os filhotes fêmeas e machos de mães modelo de TEPT, apresentaram prejuízo de memória espacial. Em humanos pode-se encontrar esses prejuízos e deve-se pensar na questão escolar de crianças que tiveram mães com diagnóstico de TEPT gestacional.

8.2.7 Expressão das proteínas BDNF, DCX e Sinaptofisina no hipocampo pela técnica de *Western Blotting*

As proteínas BDNF, DCX e Sinaptofisina são importantes no processo de aprendizagem e memória. Sendo o BDNF e DCX mais estudados em relação ao tema cognição e efeitos do estresse. Dessa forma, estudos científicos têm realizado testes comportamentais de memória e quantificação dessas proteínas.

Considerando a proteína BDNF, há os seguintes estudos: o estudo conduzido por Shang e colaboradores (2019), que avaliou o tratamento e os efeitos do estresse gestacional de contenção, na prole macho (com 30 dias); e o estudo de Guan e colaboradores (2017), que utilizou o estresse crônico materno e avaliou seus efeitos na prole macho e fêmea (com 42 dias). Os resultados de ambos indicaram uma redução no nível de BDNF para o grupo dos filhotes de mães estressadas e maior latência para alcançar o quadrante alvo no Labirinto Aquático de Morris, corroborando, assim, com os resultados desta pesquisa em questão.

O teste de Labirinto Aquático de Morris tem tido uma forte correlação com a Potenciação de Longo Prazo (LTP) que é extremamente importante para formação de memórias (SHANG *et al.*,2019). Destaca-se, então, a relevância do BDNF para ocorrência desse fenômeno.

Um outro trabalho de Fatima e colaboradores (2019), também encontrou redução dos níveis de BDNF para a prole macho (entre 8 a 13 dias) de mães que sofreram estresse variado imprevisível durante a gestação. Assim como o estudo de Lee e colaboradores (2016), que utilizou estresse de exposição a cão de caça, e observou que os filhotes de mães estressadas apresentaram redução de BDNF, Tirosina quinase B (receptor de BDNF) e de DCX. No entanto, esses estudos não realizaram testes comportamentais relacionados com a memória.

Em relação a proteína DCX, o estudo de Liao e colaboradores (2019) identificou uma redução no número de células DCX positivas na prole macho (60 dias) de ratas que sofreram estresse de contenção durante a gestação. Esse resultado reforça, então, o que foi encontrado nesta investigação.

A ocorrência de um menor nível de BDNF e DCX em conjunto com os prejuízos na memória foi verdadeira apenas para os filhotes machos. Sendo assim, uma das hipóteses, desta pesquisa, para não ter encontrado diferenças na porcentagem de BDNF e DCX nas fêmeas é que o estresse não foi capaz de promover uma redução desses fatores, visto que as fêmeas apresentam algum mecanismo molecular protetivo que conferiu ausência de diferenças na quantidade proteica (BDNF e DCX).

Outra questão levantada seria em relação aos testes comportamentais, pois as fêmeas de mães estressadas foram menos afetadas que os machos nesses testes (sem diferenças no desenvolvimento físico e reflexo, sem alterações da locomoção, sem diferenças no reconhecimento de objetos de 2 horas). No entanto, apresentaram prejuízos na memória de reconhecimento de 24 horas e prejuízos na memória espacial no Labirinto Aquático de Morris. Dessa forma, considerou-se que as fêmeas podem ter tido prejuízos moleculares de outras proteínas que não foram avaliadas neste estudo e que possuem algum papel importante para a cognição.

Em relação a proteína sinaptofisina, o estudo de Gemmel e colaboradores (2016) corrobora com resultados levantados neste estudo, já que não encontrou diferenças na densidade de sinaptofisina na região do hipocampo. Eles utilizaram de estresse contensão e avaliaram os efeitos na prole pós-desmame. Na literatura científica, não foi possível encontrar mais estudos que abordassem o estresse no período perinatal e as consequências em relação a proteína sinaptofisina na prole.

Diante do exposto, observou-se que há estudos na literatura que mostram que o estresse gestacional pode reduzir o teor proteínas na prole (BDNF, DCX), no entanto, esses estudos são em sua maioria em machos. Além disso, acreditamos que há diferenças sexuais no período pré-púbere como foi demonstrado em alguns estudos como, Barbie-Shoshani e colaboradores (2016) que identificou que a prole fêmea na idade pré-púbere do grupo controle apresentou um maior número de DCX no hipocampo na região do giro denteado em relação aos machos, indicando assim um aumento da ativação da neurogênese. Assim como, o estudo de Bock e colaboradores (2011) demonstrou que ratas fêmeas na idade pré-púbere tem um maior número de espinhos dendríticos, maior comprimento dendrítico e maior complexidade em neurônios granulares do giro denteado em comparação com os machos. Desta forma, se há diferenças entre os sexos para os animais controles nessa fase de vida, consideramos que a existência de algum transtorno pode sim ter um percurso diferente quando consideramos o sexo.

Alguns estudos têm relatado as diferenças entre os sexos para determinadas doenças e para alguns tratamentos, no entanto na maioria dos casos os estudos são realizados em animais adultos (SAKHAIE *et al.*, 2020). Dessa forma, para termos uma resposta mais conclusiva e assertiva mais estudos que avaliem as diferenças sexuais em períodos distintos da vida são necessários.

8.2.8 Correlação entre porcentagem das proteínas BDNF, DCX e Sinaptofisina com o índice de reconhecimento de objetos.

A correlação entre os níveis de BDNF, DCX e Sinaptofisina com os testes de memória é importante, pois demonstra o quanto esses fatores estão associados. Nesse trabalho, foi correlacionado a quantidade de proteína com o índice de reconhecimento de objetos para cada animal em específico.

Na literatura científica não foi encontrado estudos em animais que fazem essa correlação. No entanto, foi encontrado um estudo em humanos, de Costa e colaboradores (2015) que demonstrou uma correlação positiva com os níveis séricos de BDNF e parâmetros cognitivos como, atenção e domínio executivo, em pessoas com doença de Parkinson com comprometimento cognitivo leve. Isso indicou que, quanto maior os níveis séricos de BDNF maior seria a atenção e execução de tarefas. No presente trabalho, foi demonstrado também uma correlação positiva entre BDNF e índice de reconhecimento de objetos, ou seja, maiores concentrações de BDNF indicaram maiores índices de reconhecimento de objetos para filhotes fêmeas (reconhecimento de 2 horas – pequena correlação) e filhotes machos (reconhecimento de 24 horas – moderada correlação). Assim como, menores concentrações de BDNF indicam menores índices de reconhecimento de objetos. Desta forma, ter maior concentração de BDNF implicaria em melhores resultados de memória de reconhecimento de objetos para os grupos citados acima.

Para a correlação entre a proteína DCX e índice de reconhecimento de objetos também foi encontrado correlação positiva para os filhotes machos (reconhecimento de 2 horas e 24 horas, moderada e alta correlação respectivamente), ou seja, níveis mais elevados da proteína tendem a melhor memória de reconhecimento de objetos, assim como, níveis menores de proteínas com menores índices de reconhecimento. No grupo de fêmeas (reconhecimento de 24 horas – pequena correlação), no entanto, a correlação foi negativa, o que indica menores níveis de proteínas com maiores índices de reconhecimento e vice-versa.

Considerando a proteína Sinaptofisina, foi encontrado correlação positiva para os filhotes machos (reconhecimento de 2 horas – pequena correlação), que indica que maior teor de proteína implicaria em maiores índices de reconhecimento de objetos. No entanto, para as fêmeas (reconhecimento de 2 horas e 24 horas – moderada e alta correlação, respectivamente) a correlação foi negativa, ou seja, menores níveis de Sinaptofisina implicam em maiores índices de reconhecimento de objetos.

Diante do que os estudos demonstram, que o estresse durante a gestação, ou seja, em uma fase uterina, pode ocasionar em déficits de memória após o nascimento, seja em uma fase precoce ou na idade adulta, enfatiza-se a importância de elucidar quais as proteínas envolvidas

nesse processo de prejuízo de memória. Nesse propósito, encontramos que as proteínas BDNF, DCX estavam reduzidas em filhotes machos do grupo de mães modelo do TEPT. Outros estudos com o estresse gestacional, mas não com o TEPT, identificaram também reduções das duas proteínas citadas acima, além de ter encontrado prejuízos em testes de memória. No entanto, nenhum estudo avaliou a correlação entre essas proteínas e cada resultado encontrado de memória. Dessa forma, evidencia-se que esse estudo foi o primeiro a realizar essa correlação.

9 CONCLUSÃO

Diante dos resultados encontrados neste trabalho, pode-se concluir que, o TEPT gestacional ocasionou em déficits de memória para a prole em idade pré-púbere de ambos os sexos e que a redução das proteínas BDNF e DCX podem ser consideradas um dos fatores responsáveis pelo prejuízo de memória nos filhotes machos. Além disso, deve-se salientar a importância de detectar esses prejuízos cognitivos em uma fase precoce, por exemplo, na fase pré-púbere, assim o indivíduo terá um adequado tratamento e seu desenvolvimento neurológico não será tão comprometido.

REFERÊNCIAS

ACHESON, D. T.; GRESACK J. E.; RISBROUGH V. B. Hippocampal dysfunction effects on context memory: possible etiology for posttraumatic stress disorder. **Neuropharmacology**, San Diego, v. 62, n. 2, pg 674-85, fev. 2012.

Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21596050/>

Acesso em: 27 out. 2020.

ALVES, F. R. A. C. *et al.* Metabolic syndrome accentuates post-traumatic stress disorder-like symptoms and glial activation. **Behav Brain Res**, Alfenas, v. 384, abr. 2020.

Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32061590/>

Acesso em: 27 out. 2020.

AMBROS, V. The functions of animal microRNAs. **Nature**. Hanover, v. 431, p. 350-355, set.2004.

Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15372042/>

Acesso em: 27 out. 2020.

AMUGONGO, S. K; HLUSKO, L. J. Impact of maternal prenatal stress on growth of the offspring. **Aging Dis**, Berkeley, v. 5, p. 1-16, Ago. 2014.

Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24490112/>

Acesso em: 27 out. 2020.

ARAÚJO, Á. C.; LOTUFO NETO, F. L. The new north american classification of Mental Disorders-DSM-5. **Rev. Bras. de Ter. Comp. Cogn**, São Paulo, v. XVI, n. 1, p. 67-82, 2014.

Disponível em:

http://pepsic.bvsalud.org/scielo.php?pid=S151755452014000100007&script=sci_abstract&tln g=en

Acesso em: 24 out. 2020.

ATEN, S. *et al.* miR-132 couples the circadian clock to daily rhythms of neuronal plasticity and cognition. **Learn Mem**, Columbus, v. 25, n. 5, pg 214-229, abr.2018.

Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29661834/>

Acesso em: 27 out. 2020.

AYANLAJA, A. A. *et al.* Distinct Features of Doublecortin as a Marker of Neuronal Migration and Its Implications in Cancer Cell Mobility. **Front Mol Neurosci**, Xuzhou, v. 10, n. 199, pg 1-13, jun. 2017.

Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28701917/>.

Acesso em: 27 out. 2020.

BABENKO, O.; KOVALCHUK, I.; METZ, G.A. Stress-induced perinatal and transgenerational epigenetic programming of brain development and mental health. **Neurosci Biobehav Ver**, Lethbridge, v. 48, pg 70-91, 2015.

Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25464029/>.

Acesso em: 27 out. 2020.

BADACHE, S. *et al.* Prenatal noise and restraint stress interact to alter exploratory behavior and balance in juvenile rats, and mixed stress reverses these effects. **Stress**, Annaba, v. 20, n° 3, pg 320-328, mar. 2017.

Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28316272/>
Acesso em: 27 out. 2020.

BARBIE-SHOSHANI, Y. *et al.* Sex-Specific Effects of Prenatal Stress on Memory and Markers of Neuronal Activity in Juvenile Rats. **Dev Neurosci**, Jerusalém, v. 38, no 3, pg 206-219, jul. 2016.

Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27372837/>.
Acesso em: 27 out. 2020.

BATINIĆ, B. *et al.* Lipopolysaccharide exposure during late embryogenesis results in diminished locomotor activity and amphetamine response in females and spatial cognition impairment in males in adult, but not adolescent rat offspring. **Behav Brain Res**, Belgrade, p. 72-80, 2016.

Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26620494/>
Acesso em: 27 out. 2020.

BATINIĆ, B. *et al.* Positive modulation of $\alpha 5$ GABA(A) receptors in preadolescence prevents reduced locomotor response to amphetamine in adult female but not male rats prenatally exposed to lipopolysaccharide. **Int J Dev Neurosci**, Belgrade, v.61, p. 31-39, jun. 2017.

Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28610974/>
Acesso em: 27 out. 2020.

BATISTA, T. H; GIUSTI-PAIVA A.; VILELA F. C. Maternal protein malnutrition induces autism-like symptoms in rat offspring. **Nutr Neurosci**, Alfenas, v. 22, n. 9, pg 655 -663, 2019.

Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29375017/>
Acesso em: 27 out. 2020.

BENGOETXEA, X. *et al.* Effects of perinatal diet and prenatal stress on the behavioural profile of aged male and female rats. **Journal of Psychopharmacology**, Pamplona, v. 31, n. 3, p. 356-364, 2017.

Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28114845/>
Acesso em: 27 out. 2020.

BERARDI, A. *et al.* An updated animal model capturing both the cognitive and emotional features of post-traumatic stress disorder (PTSD). **Front Behav Neurosci**, Roma, v. 8 , n. 142 p. 1-12, abr. 2014.

Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24808840/>
Acesso em: 27 out. 2020.

BERARDINO, B. G.; FESSER, E. A.; CÁNEPA, E. T. Perinatal protein malnutrition alters expression of miRNA biogenesis genes Xpo5 and Ago2 in mice brain. **Neurosci Lett**, Buenos Aires, v. 24, n. 647, p. 38-44, 2017.

Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28300636/>
Acesso em: 27 out. 2020.

BIFULCO, A. *et al.* Exploring psychological abuse in childhood: II. Association with other abuse and adult clinical depression. **Bull Menninger Clin**, Londres, v. 66, n. 3, p. 241-258, 2002

Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12448629/>
Acesso em: 27 out. 2020.

BINDER, D. K.; SCHARFMAN, H. E. Brain-derived neurotrophic factor. **Growth Factors**, New York, v. 22, n. 3, p. 123-131, maio 2004.

Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15518235/>

Acesso em: 27 out. 2020.

BOSCH, O. J. *et al.* Prenatal stress increases HPA axis activity and impairs maternal care in lactating female offspring: implications for postpartum mood disorder. **Psychoneuroendocrinology**. Regensburg, v. 32, n. 3, p. 267-278, dez. 2007.

Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17337328/>

Acesso em: 27 out. 2020.

BRAUN, K. *et al.* Experience-induced transgenerational (re-)programming of neuronal structure and functions: Impact of stress prior and during pregnancy. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, Magdeburg, maio 2017.

Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28571876/>.

Acesso em: 27 out. 2020.

BREDY, T. W.; SUN, Y. E.; KOBOR, M. S. How the epigenome contributes to the development of psychiatric disorders. **Dev Psychobiol**, Brisbane, v. 52, n.4, p. 331-342, nov. 2009.

Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20127889/>

Acesso em: 27 out. 2020.

BROMLEY-BRITS, K.; DENG, Y.; SONG, W. Morris water maze test for learning and memory deficits in Alzheimer's disease model mice. **J Vis Exp**, Colúmbia, v. 53, jul. 2011.

Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21808223/>

Acesso em: 27 out. 2020.

CAO, X. *et al.* The timing of maternal separation affects morris water maze performance and long-term potentiation in male rats. **Dev Psychobiol**, Hefei, v. 56, n. 5, p. 1102-9, maio 2014.

Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23712516/>

Acesso em: 27 out. 2020

CHAGAS, Luana Aparecida. **Transtorno do estresse pós-traumático durante a gestação induz ao comportamento tipo-ansioso e desregulação do eixo hipotálamo pituitária-adrenal na prole**. 2020. Dissertação (Mestrado em Biociências Aplicadas à saúde)-Universidade Federal de Alfenas, Alfenas, MG, 2020.

CHAPMAN, D. P. *et al.* Adverse childhood experiences and the risk of depressive disorders in adulthood. **Journal of Affective Disorders**, Atlanta, v. 82, p. 217-225, dez. 2003.

Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15488250/>

Acesso em: 27 out. 2020.

CHEN, M.X. *et al.* Níveis de interleucina-18 no hipocampo e comportamento de descendentes de ratos adultos expostos ao estresse de restrição pré-natal durante a gravidez precoce e tardia. **Regen Neural Res**, Kunming, v. 15, nº 9, p. 1748-1756, set. 2020.

Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32209782/>

Acesso em: 27 out. 2020.

CHEN X. *et al.* Early fear as a predictor of avoidance in a rat model of post-traumatic stress disorder. **Behav Brain Res**. Winnipeg, v. 226, n. 1, p. 112-117, set. 2011.

Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21924297/>

Acesso em: 27 out. 2020

COHEN, S.J.; STACKMAN, R. W. J. R. Assessing rodent hippocampal involvement in the novel object recognition task. A review. **Behav Brain Res**, Boca Raton, v.2 85, p. 105-17, Ago. 201.

Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25169255/>

Acesso em: 27 out. 2020

COOK, N.; AYERS, S.; HORSCH, A. Maternal posttraumatic stress disorder during the perinatal period and child outcomes: A systematic review. **J Affect Disord**, Londres, v. 225, p. 18-31, Jul. 2018.

Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28777972/>.

Acesso em: 27 out. 2020

COPE, E.C.; GOULD, E. Adult Neurogenesis, Glia, and the Extracellular Matrix. **Cell Stem Cell**, Princeton, v. 24, n. 2, p. 690-705, maio 2019.

Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31051133/>.

Acesso em: 27 out. 2020.

COLVONEN, P. J. *et al.* A Review of the Relationship Between Emotional Learning and Memory, Sleep, and PTSD. **Curr Psychiatry Rep**, San Diego, v. 21, n.1, jan. 2019.

Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30661137/>.

Acesso em: 27 out. 2020

CORVALAN, J.C.; KLEIN, D. PTSD: diagnosis, evolution, and treatment of combat-related psychological/psychiatric injury. **Mo Med**, v.108, n.4, p. 296-303, ago. 2011.

Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21905450/>.

Acesso em: 27 out. 2020

COSTA, A. *et al.* Brain-derived neurotrophic factor serum levels correlate with cognitive performance in Parkinson's disease patients with mild cognitive impairment. **Front Behav Neurosci**, Turin, v. 15, n. 9, set. 2015.

Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26441580/>

Acesso em: 27 out. 2020

CZARNABAY, D. *et al.* Repeated three-hour maternal deprivation as a model of early-life stress alters maternal behavior, olfactory learning and neural development. **Neurobiol Learn Mem**, Porto Alegre, v. 163, jul. 2019.

Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31310813/>.

Acesso em: 27 out. 2020

DE CAMPO, D. M. *et al.* Maternal deprivation alters expression of neural maturation gene *tbr1* in the amygdala paralamina nucleus in infant female macaques. **Dev Psychobiol**, Rochester, v. 59, n. 2, p. 235-249, nov. 2016.

Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27917473/>.

Acesso em: 27 out. 2020

CERRO D., M.C. *et al.* Maternal care counteracts behavioral effects of prenatal environmental stress in female rats. **Behav Brain Res**, Madri, v. 208, n. 2, p. 593-602, jan. 2010.

Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20079763/>

Acesso em: 27 out. 2020

DELAERE, F.; MAGNAN, C.; MITHIEUX, G. Hypothalamic integration of portal glucose signals and control of food intake and insulin sensitivity. **Diabetes Metab. Elsevier Masson SAS**, Lyon v. 36, p. 257-262, maio 2010.

Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20561808/>

Acesso em: 27 out. 2020

DIKMEN-YILDIZ, P.; AYERS, S.; PHILLIPS, L. Longitudinal trajectories of post-traumatic stress disorder (PTSD) after birth and associated risk factors. **Journal of Affective Disorders**, Londres, v. 229, p. 377-385, dezembro 2017.

Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29331697/>

Acesso em: 27 out. 2020

DUBEY, S. *et al.* Psychosocial impact of COVID-19. **Diabetes Metab Syndr**, Kolkata v. 5, p. 779-788, maio 2020.

Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32526627/>

Acesso em: 27 out. 2020

DUNN, E. C. *et al.* Developmental timing of child maltreatment and symptoms of depression and suicidal ideation in young adulthood: Results from the national longitudinal study of adolescent health. **Depression and Anxiety**, Boston v. 30, p. 955-964, fev. 2013.

Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23592532/>

Acesso em: 27 nov. 2020

DUTHEIL, F.; MONDILLON, L.; NAVEL, V. PTSD as the second tsunami of the SARS-Cov2 pandemic. **Psychological Medicine**, Clermont-Ferrand, p. 1-2, Abr. 2020.

Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32326997/>

Acesso em: 27 nov. 2020

EHRlich, D.E. *et al.* Prenatal stress, regardless of concurrent escitalopram treatment, alters behavior and amygdala gene expression of adolescent female rats. **Neuropharmacology**, Atlanta, v. 97, p. 251-258, jun. 2015.

Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26032436/>

Acesso em: 5 out. 2020

FARIAS, D.R. *et al.* Prevalence of psychiatric disorders in the first trimester of pregnancy and factors associated with current suicide risk. **Psychiatry Res**, Rio de Janeiro, v. 210, n. 3, p. 962-968, ago. 2013.

Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24090486/>

Acesso em: 5 out. 2020

FATIMA, M. *et al.* Effects of chronic unpredictable mild stress induced prenatal stress on neurodevelopment of neonates: Role of GSK-3 β . **Sci Repol**, v. 9, n. , p. 1305-1317, fev. 2019.

Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30718708/>

Acesso em: 5 out. 2020

FERRI, C. P. *et al.* The impact of maternal experience of violence and common mental disorders on neonatal outcomes: a survey of adolescent mothers in Sao Paulo, Brazil. **BMC Public Health**, Londres, v. 7, n. 209, ago. 2007.

Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17705835/>.

Acesso em: 12 out. 2020

FINSTERWALD, C. *et al.* From memory impairment to posttraumatic stress disorder-like phenotypes: The critical role of an unpredictable second traumatic experience. **Journal of Neuroscience**, New York, v. 35, n. 48, p. 15903–15915, dez. 2015.

Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26631471/>

Acesso em: 5 out. 2020

FOLTRAN, R. B.; DIAZ, S. L. BDNF isoforms: a round trip ticket between neurogenesis and serotonin? **J Neurochem**, Buenos Aires v. 138, n. 2 p. 204-221, 2016.

Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27167299/>

Acesso em: 5 out. 2020

FRAU, R. *et al.* Dysfunctional mesocortical dopamine circuit at pre-adolescence is associated to aggressive behavior in MAO-A hypomorphic mice exposed to early life stress. **Neuropharmacology**, Cagliari, v. 159, jan. 2019.

Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30738037/>

Acesso em: 27 out. 2020

GEMMEL, M. *et al.* Perinatal fluoxetine increases hippocampal neurogenesis and reverses the lasting effects of pre-gestational stress on serum corticosterone, but not on maternal behavior, in the rat dam. **Behav Brain Res**, Athens, v. 339, p. 222-231, jan. 2018.

Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29203333/>

Acesso em: 27 out. 2020

GODSIL, B. P. *et al.* The hippocampal-prefrontal pathway: The weak link in psychiatric disorders? **European Neuropsychopharmacology**, Paris v. 23, n. 10, p. 1165–1181, jul. 2013.

Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23332457/>

Acesso em: 27 out. 2020

GOVINDARAJ, S. *et al.* Maternal psychological stress-induced developmental disability, neonatal mortality and stillbirth in the offspring of Wistar albino rats. **PLoS One**. Vol 12, nº 2, e0171089, 2017.

Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28222133/>

Acesso em: 27 out. 2020

GUAN, S.Z. *et al.* Effects of maternal stress during pregnancy on learning and memory via hippocampal BDNF, Arc (Arg3.1) expression in offspring. **Environ Toxicol Pharmacol**, Chennai, v. 46, p. 158-167, fev. 2017.

Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27474832/>

Acesso em: 27 out. 2020

GUDI, V. *et al.* Synaptophysin Is a Reliable Marker for Axonal Damage. **J Neuropathol Exp Neurol**, Hannover, v. 76, n. 2, p. 109-125, fev. 2017.

Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28177496/>.

Acesso em: 22 nov. 2020

GULYAEVA, N. V. Biochemical Mechanisms and Translational Relevance of Hippocampal Vulnerability to Distant Focal Brain Injury: The Price of Stress Response. **Biochemistry** Moscow, v. 84, n. 11, p. 1306–1328, ago. 2019.

Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31760920/>.

Acesso em: 22 nov. 2020

GUPTA, V. K. *et al.* TrkB receptor signalling: implications in neurodegenerative, psychiatric and proliferative disorders. **Int J Mol Sci**, Sydney v. 14, n. 5, p. 101122-42, maio 2013.

Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23670594/>.

Acesso em: 22 nov. 2020

HOGUE, C. W.; CHARD, K. M. A Window Into the Evolution of Trauma-Focused Psychotherapies for Posttraumatic Stress Disorder. **JAMA - Journal of the American Medical Association**, Cincinnati, v. 319, n. 4, p. 343–345, jan. 2018.

Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29362777/>.

Acesso em: 22 nov. 2020

HOPKINS, W.G. *et al.* Progressive statistics for studies in sports medicine and exercise science. **Med Sci Sports Exerc**, Middlesbrough, v.41, p. 3-13, set. 2008.

Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19092709/>.

Acesso em: 5 out. 2020

HUGHES, K. *et al.* The effect of multiple adverse childhood experiences on health: A systematic review and meta-analysis. **The Lancet Public Health**. Bangor, v. 2, n. 8, p. 356-366, ago. 2017.

Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29253477/>.

Acesso em: 5 out. 2020

HURLOCKER, M. C. *et al.* Examining the latent structure mechanisms for comorbid posttraumatic stress disorder and major depressive disorder. **Journal of Affective Disorders**, New Orleans, v. 229, p. 477–482, dez. 2018.

Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29334642/>.

Acesso em: 5 out. 2020

LIBERZON, I.; ABELSON, J. L. . Context Processing and the Neurobiology of Post-Traumatic Stress Disorder. **Neuron**. Ann Arbor, v. 92, n. 1, p. 14-30, outubro 2016.

Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27710783/>

Acesso em: 5 out. 2020

ITURRA-MENA, A. M. *et al.* Effects of prenatal stress on anxiety- and depressive-like behaviours are sex-specific in prepubertal rats. **J Neuroendocrinol**, Valparaíso, v. 30, n. 7, p. 1-34, 2018.

Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29772083/>.

Acesso em: 5 out. 2020

JIA, N. *et al.* Taurine promotes cognitive function in prenatally stressed juvenile rats via activating the Akt-CREB-PGC1 α pathway. **Redox Biol**, Xi'na, p.79-190, out. 2016.

Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27768969/>.
Acesso em: 27 out. 2020

JOHN, R.M. Prenatal Adversity Modulates the Quality of Maternal Care Via the Exposed Offspring. **Bioessays**, Cardiff, v. 41, n. 6, p. 1900- 1925, nov. 2019.
Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31094007/>.
Acesso em: 27 out. 2020

JOSEPH, D. N.; WHIRLEDGE, S. Stress and the HPA axis: Balancing homeostasis and fertility. **International Journal of Molecular Sciences**, New Haven, v. 18, n. 10, out. 2017.
Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29064426/>.
Acesso em: 27 out. 2020

KESSLER, R.C. *et al.* Childhood adversities and adult psychopathology in the WHO world mental health surveys. **British Journal of Psychiatry**, v. 197, p. 378-395, maio 2010.
Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21037215/>.
Acesso em: 27 out. 2020

KIRSTEN, T.B. *et al.* Prenatal zinc prevents communication impairments and BDNF disturbance in a rat model of autism induced by prenatal lipopolysaccharide exposure. **Life Sci**, São Paulo , v. 130, p. 12-17, mar. 2015.
Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25817235/>.
Acesso em: 27 nov. 2020

KNAFO, A.; JAFFEE, S.R. Gene-environment correlation in developmental psychopathology. **Dev Psychopathol**, Mount Scopus, v. 25, n. 1, p. 1-6, jan. 2013.
Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23398748/>.
Acesso em: 27 out. 2020

KOKOTOS, A.C. *et al.* Synaptophysin sustains presynaptic performance by preserving vesicular synaptobrevin-II levels. **J Neurochem**, Melbourne, v. 151, n. 1, p. 28-37, 2019.
Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31216055/>
Acesso em: 27 out. 2020

LAPLANTE, D. P. *et al.* Project Ice Storm: prenatal maternal stress affects cognitive and linguistic functioning in 5½-year-old children . **J Am Acad Criança Adolescente Psiquiatria**, Montreal, v. 47 , p. 1063-1072, set. 2008.
Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18665002/>.
Acesso em: 27 out. 2020

KIM, B. J. *et al.* Reduced neurogenesis after suppressed inflammation by minocycline in transient cerebral ischemia in rat. **Journal of the Neurological Sciences**, Seulu. 279, n. 1–2, p. 70–75, jan. 2009.
Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19185320/>
Acesso em: 27 out. 2020

LEAL, G.; BRAMHAM, C. R.; DUARTE, C. B. BDNF and Hippocampal Synaptic Plasticity. **Vitam Horm**, Coimbra, v. 104, p. 153-195, 2017.
Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28215294/>
Acesso em: 27 nov. 2020

LEE, B. *et al.* Melatonin ameliorates cognitive memory by regulation of cAMP-response element-binding protein expression and the anti-inflammatory response in a rat model of post-traumatic stress disorder. **BMC Neuroscience**, Seoul, v. 19, n. 1, p. 1–15, jul. 2018.

Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29973144/>

Acesso em: 27 out. 2020

LEE, M. Y. *et al.* Distinct Profiles of Cell-Free MicroRNAs in Plasma of Veterans with Post-Traumatic Stress Disorder. **Journal of Clinical Medicine**, Seattle, v. 8, n. 7, p. 963, jul. 2019.

Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31277223/>

Acesso em: 27 out. 2020

LEE, S. J. *et al.* Postnatal Treadmill Exercise Alleviates Prenatal Stress-Induced Anxiety in Offspring Rats by Enhancing Cell Proliferation Through 5-Hydroxytryptamine 1A Receptor Activation. **Int Neurorol J**, Busan, v.1, p. 57-64, maio 2016.

Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27230461/>.

Acesso em: 27 out. 2020

LIAO, L. *et al.* Gestational stress induced differential expression of HDAC2 in male rat offspring hippocampus during development. **Neuroscience Research**, Changsha, v. 147, p. 9–16, nov. 2018.

Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30452948/>

Acesso em: 27 out. 2020

LEFFA, D. T. *et al.* Systematic review and meta-analysis of the behavioral effect of methylphenidate in the spontaneously hypertensive rat model of attention-deficit/hyperactivity disorder. **Neurosci Biobehav Rev**. Vol 100, pg 166-179, 2019.

Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30826386/>

Acesso em: 27 out. 2020

LEONHARDT, H. *et al.* A targeting sequence directs DNA methyltransferase to sites of DNA replication in mammalian nuclei. **Cell**. Vol. 71, no 5, pg 865-873, 1992.

Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1423634/>

Acesso em: 27 out. 2020

LI, M. *et al.* Environmental Enrichment during Gestation Improves Behavior Consequences and Synaptic Plasticity in Hippocampus of Prenatal-Stressed Offspring Rats. **Acta Histochem Cytochem**. Vol 45, no 3, pg 157-166, 2012.

Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22829709/>

Acesso em: 27 out. 2020

LIAO, L. *et al.* Gestational stress induced differential expression of HDAC2 in male rat offspring hippocampus during development. **Neurosci Res**, Changsha, v. 147, pg 9-16, nov. 2018.

Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30452948/>.

Acesso em: 27 out. 2020

MARCO, E. M. *et al.* The maternal deprivation animal model revisited. **Neurosci Biobehav Rev**, Madrid, v. 51, pg 151-163, jan.2015.

Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25616179/>

Acesso em: 27 out. 2020

MELO, C. S. B. *et al.* Declínio cognitivo e perimenopausa: revisão sistemática. **Reprod Clim**, Alfenas, v. 32, n. 2, p. 132-137, jan. 2017.

Disponível em: <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/biblio-883431>

Acesso em: 27 out. 2020

MEUNIER, J. *et al.* Attenuation by a sigma1 (sigma1) receptor agonist of the learning and memory deficits induced by a prenatal restraint stress in juvenile rats. **Br J Pharmacol**, Montpellier, v. 14, n. 4, p. 689-700, abr. 2004.

Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15205309/>

Acesso em: 27 out. 2020

MILNER, T. A.; MCEWEN, B. S.; WATERS, E. M. Estrogen Effects on Hippocampal Synapses. **The Synapse**, New York , p. 195-219, 2014.

Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780124186750000079?via%3Dihub>

Acesso em: 27 out. 2020

MONK, C. *et al.* “Monk C, Lugo-Candelas C, Trumpff C. Prenatal Developmental Origins of Future Psychopathology: Mechanisms and Pathways. **Annu Rev Clin Psychol**, New York , v. 15, p. 317-344, fev. 2019.

Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30795695/>.

Acesso em: 27 out. 2020

MOURA, C. A. *et al.* Prenatal restraint stress impairs recognition memory in adult male and female offspring. **Acta Neuropsychiatr**, Natal, v. 29, p. 1-6, 2020.

Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31992385/>.

Acesso em: 27 out. 2020

MUZIK, M. *et al.* PTSD symptoms across pregnancy and early postpartum among women with lifetime ptsd diagnosis. **Depress Anxiety**, Ann Arbor, v. 33, n. 7, p. 584-591, jan. 2016.

Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26740305/>

Acesso em: 27 out. 2020

NAKHJIRI, E. *et al.* Effect of prenatal restraint stress and morphine co-administration on plasma vasopressin concentration and anxiety behaviors in adult rat offspring. **Stress**, Urmia, v. 20, n. 2, p. 205-211, mar. 2017.

Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28287019/>.

Acesso em: 27 out. 2020

NIEDERHOFER, H. REITER, A. Prenatal maternal stress, prenatal fetal movements and perinatal temperament factors influence behavior and school marks at the age of 6 years. **Fetal Diagn Ther**, v. 19, p. 160-162, mar. 2004.

Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14764962/>

Acesso em: 27 out. 2020

NIKNAZAR, S. *et al.* Effect of Maternal Stress Prior to Conception on Hippocampal BDNF Signaling in Rat Offspring. **Mol Neurobiol**, Tehran, v. 54, n. 8, p. 6436-6445, out. 2016.

Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27726112/>

Acesso em: 27 out. 2020

PENG, Z. *et al.* Ziprasidone ameliorates anxiety-like behaviors in a rat model of PTSD and up-regulates neurogenesis in the hippocampus and hippocampus-derived neural stem cells. **Behav Brain Res**, Xi'na, v. 244, p.1-8, jan. 2013.

Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23384713/>

Acesso em: 27 out. 2020

PATIN, V. *et al.* Effects of prenatal stress on maternal behavior in the rat. **Brain Res Dev Brain Res**, Mont-Saint-Aignan, v. 139, n. 1, p. 1-8, jul. 2002.

Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12414088/>

Acesso em: 27 out. 2020

POPOOLA, D. O.; CAMERON, N. M. Maternal care-related differences in males and females rats' sensitivity to ethanol and the associations between the GABAergic system and steroids in males. **Dev Psychobiol**, Binghamton, v. 60,n,4, p. 380-394, nov. 2017.

Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29442358/>

Acesso em: 27 out. 2020

POULOSE, S. M. *et al.* Miller MG, Scott T, Shukitt-Hale B. Nutritional Factors Affecting Adult Neurogenesis and Cognitive Function. **Adv Nutr**, Boston, v. 8, n. 6, p. 804-811, nov. 2017.

Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29141966/>

Acesso em: 27 out. 2020

PURCELL, R. H. *et al.* Sun B, Pass LL, Power ML, Moran TH, Tamashiro KL. Maternal stress and high-fat diet effect on maternal behavior, milk composition, and pup ingestive behavior. **Physiol Behav**, Baltimore, v. 104, n. 3, p. 474-479, maio 2011.

Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21605577/>

Acesso em: 27 out. 2020

RAABE, F. J.; SPENGLER, D. Epigenetic Risk Factors in PTSD and Depression. **Front Psychiatry**, Newark , v. 4, p. 80, ago. 2013.

Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23966957/>

Acesso em: 27 out. 2020

RAINEKI, C. *et al.* Effects of early-life abuse differ across development: infant social behavior deficits are followed by adolescent depressive-like behaviors mediated by the amygdala. **J Neurosci**, New York, v. 32, n. 22, p. 7758-7765, maio 2012.

Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22649253/>

Acesso em: 27 out. 2020

RONCONI, J. *et al.* A Meta-Analysis of Depressive Symptom Outcomes in Randomized, Controlled Trials for PTSD. **The Journal of nervous and mental disease**, v. 203, n. 7, p. 522-529, jul. 2015.

Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26075838/>

Acesso em: 27 out. 2020

SAALTINK, D. J.; VANZWET, E. W.; VREUGDENHIL, E. Doublecortin-Like Is Implicated in Adult Hippocampal Neurogenesis and in Motivational Aspects to Escape from an Aversive Environment in Male Mice. **eNeuro**, v. 7, n. 5, p. 1-12, outubro 2020.

Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32994174/>
Acesso em: 27 out. 2020

SAHU, S. S. *et al.* Neuroprotective effect of resveratrol against prenatal stress induced cognitive impairment and possible involvement of Na(+), K(+)-ATPase activity. **Pharmacol Biochem Behav**, Mangalore, v. 103, n. 3, p. 520-525, outubro 2012.

Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23044472/>
Acesso em: 27 out. 2020

SAKHAIE, N. *et al.* Sex-dependent effects of chronic fluoxetine exposure during adolescence on passive avoidance memory, nociception, and prefrontal brain-derived neurotrophic factor mRNA expression. **Brain Res Bull**, Ardabil, v. 162, p. 231-236, set. 2020.

Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32585291/>
Acesso em: 24 nov. 2020

SCHEPANSKI, S. *et al.* Prenatal Immune and Endocrine Modulators of Offspring's Brain Development and Cognitive Functions Later in Life. **Frontiers in immunology**, Hamburg, v. 9, n., p. 2186, set. 2018.

Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30319639/>
Acesso em: 27 out. 2020

SCHESTATSKY, S. *et al.* Historical evolution of the concept of posttraumatic stress disorder. **Braz J Psychiatry**, Porto Alegre, v.11, p. 8-11, 2003.

Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14523503/>
Acesso em: 27 out. 2020

SCHOENFELD, T. J. *et al.* Rhee D, Martin L, Smith JA, Sonti AN, Padmanaban V, Cameron HA. New neurons restore structural and behavioral abnormalities in a rat model of PTSD. **Hippocampus**, Belmont, v.29, n. 9, p. 848-861, fev. 2019.

Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30865372/>
Acesso em: 27 out. 2020

SHANG, Y. *et al.* rTMS Ameliorates Prenatal Stress-Induced Cognitive Deficits in Male-Offspring Rats Associated With BDNF/TrkB

Signaling Pathway. **Neurorehabil Neural Repair**, v. 33, n. 4, p. 271-283, abr.2019.

Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30979358/>
Acesso em: 27 out. 2020

SOARES-CUNHA, C. *et al.* Mild Prenatal Stress Causes Emotional and Brain Structural Modifications in Rats of Both Sexes. **Front Behav Neurosci**, Zhejiang, v. 12, p. 129, jul. 2018.

Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30034328/>
Acesso em: 27 out. 2020

SOLANKI, N. *et al.* Grape powder prevents cognitive, behavioral, and biochemical impairments in a rat model of posttraumatic stress disorder. **Nutr Res**, Houston, v. 35, p. 65-75, nov. 2014.

Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25533441/>
Acesso em: 27 out. 2020

SOUSA, N. The dynamics of the stress neuromatrix. **Molecular Psychiatry**, Gualtar, v. 21, n. 3, p. 302–312, jan. 2016.

Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26754952/>
Acesso em: 27 out. 2020

STRAGIER, E. *et al.* Brain plasticity and cognitive functions after ethanol consumption in C57BL/6J mice. **Translational Psychiatry**, Paris, v. 5, n. 12, p. e696-10, out. 2015.

Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26670281/>
Acesso em: 27 out. 2020

SU, Q. *et al.* Hippocampal Protein Kinase C Gamma Signaling Mediates the Impairment of Spatial Learning and Memory in Prenatally Stressed Offspring Rats. **Neuroscience**, Xian, v. 414, p. 186–199, jul. 2019.

Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31283971/>
Acesso em: 27 out. 2020

SUN, H. *et al.* Reduced levels of NR1 and NR2A with depression-like behavior in different brain regions in prenatally stressed juvenile offspring. **PLoS One**, Xian, v. 8, n. 11, e81775, nov. 2013.

Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24278457/>
Acesso em: 27 out. 2020

SUN, H. *et al.* Prenatal Stress Impairs Spatial Learning and Memory Associated with Lower mRNA Level of the CAMKII and CREB in the Adult Female Rat Hippocampus. **Neurochem Res**, Xian, v. 42, n. 5, p. 1496-1503, fev. 2017.

Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28236215/>
Acesso em: 27 out. 2020

TAN, S.Y.; YIP, A. Hans Selye (1907-1982): Founder of the stress theory. **Singapore Med J**, Honolulu, v.59, nº 4, pg 170-171, 2018.

Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29748693/>
Acesso em: 27 out. 2020

TANG, W.Y.; HO, S.M. Epigenetic reprogramming and imprinting in origins of disease. **Rev Endocr Metab Disord**, Cincinnati, v. 8, n. 2, p. 173-182, jul. 2007.

Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17638084/>
Acesso em: 27 out. 2020

TOKUMO, K.; HIRAI, T.; NISHINO, H. Effects of perinatal stress on the emotion-related behavior of the adolescent mouse. **Biol Pharm Bull**, Fukuyama, v.29, n, 5, p, 1036 -1038, jan. 2006.

Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16651741/>
Acesso em: 27 out. 2020

TOUMI, M. L.; MERZOUG, S.; TAHRAOUI, A. Effects of quercetin on predator stress-related hematological and behavioral alterations in pregnant rats and their offspring. **J Biosci, Annaba**, v. 41, n. 2, p. 237-249, maio 2016.

Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27240984/>
Acesso em: 27 out. 2020

TREZZA, V.; CAMPOLONGO P. The endocannabinoid system as a possible target to treat both the cognitive and emotional features of post-traumatic stress disorder (PTSD). **Front Behav Neurosci**, Roma, v. 7, ago. 2013.

Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23950739/>

Acesso em: 27 out. 2020

VAN DEN BERGH, B. R. H., DAHNKE, R.; MENNES, M. Prenatal stress and the developing brain: Risks for neurodevelopmental disorders. **Dev Psychopathol**, Jena, v.30, n. 3, p. 743-762, ago. 2018.

Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30068407/>

Acesso em: 27 out. 2020

VEGIOPOULOS, A.; HERZIG, S. Glucocorticóides, metabolismo e doenças metabólicas. **Mol Cell Endocrinol**, Heidelberg ,v. 275, p. 43-61, maio 2007.

Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17624658/>

Acesso em: 27 out. 2020

VERONESI, V. B. *et al.* Maternal dipyrone treatment during lactation in mice reduces maternal behavior and increases anxiety-like behavior in offspring. **Int J Dev Neurosci**, Alfenas, v. 58, p 74-81, fev. 2017.

Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28219765/>

Acesso em: 27 out. 2020

VERSTRAETEN, B. S. E. *et al.* Prenatal two-hit stress affects maternal and offspring pregnancy outcomes and uterine gene expression in rats: match or mismatch? **Biol Reprod**, Edmonton, v. 100, n. 1, p. 195-207, ago. 2019.

Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30084951/>

Acesso em: 27 out. 2020

VIGNATO, J. *et al.* Post-traumatic stress disorder in the perinatal period: A concept analysis. **Journal of Clinical Nursing**, San Diego, v. 26, n. 23–24, p. 3859–3868, mar. 2017.

Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28295746/>

Acesso em: 27 out. 2020

VILELA, F.C. *et al.* Experiencing early life maternal separation increases pain sensitivity in adult offspring. **Int J Dev Neurosci**, Alfenas,v. 62, p. 8-14 , jul. 2017.

Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28751239/>

Acesso em: 27 out. 2020

WARD, I.D. *et al.* Transgenerational programming of maternal behaviour by prenatal stress. **BMC Pregnancy Childbirth**, Lethbridge, v. 13, p. 1-9, jan. 2013.

Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23446000/>

Acesso em: 27 out. 2020

WEI, S. *et al.* Social defeat stress before pregnancy induces depressive-like behaviours and cognitive deficits in adult male offspring: correlation with neurobiological changes. **BMC Neurosci**, Jinan, v. 19, n. 1, p. 61- 82, out. 2018.

Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30326843/>

Acesso em: 27 out. 2020

WILSON, C. A; TERRY JUNIOR, A. V. Variable maternal stress in rats alters locomotor activity, social behavior, and recognition memory in the adult offspring. **Pharmacol Biochem Behav**, Augusta, v. 104, p. 47-61, dez. 2012.

Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23287801/>

Acesso em: 27 out. 2020

WILSON, C.A; VAZDARJANOVA, A, TERRY JUNIOR, A.V. Exposure to variable prenatal stress in rats: effects on anxiety-related behaviors, innate and contextual fear, and fear extinction. **Behav Brain Res**, Augusta, v. 238, p. 279-288, out. 2012.

Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23072929/>

Acesso em: 27 out. 2020

XU, L. *et al.* Restored presynaptic synaptophysin and cholinergic inputs contribute to the protective effects of physical running on spatial memory in aged mice. **Neurobiol Dis**, Nanjing, 2019.

Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31470103/>

Acesso em: 27 out. 2020

YAN, C.G. *et al.* Aberrant development of intrinsic brain activity in a rat model of caregiver maltreat. **Transl Psychiatry**, New York , v. 7, n. 1, p.1-9, jan. 2017.

Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28094810/>

Acesso em: 27 out. 2020

YAO, Y. *et al.* Ancestral exposure to stress epigenetically programs preterm birth risk and adverse maternal and newborn outcomes. **BMC Med**, Lethbridge , v. 12,n. 1, ago. 2014.

Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25286408/>

Acesso em: 27 out. 2020

YARIBEYGI, H. *et al.* The impact of stress on body function: A review. **Excli j**, Tehran ,v. 16 , p. 1057-1072, maio 2017.

Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28900385/>

Acesso em: 27 out. 2020

YILDIZ, P. D.; AYERS, S.; PHILLIPS, L. The prevalence of posttraumatic stress disorder in pregnancy and after birth: A systematic review and meta-analysis. **J Affect Disord**, London, v. 208, p. 634-645, out. 2016.

Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27865585/>

Acesso em: 27 out. 2020

ZHANG, X. G. *et al.* Epigenetic mechanism of maternal post-traumatic stress disorder in delayed rat offspring development: dysregulation of methylation and gene expression. **Genet Mol Res**, Chengdu, v.15, nº 3, ago. 2016.

Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27706597/>

Acesso em: 27 out. 2020

ZHANG, Y. *et al.* Changes of Wnt/ β -catenin signaling pathway in the hippocampus caused by prenatal stress induce depression- and anxietylike behaviors in rats. **Nan fang yi ke Da Xue Xue Bao**, v. 39, nº 2, pg 222-226, fev. 2019.

Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30890512/>

Acesso em: 27 out. 2020

ZHENG, X. X. *et al.* Icariin ameliorates learning and memory impairments through ERK/CaMKII α /CREB signaling and HPA axis in prenatally stressed female offspring. **Biomed Pharmacother**, Xi'na, v. 117, p. 1-10, jun. 2019.

Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31177064/>

Acesso em: 27 out. 2020