



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO

**Universidade Federal de Alfenas. UNIFAL-MG**

Rua Gabriel Monteiro da Silva, 700 Alfenas/MG. CEP 37130-000

Fone: (35) 3299-1000. Fax: (35) 3299-1063



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALFENAS**

**RENATA RAIMUNDA DE JESUS**

**IMPACTO DA LIMITAÇÃO NA CONSTRUÇÃO DO NINHO SOBRE O  
APRENDIZADO E MEMÓRIA DA PROLE PRÉ-PÚBERE**

**ALFENAS/MG**

**2024**

**RENATA RAIMUNDA DE JESUS**

**IMPACTO DA LIMITAÇÃO NA CONSTRUÇÃO DO NINHO SOBRE O  
APRENDIZADO E MEMÓRIA DA PROLE PRÉ-PÚBERE**

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Biociências Aplicado à Saúde pela Universidade Federal de Alfenas. Área de concentração: Biociências Aplicada à Saúde.

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Fabiana Cardoso Vilela Giusti.

**Alfenas/MG**

**2024**

Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal de Alfenas  
Biblioteca Central

De Jesus, Renata Raimunda .

Impacto da limitação na construção do ninho sobre o aprendizado e memória da prole pré-púbere / Renata Raimunda De Jesus. - Alfenas, MG, 2024.

84 f. : il. -

Orientador(a): Fabiana Cardoso Vilela Giusti.

Dissertação (Mestrado em Biociências Aplicadas à Saúde) - Universidade Federal de Alfenas, Alfenas, MG, 2024.

Bibliografia.

1. Restrição do Material de Nidificação. 2. Restrição do Material de Nidificação. 3. Plasticidade Neuronal. 4. Cognição. 5. Memória. I. Giusti, Fabiana Cardoso Vilela , orient. II. Título.

**RENATA RAIMUNDA DE JESUS**

**IMPACTO DA LIMITAÇÃO NA CONSTRUÇÃO DO NINHO SOBRE O  
APRENDIZADO E MEMÓRIA DA PROLE PRÉ-PÚBERE**

O(A) Presidente da banca examinadora abaixo assina a aprovação da Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Biociências Aplicada à Saúde pela Universidade Federal de Alfenas. Área de concentração: Biociências Aplicada à Saúde.

**Aprovada em: 19 de fevereiro de 2024.**

Profa. Dra. Fabiana Cardoso Vilela Giusti

Presidente da Banca Examinadora

Instituição: Universidade federal de Alfenas UNIFAL- MG

Prof. Dr. Bruno Zavan

Instituição: Universidade federal de Alfenas UNIFAL- MG

Profa. Dra. Patrícia Molz

Instituição: Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre- UFCSPA



Documento assinado eletronicamente por **Fabiana Cardoso Vilela Giusti**, **Usuário Externo**, em 20/02/2024, às 08:30, 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](https://sei.unifal-mg.edu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0), informando o código verificador **1184644** e o código CRC **32BF3CE7**.

*Dedico a finalização deste trabalho à Deus, ao meu esposo João Marcos e a minha orientadora e mãe na ciência **Fabiana Cardoso Vilela Giusti.***

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço de todo o coração a Deus, a fonte inesgotável de sabedoria e força que me guiou ao longo desta jornada acadêmica. Sua graça e orientação foram fundamentais em cada passo deste caminho.

À minha querida orientadora, a professora Dra. Fabiana Cardoso Vilela Giusti, expresso minha profunda gratidão. Sua sabedoria, orientação cuidadosa e paixão pela ciência foram a luz que iluminou meu percurso. Você é verdadeiramente uma mãe na ciência, moldando não apenas minha pesquisa, mas também minha jornada como estudante e pesquisadora. Aos seus lindos e amados filhos Rique e Lipe, pelos momentos cheio de alegria que compartilhamos juntos.

Ao meu amado esposo João Marcos, cujo apoio incondicional, paciência e compreensão tornaram possível cada momento dedicado a este trabalho. Sua presença ao meu lado é meu maior incentivo e alegria. Agradeço com todo o meu amor e gratidão, aos meus pais Neta de Jesus e José da Silva, obrigado por me ensinarem a importância da dedicação, da persistência e do amor incondicional. A minha irmã Raiany de Jesus e ao Rubens José, agradeço por serem pilares de apoio, sempre presentes para me encorajar e inspirar. Aos meus sogros Marta Oliveira e Petrônio Oliveira, e minha cunhada Milena Marques que me acolheram com amor e generosidade, agradeço por fazerem parte da minha jornada e pelo apoio constante.

A todos os meus amigos do laboratório, em especial a Dra. Viviana Carolina, Dra. Bárbara Garcia, Elisa Estevam, Prof. Dr. Tayllon dos Anjos, Teresa Da Ré, Bianca Silva, Luiza Rodrigues, que se tornaram minha segunda família durante essa jornada de estudo, agradeço por compartilharem conhecimento, desafios e momentos inesquecíveis.

À Me. Thaís Maciel, um grande presente que ganhei nessa jornada na qual, abriu as portas de sua casa e coração para mim, agradeço por sua amizade e acolhimento, que foram fundamentais em momentos de necessidade.

Ao Prof. Dr. Alexandre Guisti Paiva, minha sincera gratidão pelas orientações, pelas dicas cruciais e pela preciosa oportunidade no estágio docente. Suas palavras de sabedoria e apoio foram essenciais para o meu desenvolvimento.

As meninas, Dra. Cíntia Novais; Dra. Débora Cunha, Dra. Carolina Soares, Me. Débora Castilho do grupo "LAB MEET", que me acolheram de braços abertos e compartilharam seus conhecimentos e experiências. Suas colaborações e amizade foram inestimáveis ao longo deste percurso.

À minha orientadora de TCC, Cíntia Clementino, cuja orientação e incentivo me motivaram a seguir o caminho da ciência. Sua dedicação ao meu crescimento acadêmico nunca será esquecida.

À secretária e o coordenador do Programa de Biociências Aplicadas à Saúde, Adriana Aparecida e o Prof. Dr. Angel Mauricio pela paciência e apoio na burocracia que envolve a pesquisa acadêmica. A todos os professores, que contribuíram com valiosos insights e colaboração ao longo deste trabalho.

Ao técnico José Reis, que dedicou cuidado excepcionais aos animais que foram parte fundamental deste estudo. Sua paixão e comprometimento foram cruciais para o sucesso deste projeto.

Aos meus amigos e companheiros especiais de laboratório, Dra. Priscila Franco, Me. Lídia Melo e Me. Eduardo Alves, que estiveram ao meu lado, dia e noite, no laboratório, compartilhando risadas, desafios e descobertas. A presença de vocês fez cada momento valer a pena. Agradecimento especial aos animais que foram parte integrante desta pesquisa. Eles são verdadeiros heróis silenciosos deste estudo.

A UNIFAL-MG pelo grande apoio ao Programa Biociências Aplicado à Saúde

Que todas essas pessoas e instituições saibam que cada palavra de gratidão expressa aqui é carregada de emoção e apreço profundos. Sem o apoio de vocês, esta dissertação não teria sido possível. Vocês são parte fundamental desta conquista. Obrigada, do fundo do meu coração.

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

*“Somos o que lembramos e também aquilo que não queremos lembrar”*

(IVÁN IZQUIERDO)



## RESUMO

Os comportamentos maternos observados durante o período pós-natal desempenham papel crucial no desenvolvimento neurocognitivo da prole. O modelo de Limitação da Construção do Ninho (LCN) emerge como ferramenta essencial para simular estressores naturais, afetando a relação mãe-filhote. A restrição consciente do acesso aos materiais de nidificação expõe precocemente a prole ao estresse, sendo instrumental na análise das implicações dessas experiências no processamento de informações e na formação de memórias duradouras. Diante disso, o objetivo principal deste estudo foi investigar os impactos na cognição da prole durante os estágios iniciais da vida, decorrentes do modelo de estresse de LCN no período pós-natal e lactação. Os experimentos foram conduzidos utilizando ratas prenhas da linhagem *wistar*, distribuídas nos grupos controle e LCN. No Pós-Natal Dia 1 (PND1), os filhotes foram padronizados em 4 machos e 4 fêmeas e pesados no intervalo de 3 dias, enquanto as progenitoras foram pesadas no mesmo intervalo. Do PND2 ao PND9 os animais do grupo LCN foram submetidos ao modelo LCN, e o controle com a maravalha em abundância. Os comportamentos maternos (CM) foram avaliados de PND4 a PND9, e os testes comportamentais foram conduzidos nos filhotes do PND27 a PND33, incluindo o teste de Labirinto Aquático de Morris (LAM) para avaliação da memória espacial, Reconhecimento de Objetos (RO) para memória de reconhecimento de objetos, Medo Condicionado ao Contexto (MCC) para avaliar a memória aversiva e o teste de Campo Aberto (CA) para avaliação da locomoção e do tempo de imobilidade. O teste CA nas progenitoras foi realizado no PND6. Para análise estatística foi usado o teste “t” de *Student* ou a ANOVA de dois fatores com medidas repetidas, seguidos pelo pós-teste de *Tukey*. Os resultados revelaram um menor peso da ninhada do grupo LCN no período de lactação em comparação aos animais do grupo controle. No que tange ao CM, houve diminuição nos parâmetros maternos e aumento nos não maternos nos animais grupo LCN em comparação aos animais do grupo controle. No teste LAM, durante os dias de treinamento, os animais do grupo LCN (fêmeas e machos) apresentaram maior tempo para alcançar a plataforma e no dia do teste, os animais do grupo LCN permaneceram menos tempo no quadrante da plataforma em comparação ao grupo controle. Observou-se no teste de RO uma diminuição no tempo de exploração ao objeto novo nos animais do grupo LCN nos testes de 2 e 24 horas, respectivamente, em comparação aos animais do grupo controle, em consequência os animais do grupo LCN apresentaram um menor índice de reconhecimento nos testes de 2 e 24 horas em relação aos animais do grupo controle. No teste de Campo Aberto, não houve diferenças nos parâmetros avaliados, tanto nas progenitoras como na prole. Verificou-se no teste do MCC, um menor tempo de *freezing* nos animais do grupo LCN em relação aos animais do grupo controle. Pode-se concluir que a indução do estresse perinatal por LCN foi capaz de reduzir os parâmetros de comportamento materno, resultando em implicações na prole. Os animais do grupo LCN demonstraram déficits na memória, tanto em relação à memória espacial quanto ao reconhecimento de objetos. Além disso, evidenciou-se um déficit na memória aversiva, indicando dificuldade em lembrar ou reagir ao contexto associado ao estímulo aversivo, demonstrando assim que o LCN teve um impacto significativo sobre a memória e aprendizagem de ratos pré-púbere.

**Palavras-chave:** Restrição do Material de Nidificação; Comportamento Materno; Plasticidade Neuronal; Cognição; Memória.

## ABSTRACT

Maternal behaviors observed during the postnatal period play a crucial role in the neurocognitive development of offspring. The Nest Building Limitation (NBL) model emerges as an essential tool to simulate natural stressors, affecting the mother-offspring relationship. The conscious restriction of access to nesting materials exposes offspring to stress early on, being instrumental in analyzing the implications of these experiences on information processing and the formation of lasting memories. Thus, the main objective of this study was to investigate the impacts on offspring cognition during the early stages of life, resulting from the NBL stress model in the postnatal and lactation period. The experiments were conducted using pregnant Wistar rats, divided into control and NBL groups. On Postnatal Day 1 (PND1), the litters were standardized to 4 males and 4 females and weighed at 3-day intervals, while the mothers were weighed at the same intervals. From PND2 to PND9, the animals in the NBL group were subjected to the NBL model, and the control with abundant wood shavings. Maternal behaviors (MB) were assessed from PND4 to PND9, and behavioral tests were conducted on the offspring from PND27 to PND33, including the Morris Water Maze (MWM) for spatial memory assessment, Object Recognition (OR) for object recognition memory, Contextual Fear Conditioning (CFC) to assess aversive memory, and the Open Field Test (OFT) for evaluating locomotion and immobility time. The OFT in the mothers was performed on PND6. For statistical analysis, Student's t-test or two-way ANOVA with repeated measures followed by Tukey's post-test was used. The results revealed a lower litter weight in the LCN group during the lactation period compared to the control group animals. Regarding MB, there was a decrease in maternal parameters and an increase in non-maternal ones in the LCN group animals compared to the control group animals. In the MWM test, during the training days, the LCN group animals (females and males) took longer to reach the platform, and on the test day, the LCN group animals spent less time in the platform quadrant compared to the control group. In the OR test, a decrease in exploration time of the new object was observed in the LCN group animals in the 2 and 24-hour tests, respectively, compared to the control group animals, consequently, the LCN group animals showed a lower recognition index in the 2 and 24-hour tests relative to the control group animals. In the OFT, no differences were observed in the parameters evaluated, both in the mothers and in the offspring. In the CFC test, a shorter freezing time was observed in the LCN group animals compared to the control group animals. It can be concluded that the induction of perinatal stress by LCN was capable of reducing maternal behavior parameters, resulting in implications for the offspring. The LCN group animals demonstrated deficits in memory, both in terms of spatial memory and object recognition. Furthermore, a deficit in aversive memory was evidenced, indicating difficulty in remembering or reacting to the context associated with the aversive stimulus, thus demonstrating that LCN had a significant impact on memory and learning in prepubertal rats.

**Keywords:** Nesting Material Restriction; Maternal behavior; Neuronal plasticity; Cognition; Memory.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - O eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HPA) em resposta ao estresse.....	19
Figura 2 - Desenho de um subconjunto de comportamentos.....	21
Figura 3 - Representação temporal dos testes realizados na prole de rata submetidas ao modelo de estresse LCN.....	33
Figura 4 - Testes realizados na Prole.....	33
Figura 5 - Representação esquemática dos parâmetros analisados no comportamento materno.....	35
Figura 6 - Representação esquemática dos parâmetros analisados no comportamento não-materno.....	36
Figura 7- Representação do aparato de campo aberto.....	37
Figura 8 - Representação do aparato de Reconhecimento de Objetos.....	38
Figura 9 - Filhote em treinamento no LAM.....	40
Figura 10 - Câmara de condicionamento.....	41
Figura 12 - Ganho de peso das progenitoras.....	42
Figura 13 - Parâmetros avaliados no comportamento materno e não materno no PND4-PND9.....	43
Figura 14 - Parâmetros avaliados no comportamento materno e não materno no PND10-14.....	44
Figura 15 - Avaliação da porcentagem total do CM e não materno das progenitoras.....	45
Figura 16 - Parâmetros avaliados no teste de campo aberto das Progenitoras.....	46
Figura 17 - Acompanhamento do peso da ninhada durante a lactação.....	47
Figura 18 - Peso dos filhotes no dia do desmame (PND22) e no dia dos testes.....	48
Figura 19 - Tempo de latência para alcançar plataforma nos dias de treinamento.....	49
Figura 20 - Parâmetros avaliados no dia do teste LBM realizado na prole .....	50
Figura 21 - Desempenho comportamental da prole no teste de Reconhecimento de Objetos.....	51
Figura 22 - Expressão do Condicionamento Contextual do medo.....	52
Figura 23 - Parâmetros avaliados no teste de campo aberto da prole.....	53

## LISTA DE TABELA

Tabela 1- Referência do Delineamento do grupo experimental dos testes comportamentais.....	31
--	----

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACTH	Hormônio adrenocorticotrófico
BDNF	Fator Neurotrófico Derivado do Cérebro
CA	Campo Aberto
CEUA	Comissão de Ética no Uso de Animais
CM	Comportamento Materno
CMT	Comportamento Materno Total
CRH	Hormônio Corticotrofina
DCX	Doublecortin
DPP	Dia Pós Parto
GD	Dia de gestação
GR	Receptores de Glicocorticoides
LAM	Labirinto Aquático de Morris
LCN	Limitação da Construção do Ninho
LTP	Potenciação de Longo Prazo
MCC	Medo Condicionado ao Contexto
PND	Dia Pós Natal
RO	Reconhecimento de Objeto
TEPT	Transtorno do Estresse Pós Traumático
UNIFAL-MG	Universidade Federal de Alfenas

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>15</b>
<b>2</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA .....</b>	<b>17</b>
2.1	ESTRESSE .....	17
2.2	ESTRESSE PÓS-NATAL E ALTERAÇÕES NA PROLE.....	19
2.3	LIMITAÇÃO NA CONSTRUÇÃO NINHO E SEUS IMPACTOS NO DESENVOLVIMENTO DA PROLE .....	22
2.4	MEMÓRIA E COGNIÇÃO .....	25
2.5	MODELOS ANIMAIS PARA O ESTUDO DE MEMÓRIA E APRENDIZAGEM EM ROEDORES.....	27
<b>3</b>	<b>JUSTIFICATIVA .....</b>	<b>29</b>
<b>4</b>	<b>OBJETIVOS .....</b>	<b>30</b>
4.1.1	<b>Objetivo geral.....</b>	<b>30</b>
4.1.2	<b>Objetivos específicos.....</b>	<b>30</b>
<b>5</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>31</b>
5.1	ANIMAIS .....	31
5.2	GRUPOS EXPERIMENTAIS.....	31
5.3	DELINEAMENTO EXPERIMENTAL .....	32
5.4	LIMITAÇÃO DA CONSTRUÇÃO DO NINHO (LCN) .....	34
5.5	ANÁLISE ESTATÍSTICAS.....	34
5.6	ACOMPANHAMENTO DO GANHO DE PESO (MÃES E FILHOTES) .....	35
5.7	AVALIAÇÃO DO COMPORTAMENTO MATERNO .....	35
5.7.1	<b>Campo Aberto .....</b>	<b>37</b>
5.7.2	<b>Teste de Reconhecimento de Objetos .....</b>	<b>38</b>
5.7.3	<b>Labirinto Aquático de Morris.....</b>	<b>40</b>
5.7.4	<b>Medo Condicionado ao Contexto.....</b>	<b>41</b>
<b>6</b>	<b>RESULTADOS.....</b>	<b>43</b>
6.1	AVALIAÇÃO DAS PROGENITORAS .....	43

6.1.1	Ganho de peso das progenitoras .....	43
6.1.2	Avaliação do comportamento materno.....	44
6.1.3	Avaliação do Campo Aberto das Progenitoras.....	47
6.2	AVALIAÇÃO DA PROLE .....	48
6.2.1	Acompanhamento do peso da ninhada .....	48
6.2.2	Teste Labirinto Aquático de Morris.....	50
6.2.3	Teste Reconhecimento de Objetos .....	52
6.2.4	Teste de Medo Condicionado ao Contexto .....	53
6.2.5	Teste Campo Aberto na prole .....	54
7	DISCUSSÃO .....	56
7.1	DISCUSSÃO SOBRE GANHO DE PESO E TESTES REALIZADOS NAS PROGENITORAS .....	56
7.1.1	Ganho de peso durante a lactação e no desmame .....	56
7.1.2	Comportamento Materno.....	57
7.1.3	Teste de Campo Aberto Progenitoras.....	59
7.2	ANÁLISE DO GANHO DE PESO E PROCEDIMENTOS REALIZADOS NA PROLE (FÊMEA E MACHO).....	60
7.2.1	Ganho de peso da ninhada (DNP1-19) e dos filhotes (pós-desmame)...	60
7.2.2	Aprendizagem e memória espacial no teste de Labirinto de Aquático Morris.....	62
7.2.3	Memória de Reconhecimento de objetos .....	64
7.2.4	Medo Condicionado ao contexto.....	65
7.2.5	Avaliação do Campo Aberto Prole (Machos e Fêmeas).....	67
8	CONCLUSÃO.....	69
	REFERÊNCIAS.....	70
	ANEXOS.....	84

## 1 INTRODUÇÃO

O estresse durante o período perinatal demonstra forte associação com o desenvolvimento de transtornos como depressão e ansiedade, tanto na adolescência quanto na idade adulta dos descendentes (VAN DEN BERGH *et al.*, 2018; CAMPO *et al.*, 2017; MARCO *et al.*, 2015). Além disso, a exposição ao estresse durante o período perinatal pode exercer impactos consideráveis sobre a função cognitiva e a neuroplasticidade da prole, dada a natureza crítica desse período para o desenvolvimento do sistema nervoso central (VAN DEN BERGH, DAHNKE; MENNES, 2018). Portanto, as experiências adversas na infância, que se manifestam precocemente e ao longo do desenvolvimento, estão associadas a distúrbios neurocomportamentais e aumentam o risco de distúrbios neurológicos (KINSLEY *et al.*, 1999; OLAZÁBAL *et al.*, 2013).

No entanto, apesar dos prejuízos previamente mencionados decorrentes do estresse perinatal, há lacunas no conhecimento sobre sua relação com déficits cognitivos, especialmente em termos de memória e aprendizagem na fase precoce. Essas deficiências cognitivas podem estar presentes em diversos transtornos do neurodesenvolvimento e têm implicações significativas para a qualidade de vida a longo prazo (SCHMIDT; STERLEMANN; MÜLLER, 2008). Assim, torna-se evidente a necessidade de investigar os mecanismos subjacentes durante a fase inicial em modelos animais, especialmente em uma idade pré-púbere.

É importante considerar que diferentes modelos animais são utilizados para a indução de estresse perinatal, pois mimetizam e demonstram os comportamentos consequentes de situações estressoras. O modelo de estresse LCN é considerado um modelo mais "natural", pois consiste em limitar o material de construção do ninho. Essa interferência no ambiente produz consequências no preparo típico da fêmea com a chegada e a criação de seus filhotes (APFELBACH *et al.*, 2005).

A redução de maravalha não apenas limita a capacidade das mães de construir ninhos, mas também resulta na necessidade de construir ninhos com mais frequência, aumentando o manuseio brusco, o pisoteamento dos filhotes e reduzindo o tempo de cuidado. Esse paradigma se estabelece como um modelo de estresse muito útil para compreender o desenvolvimento da prole sob a influência do cuidado materno e, em particular, sob as condições de negligência materna. Vale ressaltar que a negligência



materna é a forma mais comum de maus-tratos contra crianças e adolescentes, sendo responsável por 50% dos casos em diversas situações (NUNES; SALES, 2016; YAN *et al.*, 2017; RATES *et al.*, 2015).

Portanto, hipotetizamos que a Limitação na Construção do Ninho (LCN) durante o período pós-natal prejudique o aprendizado e a memória da prole. Compreender os mecanismos relacionados a esses efeitos no início da vida é fundamental para avançar no conhecimento sobre o desenvolvimento cognitivo e neurocomportamental, bem como para o entendimento de como o estresse perinatal afeta os mecanismos envolvidos em transtornos do neurodesenvolvimento, possibilitando a identificação de estratégias de intervenção precoces.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 ESTRESSE

O termo "estresse" é amplamente difundido na vida cotidiana das pessoas. No entanto, é comum a ideia de que o estresse é algo prejudicial, com efeitos negativos na saúde humana que devem ser evitados. Do ponto de vista científico, é sabido que o estresse é uma resposta fisiológica adaptativa e fundamental para a sobrevivência e enfrentamento dos desafios diários. No entanto, a exposição repetida e prolongada a estímulos estressores pode sobrecarregar os mecanismos fisiológicos adaptativos, tornando o indivíduo mais vulnerável a doenças (MCEWEN, 2000; SOUZA, 2016).

Historicamente, o conceito de estresse foi introduzido nas ciências da saúde em 1936 por Hans Selye, que o definiu como um fenômeno não específico associado a uma ampla variedade de agentes nocivos (Selye, 1936). Ao analisar as repercussões fisiológicas do estresse, ele cunhou o termo "Síndrome Geral de Adaptação" (SGA), que descreve uma resposta defensiva do organismo diante de estímulos aversivos, ainda de acordo com o mesmo autor, diferentes tipos de estresse podem resultar em respostas distintas. Ele introduziu o conceito de "eustresse," que se refere a respostas consideradas positivas e preparatórias para enfrentar novos desafios, e o conceito de "distresse," que é caracterizado como estresse negativo, excessivo e associado a debilidades físicas, comportamentais e mentais.

Portanto, o estresse pode ser compreendido como uma condição que perturba a homeostase fisiológica e/ou psicológica, alterando a qualidade de vida e desencadeando respostas imediatas e/ou tardias (MCEWEN, 2000). O estresse pode se manifestar de forma aguda, ocorrendo em curtos períodos com alta intensidade e respostas imediatas, ou de forma crônica, prolongada, com menor intensidade e respostas mais tardias (TAN; YIP, 2018).

O estresse tem sido frequentemente associado a respostas a eventos estressores que desafiam a adaptação do organismo, perturbando a homeostase e desencadeando respostas cruciais para a adaptação e o retorno à estabilidade homeostática ideal (LEVINE, 2005). A homeostase refere-se à manutenção de estreitos parâmetros fisiológicos essenciais à sobrevivência, como temperatura corporal, pH e pressão de oxigênio, que são fundamentais para a vida (BRUCE, 2000). Quando essa zona estreita de equilíbrio biológico é perturbada, o organismo recorre

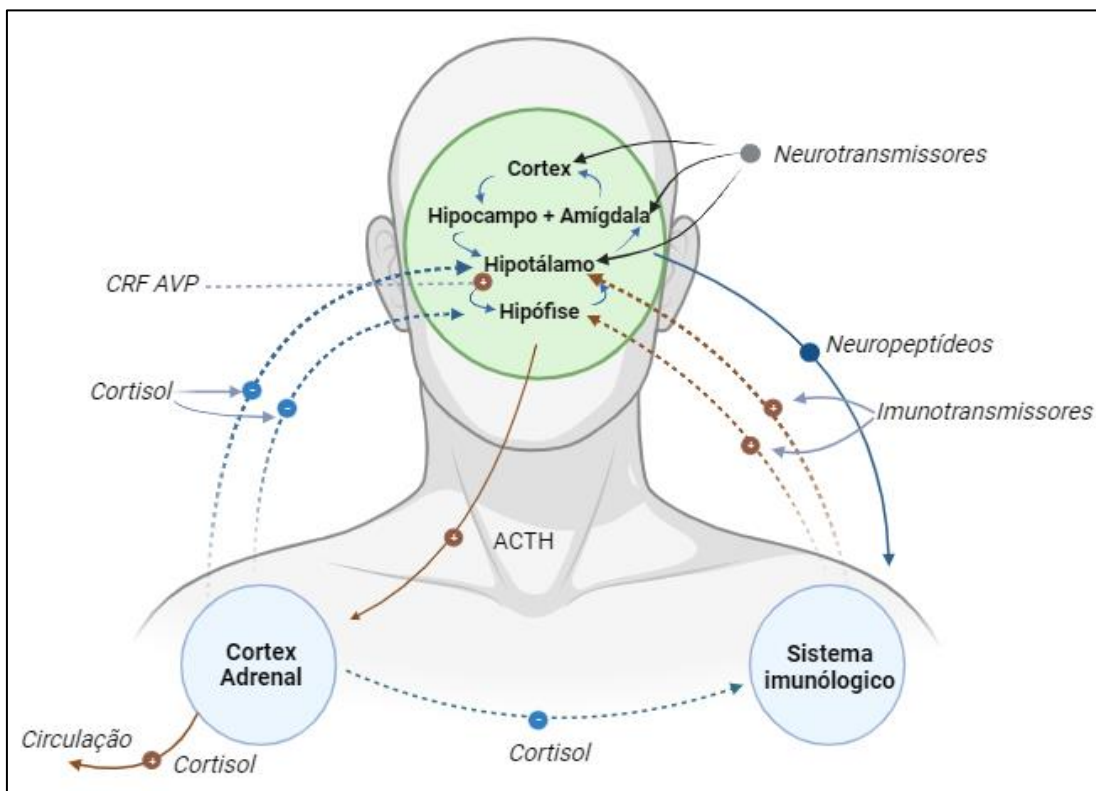
a um processo chamado alostase para recuperar sua estabilidade e assegurar sua sobrevivência. A alostase envolve ajustes orgânicos em resposta a eventos previsíveis e imprevisíveis, visando restabelecer o equilíbrio (MCEWEN; WINGFIELD, 2003).

Nesse contexto, a alostase é um termo mais apropriado para descrever os mecanismos de adaptação fisiológica do que a homeostase, que se concentra na manutenção de parâmetros vitais essenciais à sobrevivência. A mesma é o mecanismo que mantém o organismo funcionando e vivo, adaptando-se a desafios ambientais com resiliência a curto prazo (SAPOLSKY, 2000).

Assim, em busca de sobrevivência, o organismo desenvolve a capacidade de lidar com mudanças e desafios ambientais com resiliência (KARATSOREOS; MCEWEN, 2013). Quando essa capacidade não é alcançada, o estresse pode afetar cada pessoa de maneira única e representar um risco para o desenvolvimento de diversas doenças (SCHMIDT; STERLEMANN; MÜLLER, 2008).

As respostas ao estresse implicam três componentes principais que desencadeiam uma cascata neuroendócrina: o hipotálamo, a hipófise (ou pituitária) e as glândulas adrenais. Essas estruturas interligadas constituem o eixo HPA, reconhecido como o principal sistema fisiológico de reação ao estresse (MCEWEN 2000; SAPOLSKY 2000; TSIGOS, CHROUSOS 2002). No hipotálamo, ocorre a liberação do hormônio corticotrofina (CRH) na circulação portal-hipofisária. O CRH, por sua vez, estimula a produção do hormônio adenocorticotrófico (ACTH), que é lançado na corrente sanguínea e age no córtex da glândula adrenal, promovendo a síntese do hormônio glicocorticoide, cortisol em humanos e corticosterona em outras espécies, como roedores. Os glicocorticoides desempenham um papel crucial ao aumentar a disponibilidade de energia, facilitando a quebra de proteínas e gorduras, principalmente nos músculos, em resposta a situações de "luta ou fuga", além de metabolizar a glicose no fígado (MUNCK; GUYRE, 1984) Figura 1.

Figura 1- Componentes envolvidos na resposta ao estresse



Fonte: Adaptado de <http://neurotorium.org> (2016).

Assim, quando o estresse provoca respostas exacerbadas que ultrapassam a capacidade natural de enfrentamento, ocorrem alterações neuroendócrinas que podem estar associadas a problemas comportamentais e doenças na idade adulta, incluindo prejuízos na memória, aprendizado, sintomas semelhantes à depressão e ansiedade, além de desencadear alterações crônicas e processos fisiopatológicos significativos. Dentro desse cenário, é relevante salientar que cada pessoa reage de maneira única diante de um mesmo estímulo estressante, e a avaliação cognitiva desempenha um papel fundamental na determinação da intensidade da resposta ao estresse. (SOUZA, 2016; MCEWEN, 2000).

## 2.2 ESTRESSE PÓS-NATAL E ALTERAÇÕES NA PROLE

É sabido então, que os agentes estressores influenciam diretamente ao longo de todo o desenvolvimento, que diz respeito ao período pós-natal, ou seja, durante as primeiras fases do desenvolvimento, eventos estressantes contribuem com o aparecimento de vulnerabilidades e psicopatologias como já descrito anteriormente. Os cuidados maternos são direcionados para a proteção do organismo do seu dependente, e a privação desses cuidados podem resultar no rompimento dessa

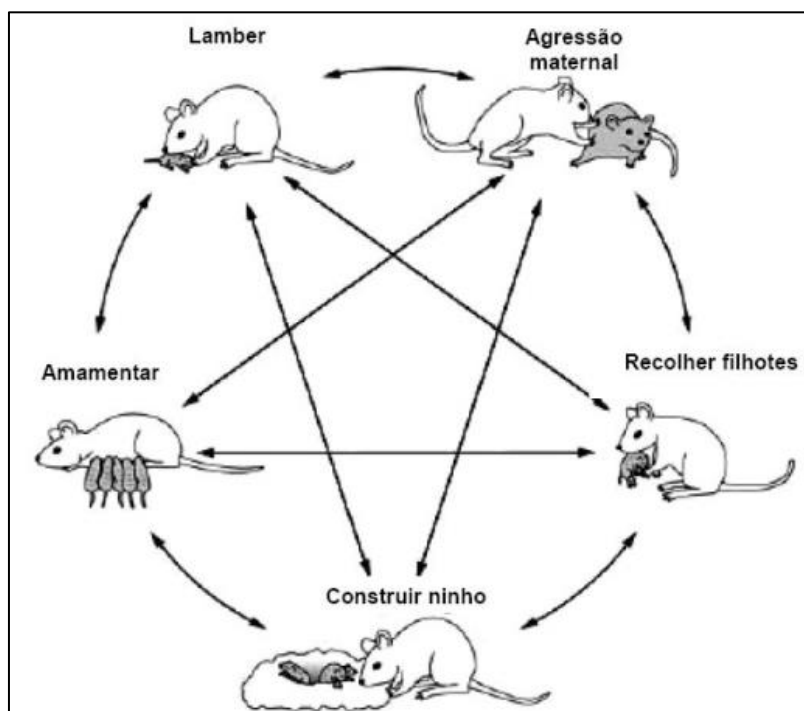
proteção tão essencial (DE BELLIS *et al.*, 1999; HEIM e NEMEROFF, 2001; NEWPORT *et al.*, 2002; GLUCKMAN *et al.*, 2005; MEIJER, 2006).

Diversos fatores interagem com o objetivo de promoverem o comportamento materno, como fatores psicológicos, ambientais, neurais e biológicos. Assim como as respostas fisiológicas e comportamentais compensatórias são geradas por mudanças internas, mudanças ambientais levam a alterações hormonais (SCHULKIN, 1999; TEODOROV; FELÍCIO; BERNARDI, 2010). Os hormônios gestacionais são essenciais no direcionamento do animal para o comportamento materno com os filhotes, e os neurotransmissores com a regulação e manutenção desses comportamentos no período de lactação (NUMAN, 1988; KINSLEY; AMORY-MEYER, 2011; ROBINSON; ZITZMAN; WILLIAMS, 2011; TEODOROV; FELÍCIO; BERNARDI, 2010).

Esse cuidado, oferece à prole que é exclusivamente dependente dessa relação, estímulos vitais, durante o seu desenvolvimento. Proporciona necessidades nutricionais, estímulos térmicos, olfatórios, visuais, auditivos e somatossensórios, porém, essa relação intensa entre mãe e prole não se resume apenas ao suprimento dessas necessidades. O ambiente é responsável por produzir impactos que trarão efeitos em animais e seres humanos neurobiologicamente e psicologicamente em todos os períodos da vida (DE BELLIS *et al.*, 1999; TEICHER, 2000; PRYCE; FELDON, 2003). As mães dos animais, antes do nascimento dos filhotes, constroem ninhos para prover a termorregulação dos seus filhotes, já que eles são incapazes, ao nascerem, de regularem sozinhos a sua temperatura corpórea (HENNESSY *et al.*, 1980). Além de regular a temperatura corporal, as mães lactantes de roedores adotam uma postura conhecida como "*crouching*" ou cifose fisiológica, na qual sua coluna se arqueia para oferecer amamentação e também para limpar os filhotes, lambendo-os. Esse comportamento não apenas limpa a área ano-genital dos filhotes, estimulando a defecação e a micção, mas também favorece a diferenciação sexual no cérebro da prole masculina (TEODOROV; FELÍCIO; BERNARDI, 2010).

Em roedores, as ações maternas são observadas e documentadas quando a rata exhibe comportamentos diretamente associados aos filhotes, como a construção do ninho, a estimulação da micção por meio de lambidas na região ano-genital, o agrupamento dos filhotes no ninho e o posicionamento sobre eles para fornecer nutrição e calor. Além disso, comportamentos maternos indiretos, como comportamento agressivo, também são registrados (MANN, 2006) Figura 2.

Figura 2 - Desenho de um subconjunto de comportamentos maternos



Fonte: Adaptado de GRAMMIE (2005).

Variações nesses e em outros comportamentos maternos, resultantes de diversas condições, seja com a mãe ou em seu ambiente, são associadas a distúrbios neurocomportamentais tardios apresentados no decorrer da vida. Estudos com modelos de estresse e separação materna mostraram que divergências na primeira infância aumentam o risco para distúrbios comportamentais e neurológicos (KINSLEY *et al.*, 1999; OLAZÁBAL *et al.*, 2013). Portanto, possíveis prejuízos são causados aos filhotes que tiveram o ambiente pós-natal alterado (DEL CERRO *et al.*, 2010; DE SOUZA *et al.*, 2011).

Nessa mesma perspectiva, Chagas e colaboradores (2020), avaliaram o estresse gestacional crônico e a influência do transtorno de estresse pós-traumático (TEPT) durante a gestação, e as respostas neuroendócrinas na mãe e nos filhotes, utilizando ratas *Wistar*, e o choque como indução ao estresse gestacional, no dia gestacional 10 (DG) e reexpondo as ratas ao choque no dia pós-natal 01, demonstrando que os filhotes provindos de ratas com TEPT, apresentaram níveis plasmáticos aumentados de corticosterona quando comparados a filhotes provindos

de ratas sem TEPT, além de um aumento de receptores de glicocorticoides (GR) no hipocampo.

Utilizando esse mesmo modelo de TEPT, Sá e colaboradores (2021), investigaram os possíveis déficits na memória e as alterações neurogênicas em filhotes de ratas *Wistar*, de ambos os sexos, em idade pré-púbere, verificando-se déficits de memória e a redução do fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) e *Doublecortin* (DCX). Além do estudo ter considerado que o prejuízo de memória nos filhotes machos foi consequência da redução das proteínas citadas.

Corroborando com tais resultados, Brunson, *et al.*, (2005), avaliaram o estresse no início da vida e os mecanismos de declínio cognitivo tardio, utilizando um modelo de restrição de material de nidificação, com ratos *Sprague-Dawley*, machos e fêmeas. Demonstram, que esse período curto de estresse no início da vida, foi muito significativo, levando a prole a prejuízos atrasados e progressivos das medidas sinápticas e comportamentais da função hipocampal, com implicações potenciais na base de distúrbios cognitivos relacionados à idade em humanos.

Portanto, quando identificamos déficits que surgem precocemente devido ao estresse no período pós-natal, eles podem servir como indicadores precoce de anormalidades comportamentais que podem se manifestar mais tarde na vida. Além disso, esses déficits podem ser associados a um maior risco de transtornos do neurodesenvolvimento (MESQUITA, *et al.*, 2007).

### 2.3 LIMITAÇÃO NA CONSTRUÇÃO NINHO E SEUS IMPACTOS NO DESENVOLVIMENTO DA PROLE

São utilizados diversos modelos animais de estresse perinatal que mimetizam ou tentam demonstrar os comportamentos consequentes de eventos estressores impostos pela natureza a espécies comumente utilizados para pesquisas básicas em laboratórios. Nessa perspectiva, alguns modelos de estresse, se apresentam de forma mais “natural”, ou seja, são utilizados estressores que interferem sobre o ambiente e, conseqüentemente, no preparo típico da fêmea com a chegada e a criação de seus filhotes (APFELBACH, *et al.*, 2005; MESQUITA, *et al.*, 2007; GLYNN e BARAM, 2019).

O método anteriormente mencionado, LCN é empregado para influenciar e diminuir esse zelo, consiste na restrição de maravalha na gaiola, conforme delineado no protocolo de Yan *et al.*, (2017). Com a diminuição da quantidade de maravalha, há

uma possível redução na habilidade das mães em construir ninhos, o que pode levar a construções mais frequentes, manipulação brusca e pisoteamento dos filhotes, resultando em menor tempo dedicado ao cuidado parental. Esse paradigma se configura como um modelo útil para induzir estresse nos animais, contribuindo para a compreensão do desenvolvimento da prole sob a influência do cuidado materno, notadamente caracterizado pela diminuição do cuidado maternal.

A imprevisibilidade e a carência de recursos para a construção do ninho é um meio de produzir um tipo de estresse psicossocial. Portanto, modelos de estresse que impedem a construção de um ninho razoável ou de uma maneira adequada, caracteriza um modelo que representa situações estressoras encontrado na natureza. Dessa forma, o ninho passa a ser fundamental na relação da mãe-filhote, já que esses animais produzem comportamentos de presa, e naturalmente precisam deste ninho como fonte de proteção frente ao predador, instintivamente (APFELBACH, *et al.*, 2005; ALDAO; NOLEN-HOEKSEMA; SCHWEIZER, 2010).

Estudos mostraram, que a limitação na construção do ninho induziu ao comportamento social disfuncional já na infância, no período pré-desmame e persistiu na adolescência. Embora não seja completamente compreendido, como os maus-tratos altera a trajetória do desenvolvimento do cérebro para a produção de patologias, o comportamento semelhante à depressão encontrado no período da adolescência, foi correspondido a um aumento na atividade neural da amígdala e do aumento da expressão de proteína de *c-Fos* nos núcleos lateral, basal e central na amígdala, uma vez que essa estrutura cerebral está relacionada à regulação emocional e que requer a interconexão dinâmica do hipocampo e córtex-frotal (MACRÍ *et al.*, 2011; GLYNN e BARAM, 2019).

Em outro estudo sobre a disfunção hipocampal e deficiências cognitivas provocadas por estresse crônico na infância, que também utilizou o modelo de estresse de limitação na construção do ninho, sugeriu, que além do estresse crônico prejudicar o aprendizado, os seus efeitos se mantêm constantes e pioram durante a idade adulta. Esses resultados estão associados a mudanças estruturais nos neurônios do hipocampo, incluindo a redução da arborização dendrítica (IVY *et al.*, 2010). Ainda nesse estudo, a expressão do hormônio promovido pelo estresse, corticotrofina (CRH), localizada nos dendritos das células piramidais, teve a sua expressão aumentada no hipocampo em animais estressados precocemente. Um bloqueador seletivo do receptor CRH tipo 1, administrado durante a semana após o



estresse crônico no início da vida, eliminou os déficits da função cognitiva dependentes do hipocampo, provocados por esse estresse, em ratos de meia-idade (LINCOLN; SCHULZE; RENNEBERG, 2022).

Gaudin e colaboradores (1996), também encontraram prejuízos nos filhotes. A avaliação foi realizada em filhotes, machos e fêmeas, *Sprague-Dawley*, limitando o material de aninhamento na gaiola no PND 02-09, influenciando na qualidade e na quantidade das atividades de nutrição e de cuidados maternos das mães com os seus filhotes, incorporando um elemento importante da negligência e do abuso na infância. Especificamente, no 9º dia pós-natal, filhotes que tiveram o ninho limitado, foram submetidos a estresse agudo de separação a frio junto com os controles. O grupo não tratado e com cama limitada, manifestou aumento da produção de corticosterona plasmática, mesmo sem exposição ao frio, e um aumento sustentado da corticosterona plasmática após estresse de separação a frio. Os prejuízos encontrados foram, pesos das glândulas suprarrenais aumentados, peso corporal menor, níveis basais de corticosterona plasmática mais elevados, e maior responsividade do eixo HPA a estressores agudos em comparação aos controles.

Segundo a hipótese da mediação maternal, o relacionamento entre o indivíduo e o seu ambiente, desenvolve uma relação linear, já que boas experiências resultariam em adaptações funcionais, e experiências negativas, levariam a más condições e patologias futuras. Através dessa visão, o organismo é considerado uma instituição passiva pelas mudanças ambientais. Em uma visão mais flexível, essa influência ambiental é considerada como uma capacidade constantemente adaptativa de plasticidade fenotípica, pois, as respostas geradas nos filhotes, vinda desse ambiente oferecido pela mãe, os informaria sobre as características do seu ambiente futuro (MACRÍ *et al.*, 2011; VAN DEN BERGH *et al.*, 2020).

Por último, no contexto da literatura fundamental, a utilização desse modelo de estresse animal ainda se encontra restrita, especialmente no que concerne aos aspectos cognitivos, como a exploração de eventuais déficits na memória e no aprendizado dos filhotes. Contudo, ao diminuir a capacidade da mãe em construir o ninho e proporcionar um ambiente saudável para os filhotes, ocorre um repertório distorcido e fragmentado dos cuidados maternos apropriados, possivelmente resultando em estresse crônico. Isso se apresenta como uma ferramenta valiosa para a investigação das consequências dessa experiência de estresse durante os estágios iniciais da vida (IVY *et al.*, 2008).

## 2.4 MEMÓRIA E COGNIÇÃO

Como destacado anteriormente, a restrição do material de nidificação mimetiza a negligência materna em relação à prole, proporcionando um cuidado fragmentado, pois os filhotes não recebem os cuidados adequados. Um estudo conduzido por Ivy (2008) revelou que os parâmetros de comportamentos maternos adequados se tornam notavelmente evidentes quando o material de nidificação é devolvido à gaiola. Esse retorno permite a reversão do comportamento negligente, com as atividades de cuidado materno normalizando e tornando-se indistinguíveis do grupo controle. Os resultados da pesquisa de Ivy (2008), foram claros ao avaliar os comportamentos maternos, incluindo a tendência de deixar os filhotes/abandonar o ninho, a duração da lambida e da limpeza.

Sugere-se que, embora a limitação na construção do ninho altere intensamente os comportamentos maternos, essa consequência pode ser revertida após a restauração de um ambiente "normal". Quando proporcionado um ambiente favorável à criação dos filhotes, é muito provável que a mãe realize os cuidados de maneira adequada, prevenindo assim possíveis consequências no desenvolvimento da prole (CROMWELL; PANKSEPP, 2011).

As intervenções na relação entre mãe e filhote, influenciam no desenvolvimento e no amadurecimento de todo o sistema neuronal (BENETTI *et al.*, 2007). Essas intervenções também influenciam no desenvolvimento da cognição, que é uma importante parte do funcionamento cerebral e que representa a recepção e percepção dos estímulos percebidos e interpretados, sendo um conjunto formado pela aprendizagem, tomada de decisão, atenção e julgamento.

Esse conjunto é diretamente influenciado pelo estresse, gerando muitos efeitos sobre a cognição e que vão depender de sua intensidade, duração, origem e magnitude. Assim como foi citado, o estresse não possui um significado conclusivo e por sua vez, a cognição, é também um conceito complexo e que envolve uma diversidade de processos, que lidam com informações e manipulam representações no cérebro, com o objetivo de produzir uma resposta adequada (CROMWELL; PANKSEPP, 2011; SANDI, 2013).

Contudo, alguns autores apontam que a cognição se refere a tudo o que está relacionado ao conhecimento. Envolve a aquisição de informações por meio da aprendizagem ou experiências e o processamento dessas informações por meio da

percepção dos diferentes sentidos, permitindo a integração de todos esses dados para avaliar e interpretar (CROMWELL; PANKSEPP, 2011; GONCALVES; TOMAZ; SANGOI, 2006). A cognição abrange diversos processos cognitivos, como aprendizagem, atenção, memória, linguagem, raciocínio, tomada de decisões, entre outros, que desempenham um papel fundamental no desenvolvimento intelectual e nas experiências individuais. O processamento dessas informações influencia o comportamento e as emoções e trabalha em conjunto para incorporar novos conhecimentos e criar uma compreensão do mundo. Esses processos cognitivos podem ocorrer de maneira natural ou artificial, consciente ou inconsciente, mas geralmente ocorrem de forma rápida e constante (CROMWELL; PANKSEPP, 2011).

O conceito de memória, baseia-se em aquisição, consolidação e a evocação das informações, entretanto, assim como o estresse e cognição, ainda é muito complexa a descrição dos processos que a definem, além de poder ser alterada e influenciada pela emoção, estado de ânimo e alerta (IZQUIERDO, 2007). Esse estado de alerta, é necessário para a produção de memória, mesmo que mínimo, por isso, áreas presentes no cérebro, responsáveis por manter a vigília, devem estar ativadas quando algo novo é aprendido, dessa forma, esses estados de ânimo e os estados emocionais, influenciam, em menor proporção, redes neuro-humorais específicas interferindo nesse processo (IZQUIERDO, 2007; OMMATI, 2024)

O processo de formação da memória envolve várias etapas distintas. Inicialmente, ocorre a aquisição da informação, que é recebida pelo indivíduo por meio dos sentidos, incluindo audição, olfato, visão, gustação e tato. Essa informação é então processada pelos sistemas sensoriais e armazenada temporariamente no sistema de memória de curto prazo. À medida que o tempo passa, essas informações são gradualmente consolidadas para serem posteriormente recuperadas. A recuperação ocorre por meio do processo de evocação, que representa a última etapa no ciclo de formação da memória (TOMAZ, 1993).

A memória pode ser categorizada com base em sua duração, que inclui a memória de curto prazo (retida por minutos) e a memória de longo prazo (persistente por meses até uma vida inteira), bem como em seu conteúdo, distinguindo-se entre memória não declarativa e declarativa (KANDEL; SCHWARTZ; JESSEL, 2000).

A memória não declarativa está associada à aprendizagem de habilidades e hábitos e está relacionada a experiências cognitivas e sensório-motoras, além de envolver algumas formas de condicionamento associativo simples (SQUIRE, 1992).

Ela é adquirida gradualmente e melhora com a prática ao longo do tempo. O processamento da memória não declarativa é principalmente conduzido por estruturas como o núcleo caudado e o cerebelo, embora também envolva circuitos no lobo temporal (LENT, 2001; OMMATI, 2024).

As memórias explícitas ou declarativas são aquelas que retêm informações factuais e sua aquisição requer a plena intervenção da consciência. Por meio delas, somos capazes de recordar eventos cotidianos, como conversas do dia anterior, ou relembrar acontecimentos históricos (LOMBROSO, 2004).

As principais estruturas envolvidas na formação da memória declarativa são o hipocampo e o córtex entorrinal, que são duas áreas interconectadas localizadas no lobo temporal. O hipocampo e o córtex entorrinal colaboram ao se comunicar com outras regiões do córtex, como o córtex cingulado e o córtex parietal. Além disso, eles estabelecem conexões com os núcleos basal e lateral da amígdala, os quais também desempenham um papel importante na regulação da formação e evocação da memória (IZQUIERDO, 2002).

Um substrato biológico envolvido na formação da memória inclui o fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF), uma molécula que desempenha um papel crucial ao aumentar a sobrevivência neuronal, melhorar o processo de aprendizado e oferecer proteção contra o declínio cognitivo (COTMAN; BERCHTOLD, 2002). Qualquer fator que reduza a disponibilidade de BDNF, como a exposição crônica ao estresse, pode ser prejudicial para a sobrevivência dos neurônios. Essa redução resulta em um déficit na Potenciação de Longo Prazo (LTP), o que tem um impacto negativo na consolidação da memória (GONCALVES; TOMAZ; SANGOI, 2006).

Consequentemente, são muitas as possibilidades combinatórias e que podem ser utilizadas como abordagens em experimentos, pois, a capacidade modulatória do estresse nas funções cognitivas, resultam em experiências que podem variar desde a exposição a estressores breves e brandos, até ao impacto de experiências traumáticas, influenciando no processamento contínuo de informações e no estabelecimento de memórias duradouras e devastadoras (SANDI, 2013).

## 2.5 MODELOS ANIMAIS PARA O ESTUDO DE MEMÓRIA E APRENDIZAGEM EM ROEDORES

Através de experimentos e intensas pesquisas, desenvolvem-se diferentes modelos animais com o objetivo de contribuir e identificar novos processos terapêuticos. A fidedignidade de um construto é determinada pela precisão com que o modelo se propõe a medir. O modelo deve ser capaz de estar presente no animal, assim como os processos etiológicos estão presentes na doença, ou seja, ele deve ser capaz de reproduzir seus sintomas. No entanto, essa definição pode ser discutida e interpretada de diversas maneiras (WILLNER, 1984; POWELL *et al.*, 2012).

Dentre os modelos animais encontrados na literatura para avaliação da memória e aprendizado, podemos citar o reconhecimento de objetos, o labirinto aquático de Morris e o medo condicionado ao contexto, os quais foram utilizados no presente estudo para avaliar impacto da limitação da construção do ninho sobre a memória e cognição da prole macho e fêmeas, nos estágios iniciais da vida na idade.

### 3 JUSTIFICATIVA

Estudos indicam que o estresse perinatal aumenta o risco de problemas emocionais e neurológicos na descendência (CERRO *et al.*, 2010; DE SOUZA *et al.*, 2011; OLAZÁBAL *et al.*, 2013). No entanto, persistem lacunas, especialmente em relação a déficits cognitivos, como aprendizado e memória, nos estágios iniciais da vida, com implicações significativas para a qualidade de vida a longo prazo e associação frequente a transtornos do neurodesenvolvimento.

Os cuidados maternos desempenham um papel fundamental nesse cenário, podendo mitigar os impactos negativos do estresse perinatal. Por outro lado, a negligência materna, uma das formas mais frequentes de maus-tratos infligidos a crianças e adolescentes — representando cerca de 50% de todos os casos de violência infantil —, pode agravar esses efeitos, resultando em consequências adversas para o desenvolvimento cognitivo e comportamental da prole (NUNES e SALES, 2016; YAN *et al.*, 2017; RATES *et al.*, 2015).

Diante disso, compreender como o estresse perinatal precoce influencia o neurodesenvolvimento é fundamental para identificar estratégias de intervenção e apoio que possam mitigar esses efeitos prejudiciais. Nesse contexto, o modelo de estresse LCN, utilizado neste estudo, proporciona uma abordagem essencial para investigar o impacto do estresse perinatal em animais machos e fêmeas. Ele simula situações de negligência materna, uma preocupação séria e comum na sociedade atual. Replicando de forma translacional os efeitos dos maus-tratos e da negligência materna durante o período pós-natal, oferece uma perspectiva promissora para entender os desafios enfrentados durante a fase inicial do desenvolvimento.

Portanto, a investigação e os resultados deste estudo podem contribuir para uma compreensão mais profunda dos prejuízos cognitivos causados na prole quando exposta ao estresse nos estágios iniciais da vida e à susceptibilidade às alterações neurogênicas, que podem influenciar o surgimento desses prejuízos. Além disso, ressalta-se a necessidade de futuras intervenções precoces adequadas, visando mitigar tais efeitos adversos e promover um desenvolvimento cognitivo saudável desde cedo.

## 4 OBJETIVOS

O presente trabalho tem os seguintes objetivos:

### 4.1.1 Objetivo geral

Investigar os impactos na cognição da prole durante os estágios iniciais da vida, decorrentes do modelo de estresse de limitação na construção do ninho (LCN) no período pós-natal e lactação.

### 4.1.2 Objetivos específicos

#### **Parâmetros das progenitoras:**

- a) investigar o ganho de peso (lactante);
- b) investigar a atividade locomotora/exploratória das ratas submetidas a limitação na construção do ninho;
- c) investigar os parâmetros de cuidados maternos e não maternos no período de lactação.

#### **Parâmetros da prole (fêmea e macho):**

- a) investigar o ganho de peso da ninhada (antes do desmame), e (dos filhotes no pós - desmame);
- b) investigar a atividade locomotora e exploratória;
- c) investigar os possíveis déficits de memória reconhecimento de Objetos (memória de curto prazo e memória de longo prazo);
- d) investigar os possíveis déficits de aprendizado e de memória espacial;
- e) investigar os possíveis déficits de memória aversiva.

## 5 MATERIAL E MÉTODOS

### 5.1 ANIMAIS

Os animais experimentais foram obtidos do Biotério Central da Universidade Federal de Alfenas – UNIFAL. Utilizou-se ratas fêmeas da linhagens *Wistar* com oito semanas de vida e pesando entre 200 e 250 gramas e ratos machos da mesma raça, tendo oito semanas de vida e pesando entre 250 e 300 gramas para o acasalamento.

Os animais passaram por um período de ambientação de sete dias em que foram agrupados em caixas de polipropileno adequadas à sua manutenção, abrigando um total de quatro animais por caixa. Estes animais permaneceram em ambiente com temperatura controlada ( $22 \pm 2$  °C), bem como a iluminação, que seguiu um ciclo claro-escuro de 12h, sendo as luzes acesas às 7h e desligadas às 19h. Os procedimentos experimentais também foram realizados a uma temperatura controlada ( $22 \pm 2$ °C). Os animais receberam água e ração comercial “*ad libitum*” durante todo período experimental.

Todos os procedimentos com os animais foram aprovados pelo comitê de ética em experimentação animal da Unifal-MG (CEUA – protocolo nº0006/2022).

### 5.2 GRUPOS EXPERIMENTAIS

O estudo foi conduzido com a participação de dois grupos experimentais:

- a) grupo Controle (C): Incluiu um total de 10 ratas;
- b) grupo Submetido a Limitação na Construção do Ninho (LCN): Incluiu um total de 10 ratas.

Assim, o estudo envolveu um total de 20 ratas mães. Cada uma destas ratas foi padroniza com 4 machos e 4 fêmeas, totalizando 8 filhotes por mãe. Portanto, o número total de filhotes utilizados foi de 160 (20 ratas mães x 8 filhotes por mãe). Sendo 20 filhotes para cada teste comportamental (Tabela 1).



Tabela 1 - Referência do Delineamento do grupo experimental dos testes comportamentais.

TESTES	MÃE 1	MÃE 2	MÃE 3	MÃE 4	MÃE 5	MÃE 6	MÃE 7	MÃE 8	MÃE 9	MÃE 10
Campo Aberto	F1M1	F1M1	F1M1	F1M1	F1M1	F1M1	F1M1	F1M1	F1M1	F1M1
Reconhecimento de Objetos	F2M2	F2M2	F2M2	F2M2	F2M2	F2M2	F2M2	F2M2	F2M2	F2M2
Labirinto Aquático de Morris	F3M3	F3M3	F3M3	F3M3	F3M3	F3M3	F3M3	F3M3	F3M3	F3M3
Medo Condicionado	F4M4	F4M4	F4M4	F4M4	F4M4	F4M4	F4M4	F4M4	F4M4	F4M4

Fonte: Elaborada pela Autora (2023).

Legenda: F (Fêmea), M (Macho).

### 5.3 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

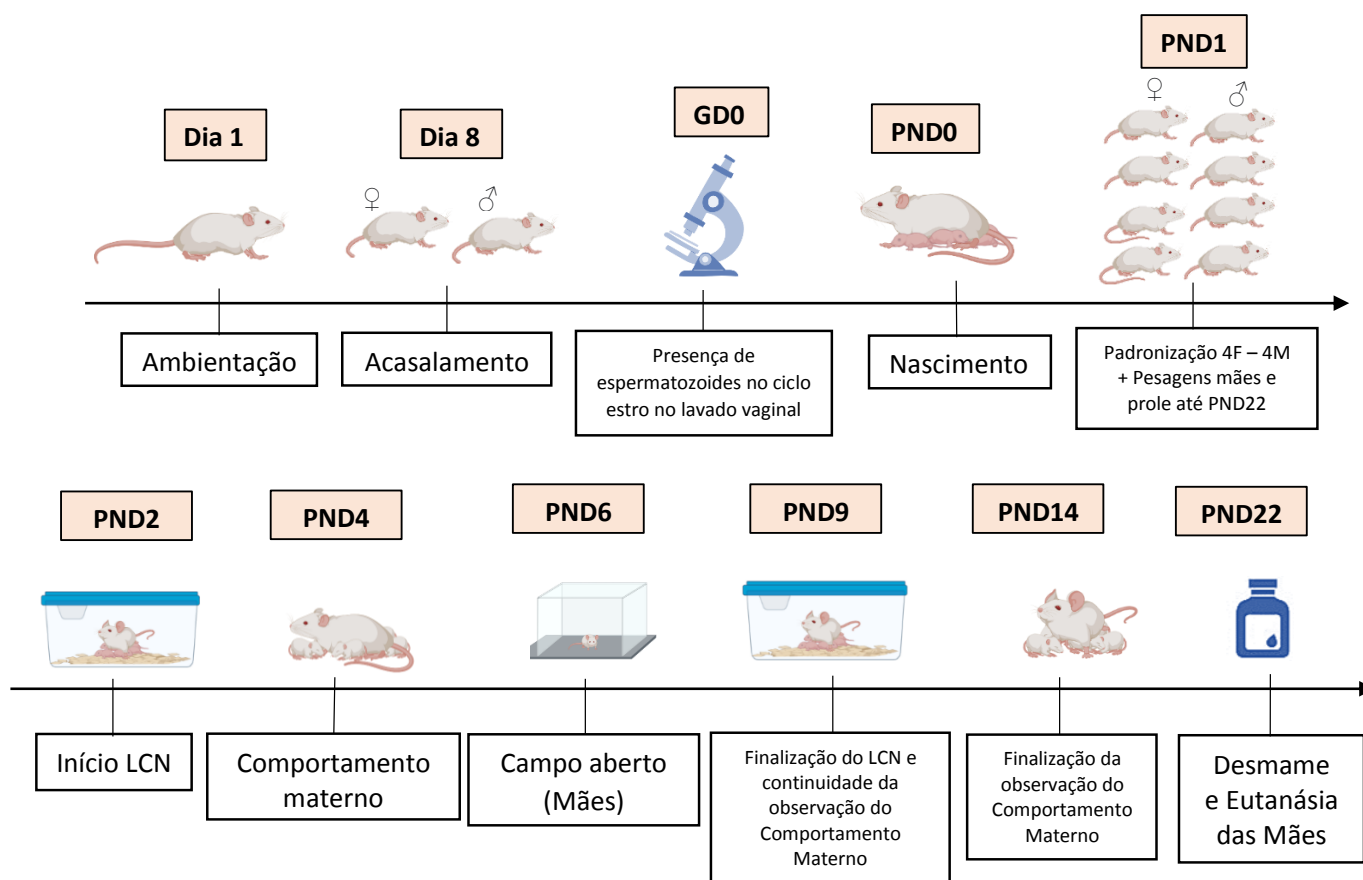
Os animais que foram enviados do biotério central da Universidade Federal de Alfenas – UNIFAL, passaram por um período de sete dias de ambientação no laboratório de fisiologia translacional. Após a ambientação, os animais foram colocados para acasalar na proporção de 3 fêmeas para cada 1 macho. Na manhã do dia seguinte, foi realizado o procedimento de lavado vaginal para identificar a presença de espermatozoides em fase estral do ciclo do animal (Figura 3 e 4).

Quando identificado espermatozoides nesta fase, foi considerado como sendo o dia de gestação 0 (GD0). Neste mesmo dia, as ratas prenhes foram transferidas para caixas de polipropileno individuais, onde mais tarde, ficaram também alocados os seus filhotes. As ratas de ambos os grupos, foram pesadas a cada 3 dias do PND1 até o PND22, quando foram então, eutanasiadas com excesso de anestésico inalatório isoflurano (mL/mL).

O nascimento dos filhotes foi considerado e chamado de PND0. No dia seguinte, no PND01, as ninhadas foram padronizadas em 8 filhotes para cada mãe, sendo 4 fêmeas e 4 machos. Assim como as mães, os filhotes foram pesados em um intervalo de três dias desde o PND1 até o PND22 em que ocorreu o desmame dos filhotes, no qual passaram a ser pesados individualmente, também em intervalos de 3 dias até a finalização dos teste. A partir do PND2 os grupos LCN foram mantidos em caixas de polipropileno individuais com a maravalha reduzida (1000 ml) até o PND09, e os grupos controles foram mantidos em caixas de polipropileno individuais com a maravalha em abundância (4500 ml). Do PND2 até o PND9 foi iniciado em ambos os grupos, controle e LCN, a observação quanto aos comportamentos maternos apresentados. Em paralelo, no PND06, as mães passaram ainda, pelo teste de campo aberto, para a avaliação da atividade locomotora. Os testes nos filhotes foram

realizados entre PND27 a PND33. Após a conclusão de todos os testes comportamentais, a prole foi eutanasiada com excesso de anestésico inalatório isoflurano (mL/mL). (Figura 3 e 4)

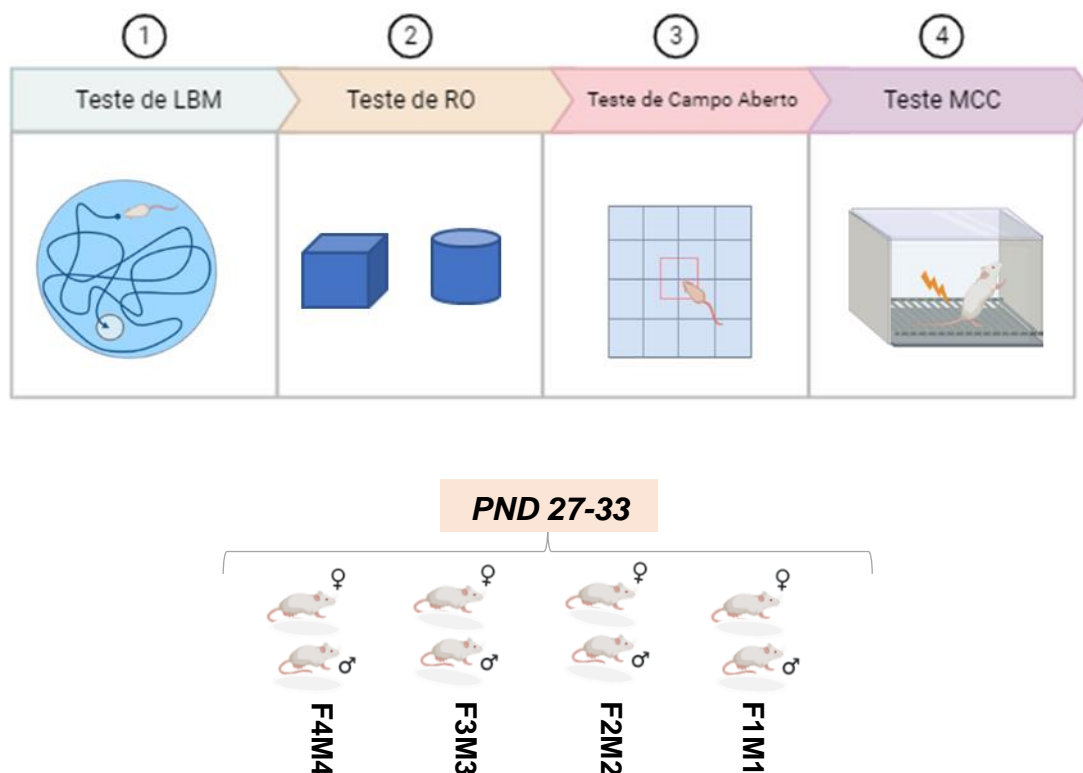
Figura 3 - Representação temporal dos testes realizados na prole de ratas submetidas ao modelo de estresse LCN.



Fonte: Elaborada pela autora (2023)

Legenda: GDO (Dia de Gestação 0), PND1 (Dia pós-natal 1) F (Fêmea), M (Macho), LCN (Limitação da Construção do Ninho).

Figura 4- Testes realizados na Prole



Fonte: Elaborada pela autora (2023)

Legenda: F1 (Fêmea 1) M1 (Macho 1); Labirinto Aquático de Morris-(LBM); Reconhecimentos de Objetos-(RO); Medo Condicionado ao Contexto-(MCC).

#### 5.4 LIMITAÇÃO DA CONSTRUÇÃO DO NINHO (LCN)

Para o modelo de LCN, mãe e filhotes foram alojados com maravalhas em quantidade reduzidas (1000 ml; 1,2 cm de camada) e o controle com maravalha abundante (4500 ml; 5 cm de camada) do PND2-9. Esse ambiente limitado de maravalha diminui a capacidade das mães de construir o ninho e resulta em construção frequente de ninhos, mais tempo longe dos filhotes, manuseio brusco e pisadas nos filhotes e menos cuidados maternos (IVY *et al.*, 2008; YAN *et al.*, 2017).

#### 5.5 ANÁLISE ESTATÍSTICAS

Os resultados obtidos foram analisados com o *software* GraphPad versão 8.0 e expressos como média  $\pm$  erro padrão da média (EPM). Foi utilizada a análise de variância de dois fatores (*two-way* ANOVA) com medidas repetidas, considerando os fatores "Dia" e "LCN" para a análise do peso da prole e o treinamento no teste de LAM, seguido pelo pós-teste de *Tukey*. Como não houve efeito no fator "Sexo", foi

realizada a análise por teste “*t*” de Student separadamente para cada sexo. Os resultados com  $p < 0,05$  foram considerados estatisticamente significativos.

## 5.6 ACOMPANHAMENTO DO GANHO DE PESO (MÃES E FILHOTES)

O peso das mães de ambos os grupos foi acompanhado durante todo o período experimental. As ratas foram pesadas individualmente a cada 3 dias desde o PND1 até o PND22. O mesmo ocorreu com os filhotes que, inicialmente, foram pesados em ninhada a cada 3 dias até o PND22, a partir de então, os filhotes foram pesados individualmente até o PND 33, também a cada 3 dias.

## 5.7 AVALIAÇÃO DO COMPORTAMENTO MATERNO

Os cuidados maternos foram registrados do DPP2 ao DPP9 durante aplicação do modelo LCN e do PND9 ao PND14 após o retorno da maravalha. 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:

### Comportamento materno:

- a) porcentagem de tempo em que a rata fica sobre a ninhada em posição de cifose ou “*crouching*”, apropriada à amamentação (posição arqueada ou cifose);
- b) porcentagem de tempo em que a lactante lambe os filhotes (*licking pups*)
- c) porcentagem de tempo sobre a ninhada;
- d) porcentagem de tempo forrageando (Construído o ninho)
- e) carregando os filhotes;
- f) porcentagem de tempo em posição passiva (*Passive-nursing*).

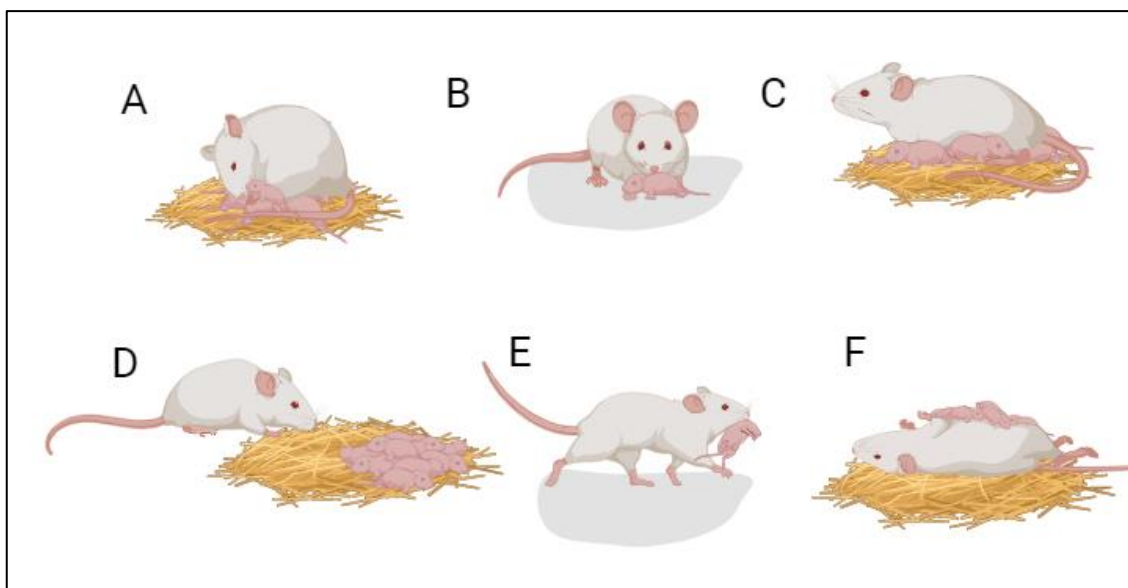
### Comportamento não-materno:

- a) tempo de *self-grooming* (auto-limpeza) - Maternal;
- b) tempo de *self-grooming* (auto-limpeza) - Não-Maternal;
- c) porcentagem de tempo fora do ninho explorando;

- d) porcentagem de tempo fora do ninho não explorando;
- e) porcentagem de tempo fora do ninho se alimentando.

Na figura 5 e 6 são apresentados os parâmetros maternos e não maternos, que foram observados durante a análise do comportamento materno.

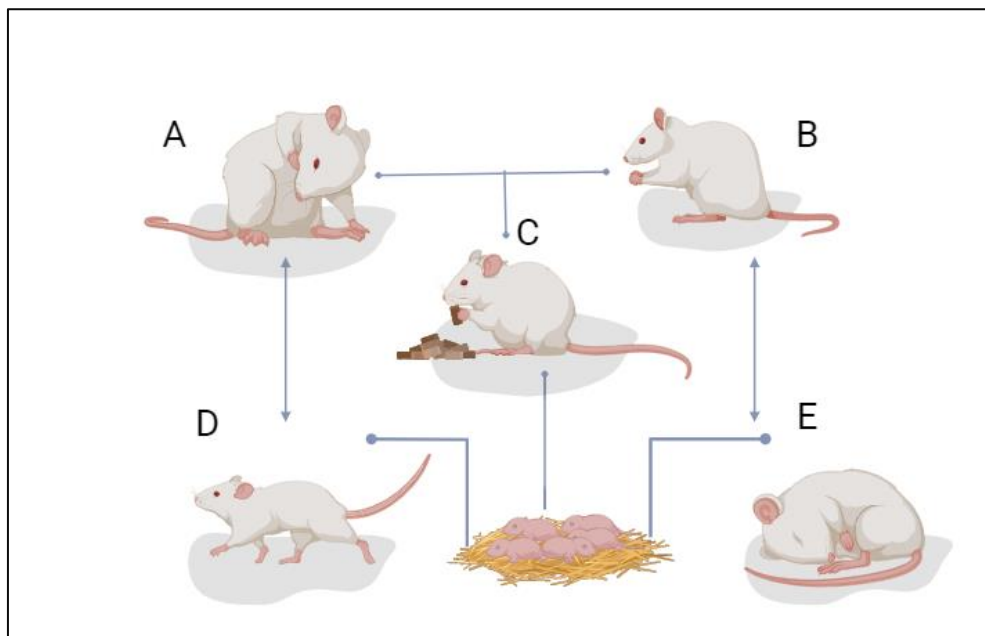
Figura 5 - Representação esquemática dos parâmetros analisados no comportamento materno.



Fonte: Criação da autora (2023), desenho software Biorender.

Legenda: A) posição arqueada ou cifose; B) Lambendo os filhotes (*licking pups*); C) Sobre os filhotes; D) Forrageando; E) Pegando os filhotes pela boca; F) Posição passiva (mãe de barriga para cima ou de lado com os filhotes).

Figura 6 - Representação esquemática dos parâmetros analisados no comportamento não-materno.



Fonte: Criação da autora (2023), desenho software Biorender.

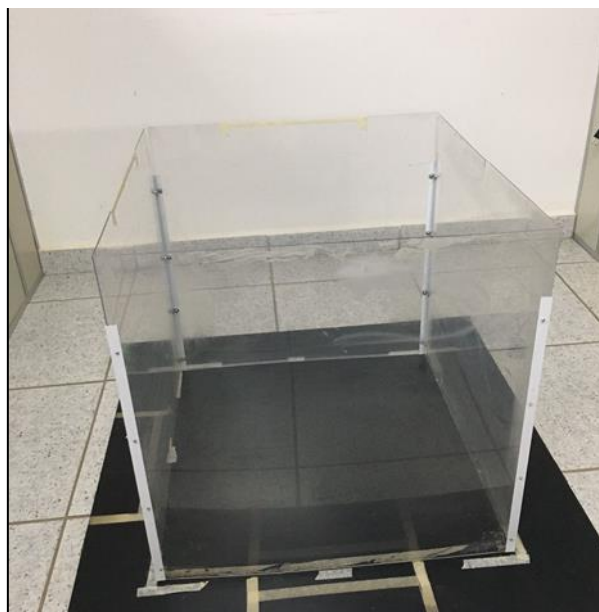
Legenda: A) *Self-grooming*-Maternal; B) *Self-grooming* Não-Maternal (lambendo as mãos); C) Se alimentando; D) Fora do ninho explorando; E) Fora do ninho não-explorando.

### 5.7.1 Campo Aberto

O teste do campo aberto, também conhecido como *Open Field* é um modelo preditivo de parâmetros de ansiedade e é utilizado para a análise da atividade locomotora do animal (VALLE, 1970). Dessa maneira, a investigação da atividade locomotora faz parte dos objetivos de investigação desse estudo. O aparato de campo aberto consiste em uma arena circular de acrílico, com diâmetro de 60 cm e paredes com 50 cm de altura, com o piso dividido em quadrantes (Figura 7).

O teste foi realizado com as ratas dos grupos controle e LCN no PND6 e com seus filhotes do PND27-33. Cada animal foi colocado no centro da arena e a sua atividade locomotora foi filmada por 10 minutos. Os parâmetros avaliados foram distância total percorrida, distância percorrida no centro, distância percorrida na periferia e tempo de imobilidade dos animais. Após o teste de cada animal, o aparato foi limpo com álcool 5%. O software *Ethovision XT* versão 9.0 será utilizado para análise automática dos parâmetros anteriormente determinados.

Figura 7- Representação do aparato de campo aberto



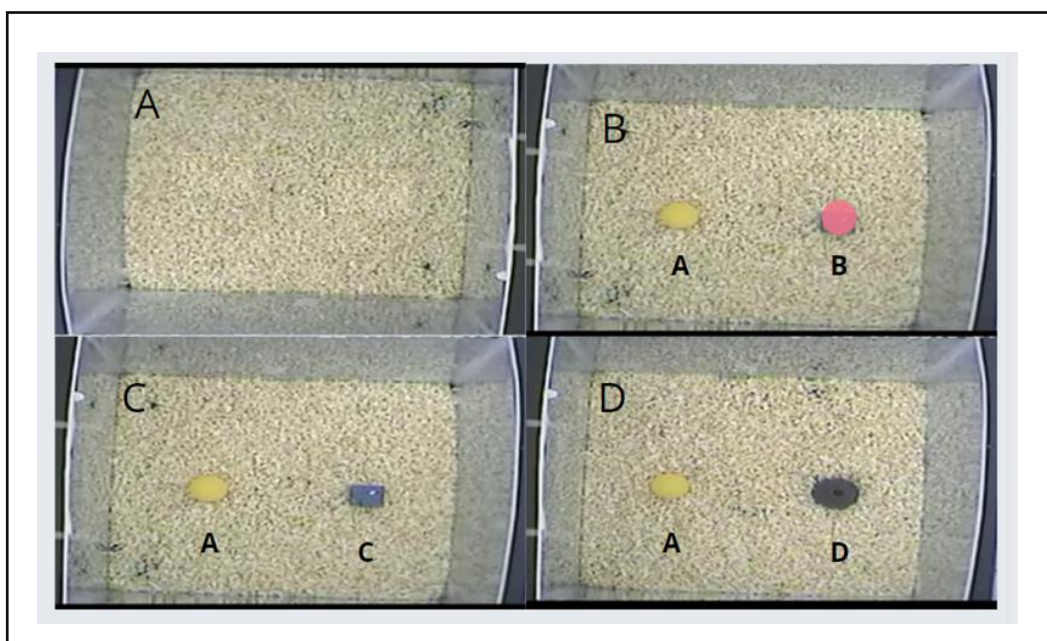
Fonte: Autora (2022).

### 5.7.2 Teste de Reconhecimento de Objetos

No teste de reconhecimento de objetos, o objetivo é avaliar a habilidade do roedor em reconhecer um objeto previamente explorado na presença de um novo objeto não conhecido (REGER; HOVDA; GIZA, 2009). Um dia antes do teste, os animais foram expostos ao aparato por 10 minutos para a ambientação afim de garantir que estes passem tempo suficiente explorando os objetos e não o ambiente (ANDERSEN *et al.*, 2004). O aparato é constituído de uma arena quadrada (60 cm x 60 cm).

No dia do teste, PND 27-33, os animais foram colocados frente a 2 objetos idênticos (A e B) por 10 minutos (treinamento), para ser analisado a memória de curta duração, logo após 2 horas, um dos objetos de treinamento foi substituído por um novo objeto (C) e os animais foram resposto a esses objetos por 10 minutos e filmado para avaliação posteriormente. 24h horas após a exposição aos objetos os animais foram expostos novamente no aparato, onde o objeto (C) foi trocado por outro objeto (D), e filmando durante 10 minutos para análise da memória de longa duração figura 8.

Figura 8 - Representação do aparato de Reconhecimento de Objeto



Fonte: MARCIEL, (2022).

Legenda: O aparato utilizado no teste de reconhecimento de objetos. Em (A), o aparato montado para a ambientação dos animais para o teste. Em (B), temos o aparato com os objetos (A) e (B), ambos em formato de bola, utilizados antes da avaliação da memória de curta duração. Em (C), para a avaliação de memória de curta duração, temos o aparato com os objetos (A) e (C), onde o objeto familiar (A) em formato de bola e o objeto novo (C) em formato de cubo. Em (D), temos o aparato adaptado para o teste de memória de longa duração, onde o objeto familiar (A) em formato de bola e (D) o objeto novo em formato de pirâmide.

Todos os objetos apresentaram texturas e tamanhos semelhantes, mas formas distintas. Os filhotes foram colocados individualmente na arena e seu comportamento foi filmado por 10 minutos. Os parâmetros avaliados foram: exploração (quando o animal cheira ou toca o objeto com o nariz) e o tempo gasto pelo animal explorando os dois objetos (objeto familiar ou novo). Entre o teste de cada animal, os objetos e a arena foram limpos com álcool 5%. Para análise do teste, será realizado o cálculo do índice de reconhecimento de objetos, cuja fórmula é: Objeto novo/ (objeto novo + objeto familiar) (BATISTA, 2015).

$$IR = \frac{TEC}{TEA + TEC} \quad \text{Para a memória de curta duração}$$

$$IR = \frac{TED}{TEA + TED} \quad \text{Para a memória de longa duração}$$



Onde:

IR= Índice de reconhecimento;

TEA= Tempo de exploração ao objeto familiar;

TEC = Tempo de exploração ao objeto novo (2 horas);

TED= Tempo de exploração ao objeto novo (24 horas);

### **5.7.3 Labirinto Aquático de Morris**

Este teste foi utilizado para avaliar a aquisição de memória e cognição 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 encontrasse submersa dois centímetros abaixo da linha d'água, para evitar a natação na água e encontrar a plataforma de fuga, o animal precisa recordar a localização dessa plataforma com base em pistas visuais na área de teste. Esse processo envolve o uso da memória de referência espacial, a qual é dependente do hipocampo, Figura 9.

Para não permitir a visibilização da plataforma, foram utilizados 2 gramas de corante alimentício azul e 200 gramas de amido de milho, de maneira que a água adquira a mesma coloração do tanque. O animal passou por uma etapa de treinamento durante 5 dias. O treinamento consistiu 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 for atingido, sem que o animal encontre a plataforma, ele foi 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 consistiu em um único ensaio, com duração de 60 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: distância percorrida pelo animal, latência para alcançar o local onde se

encontrava a plataforma durante os treinos e tempo de permanência no quadrante em que estava a plataforma durante a etapa de treinamento (BATINIC *et al.*, 2017).

Figura 9 - Filhote em treinamento no LAM



Fonte: Autora (2022).

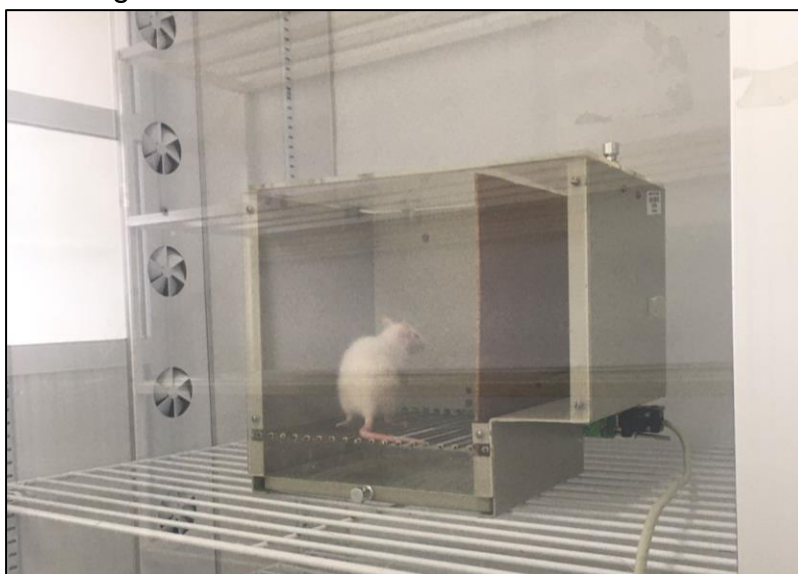
#### 5.7.4 Medo Condicionado ao Contexto

O Teste de condicionamento contextual ao medo é um paradigma de estudo comportamental das memórias recentes e remotas (MANNIS *et al.*, 2003; KIM *et al.*, 1997) no qual é realizado em uma caixa de condicionamento com dimensões 35x35x35,5 cm<sup>3</sup>, com paredes de alumínio e tampa de vidro transparente. O piso da câmara consiste em grades paralelas de aço inoxidável, espaçadas 0,8 mm entre elas. A grade foi conectada a um dispositivo para fazer as apresentações dos choques nos pés. A câmara de condicionamento foi colocada dentro de uma caixa de atenuação de som, a mesma foi limpa com etanol 70% antes e após cada uso. Sendo avaliado o tempo que os animais passaram *freezing* no aparelho (nenhum movimento visível, exceto a respiração) sendo pontuado e convertido em porcentagem, figura 10.

Os animais foram submetidos a um treinamento, onde foram colocados na câmara de condicionamento e após 2 min dois choques elétricos nos pés (0,5 mA, 2

s) foram aplicados em um intervalo de 30 s. Logo após os animais foram retirados da câmara de condicionamento 30 s após o último choque nas patas e colocados de volta em suas gaiolas. O teste foi conduzido 24 horas após o último treino contudo, os animais foram colocados no mesmo aparato para um teste de retenção de 3 minutos sem choques nas patas (DE CARVALHO MYSKIW *et al.*, 2013; FIORENZA *et al.*, 2012; SCHMID *et al.*, 2015).

Figura10 - Câmara de condicionamento



Fonte: Autora (2022).

## 6 RESULTADOS

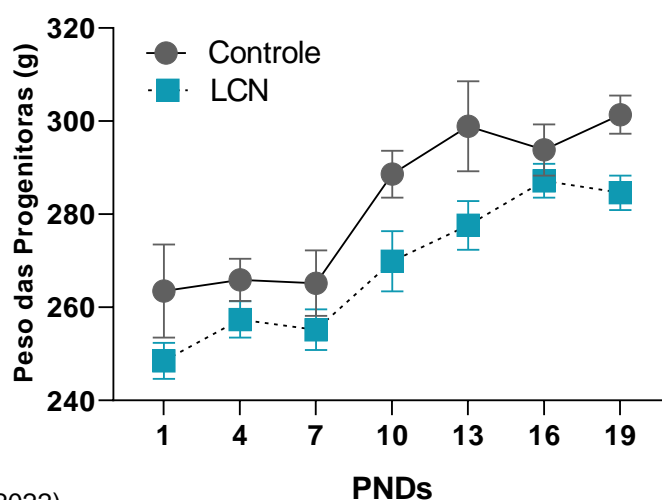
A seguir estão apresentados os resultados obtidos neste estudo.

### 6.1 AVALIAÇÃO DAS PROGENITORAS

#### 6.1.1 Ganho de peso das progenitoras

Avaliou-se o ganho de peso de progenitoras nos grupos LCN e controle durante o período de lactação, do PND1 ao PND19, em intervalos de 3 dias, Figura 11. A análise ANOVA *two-way*, com medidas repetidas indicou que houve efeito relacionado ao fator LCN [ $F_{(1,9)} = 12,30$   $p=0,0067$ ], ocorreu efeito no fator dia [ $F_{(6,54)} = 22,22$ ;  $p= <0,0001$ ] e não houve interação entre os fatores [ $F_{(6,54)} = 0,6949$ ;  $p=0,6547$ ]. Contudo, em uma análise subsequente através do pós-teste *Tukey* não se observou nenhuma diferenças nas múltiplas comparações entre os grupos.

Figura 11- Ganho de peso das progenitoras durante a lactação



Fonte: Autora (2022).

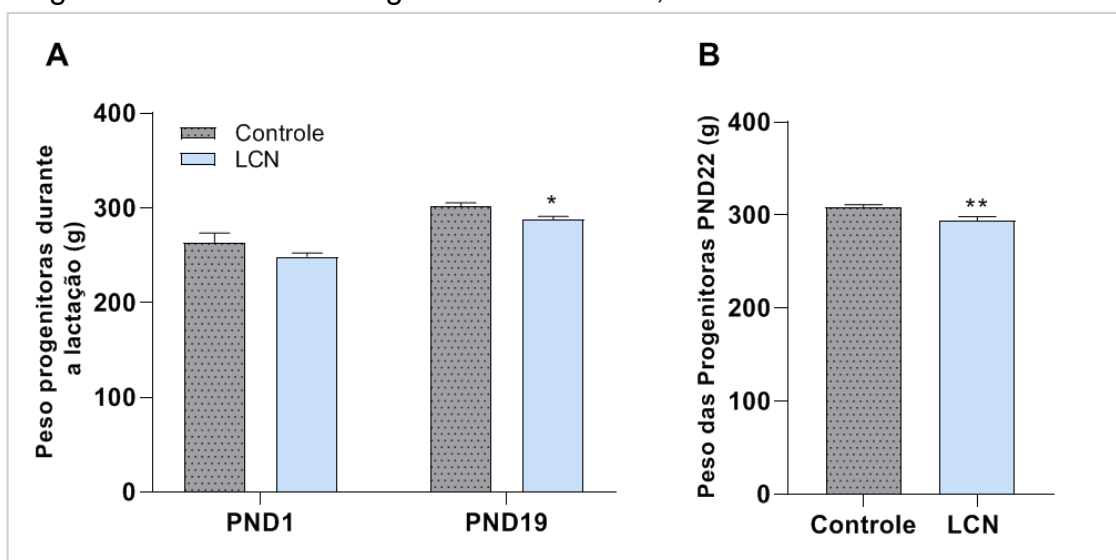
Nota: Acompanhamento do peso das progenitoras em gramas do grupo LCN e controle. Os pontos do gráfico representam os dias que foram aferidos os pesos e expressos como média  $\pm$  erro padrão da média (EPM) para os grupos experimentais ( $n = 10$  animais por grupo). Os dados foram submetidos à análise por *two way* (ANOVA) com medidas repetidas, seguido pelo pós teste de *Tukey*.

Na figura 12 apresenta-se a avaliação do ganho de peso das progenitoras do grupo LCN e do grupo controle no PND1 e PND19, durante a lactação e após o desmame no PND22. Observa-se que não houve diferença do peso das progenitoras

no PND1 (fig. 12. A) porém, verificou-se uma diminuição no peso das mães do grupo LCN no PND19 quando comparadas ao Controle (\* $p < 0,05$ ; fig. 12. A).

Observa-se ainda que no desmame no PND22 as mães do grupo LCN apresentam uma diminuição do peso (\*\* $p < 0,01$ ; fig. 12. B), quando comparado com o grupo Controle.

Figura 12 – Peso das Progenitoras no PND1, PN19 e no desmame.



Fonte: Autora (2022).

Nota: Peso das ratas progenitoras dos grupos LCN e controle no PND1, PND19 e desmame. (A) temos o peso em gramas das mães durante o PND1 e PND19 e (B) temos o peso em gramas das mães no desmame no PND22. Os dados foram submetidos à análise de Teste "t" *student* ( $p < 0,05$ ). As barras representam valores médios ( $\pm$  EPM) para o grupo experimental ( $n = 10$  animais por grupo). \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$  em comparação com o grupo Controle.

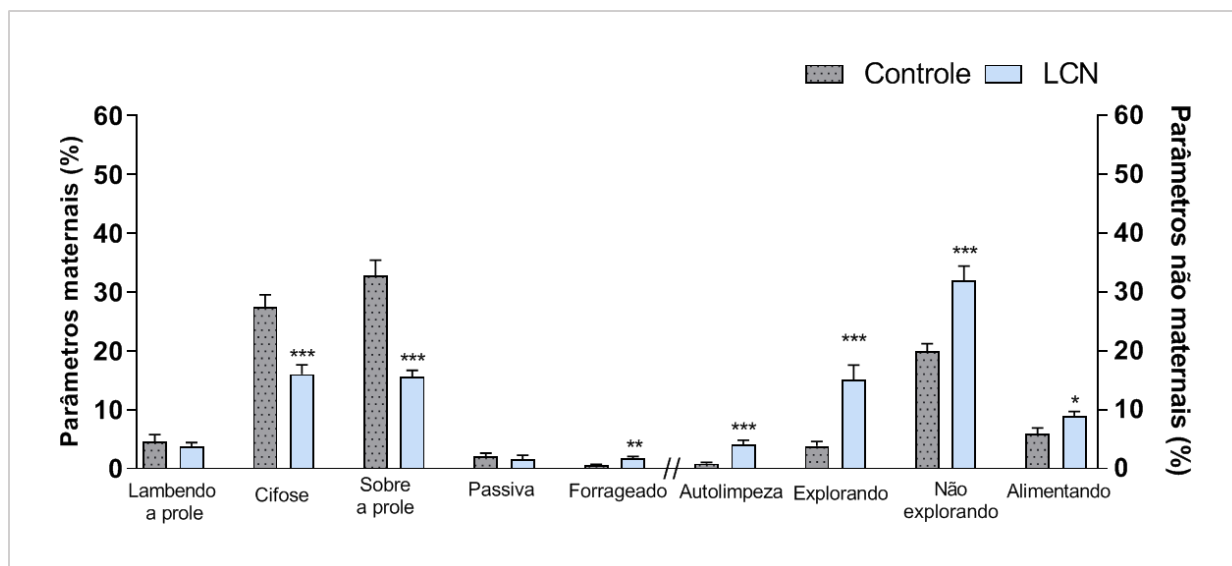
### 6.1.2 Avaliação do comportamento materno

A seguir, a figura 13 corresponde a porcentagem do CM das progenitoras do grupo controle e LCN do PND4 a PND9, onde ocorreu o período de limitação da construção do ninho nos animais do grupo LCN. A análise do CM mostrou uma diminuição na porcentagem de permanência na posição de cifose, assim como na porcentagem de permanência sobre os filhotes além disso, houver um aumento do tempo forrageando nas progenitoras do grupo LCN em relação as progenitoras do grupo controle (\*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$ ; fig. 13).

Com relação aos parâmetros não maternos, foi possível notar que as progenitoras submetidas a LCN apresentaram um aumento na porcentagem do tempo

de autolimpeza, exploração, não exploração (\*\* $p < 0,001$ ; fig. 13) e na porcentagem do tempo se alimentando em relação ao grupo controle (  $*p < 0,05$ ; fig.13).

Figura 13 - Parâmetros avaliados no comportamento materno e não materno no PND4-PND9

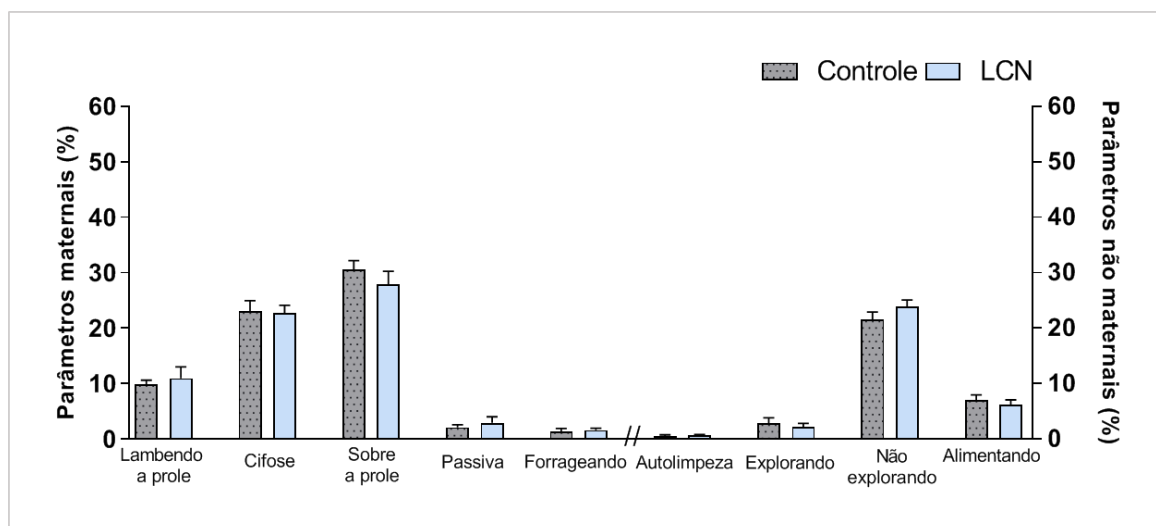


Fonte: Autora (2022).

Nota: Avaliação do comportamento materno e não materno das ratas dos grupos controle e LCN no PND4 a PND9. Temos a porcentagem do tempo de permanência lambendo os filhotes, cifose, sobre os filhotes, posição passiva, forrageando e a porcentagem dos comportamentos não materno: autolimpeza, explorando, não explorando e se alimentando. Os dados foram submetidos à análise de Teste "t" student ( $p < 0,05$ ). As barras representam valores médios ( $\pm$  EPM) para o grupo experimental ( $n = 10$  animais por grupo).  $*p < 0,05$ ;  $**p < 0,01$ ;  $***p < 0,001$  em comparação com o grupo controle.

Na figura 14 observa-se a avaliação do comportamento materno no PND10 ao PND14 nas mães do grupo controle e grupo LCN. Observa-se que não houve diferença entre os grupos experimentais nos parâmetros avaliados.

Figura 14 - Parâmetros avaliados no comportamento materno e não materno no PND10-14

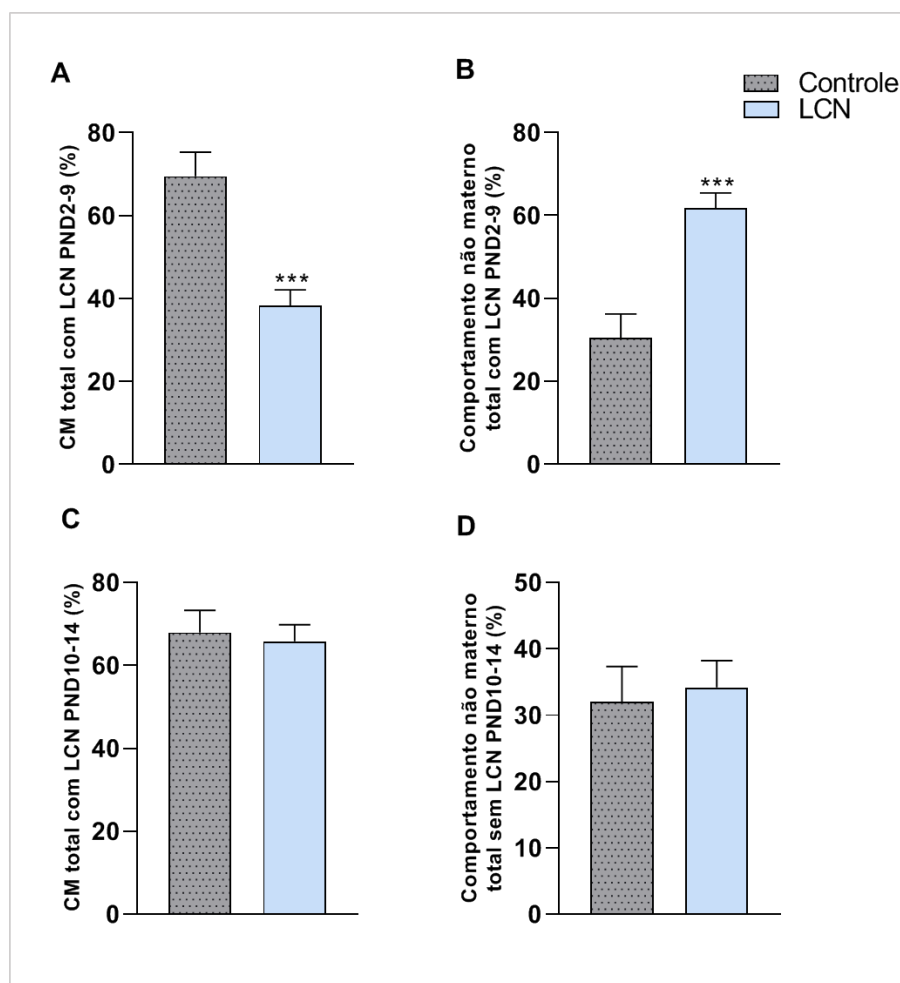


Fonte: Autora (2022).

Nota: Avaliação do comportamento materno e não materno das ratas dos grupos controle e LCN no PND10 a PND14. Em (A) temos os parâmetros maternos com as porcentagem do tempo de permanência lambendo os filhotes, cifose, sobre os filhotes, posição passiva, forrageando e a porcentagem dos comportamentos não materno: autolimpeza (*self-grooming*), explorando, não explorando e se alimentando. Os dados foram submetidos à análise de Teste "t" *student* ( $p < 0,05$ ). As barras representam valores médios ( $\pm$  EPM) para o grupo experimental ( $n = 10$  animais por grupo).

A figura 15 mostra a porcentagem total do CM das progenitoras durante a limitação do material de construção do ninho. Observa-se que as progenitoras do grupo LCN apresentam uma diminuição na porcentagem do comportamento materno ( $***p < 0,001$ ; fig. 15.A) e um aumento no comportamento não materno ( $***p < 0,001$ ; fig. 15.B) quando comparadas com as mães do grupo Controle. Contudo, com a volta da maravalha no PND10-PND14, não foram observadas diferenças entre o CM total das progenitoras (fig. 15.C) e CM total não materno (fig. 15D) quando comparadas as progenitoras do grupo controle.

Figura 15 - Avaliação da porcentagem total do CM e não materno das progenitoras



Fonte: Autora (2022).

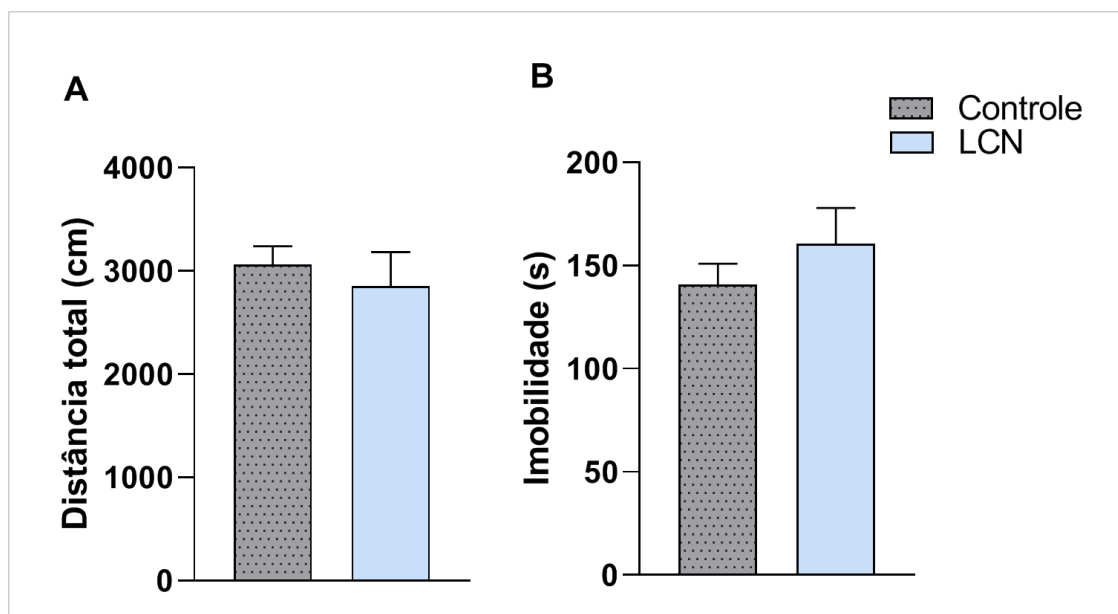
Nota: Avaliação da porcentagem total do comportamento materno e não materno das ratas dos grupos controle e LCN. Em (A) temos a porcentagem do CM total com LCN do PND2-9, em (B) porcentagem do comportamento não materno total com LCN do PND2-9, em (C) porcentagem do CM total sem LCN do PND10-14 e em (D) a porcentagem do comportamento não materno total sem LCN do PND10-14. Os dados foram submetidos à análise de teste "t"-Student com valores expressos como média  $\pm$  EPM, para o grupo experimental (n = 10 animais por grupo). \*\*\*p < 0,001 em comparação com o grupo controle.

### 6.1.3 Avaliação do Campo Aberto das Progenitoras

Podemos observar na figura 16 os parâmetros avaliados no campo aberto das progenitoras do grupo controle e LCN. Pode-se verificar que não houve diferença na distância percorrida (fig. 16.A) e no tempo de imobilidade dos animais (fig. 16.B), demonstrando que o LCN não afetou esses parâmetros avaliados.



Figura 16 - Parâmetros avaliados no teste de campo aberto das progenitoras



Fonte: Autora (2022).

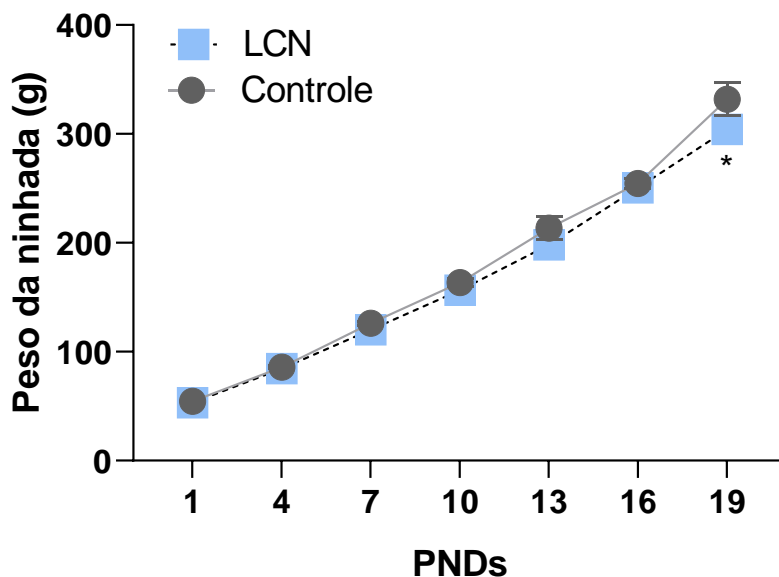
Nota: Progenitoras do grupo controle e LCN submetidas ao teste de campo aberto no PND6. Em (A) distância percorrida (cm) e em (B), o tempo de imobilidade (s). Os dados foram submetidos à análise de Teste "t" *student* ( $p < 0,05$ ). As barras representam valores médios ( $\pm$  EPM) para o grupo experimental ( $n = 10$  animais por grupo).

## 6.2 AVALIAÇÃO DA PROLE

### 6.2.1 Acompanhamento do peso da ninhada

A figura 17 corresponde a avaliação do ganho de peso da ninhada do grupo LCN e controle durante a lactação no (PND1 ao PND19). A análise ANOVA *two-way*, com medidas repetidas indicou que não houve efeito relacionado ao fator LCN [ $F_{(1,9)} = 4,576$ ;  $p = 0,0611$ ], ocorreu efeito no fator dia [ $F_{(6,54)} = 406,3$ ;  $p < p = < 0,001$ ] e não houve interação entre os fatores [ $F_{(6,54)} = 1,4876$ ;  $p = 0,2034$ ]. Contudo, em uma análise subsequente através do pós-teste *Tukey* observou-se que houve uma redução do peso da ninhada do grupo LCN no PND19 em comparação ao grupo Controle  $p < 0,05$ .

Figura 17 - Acompanhamento do peso da ninhada durante a lactação

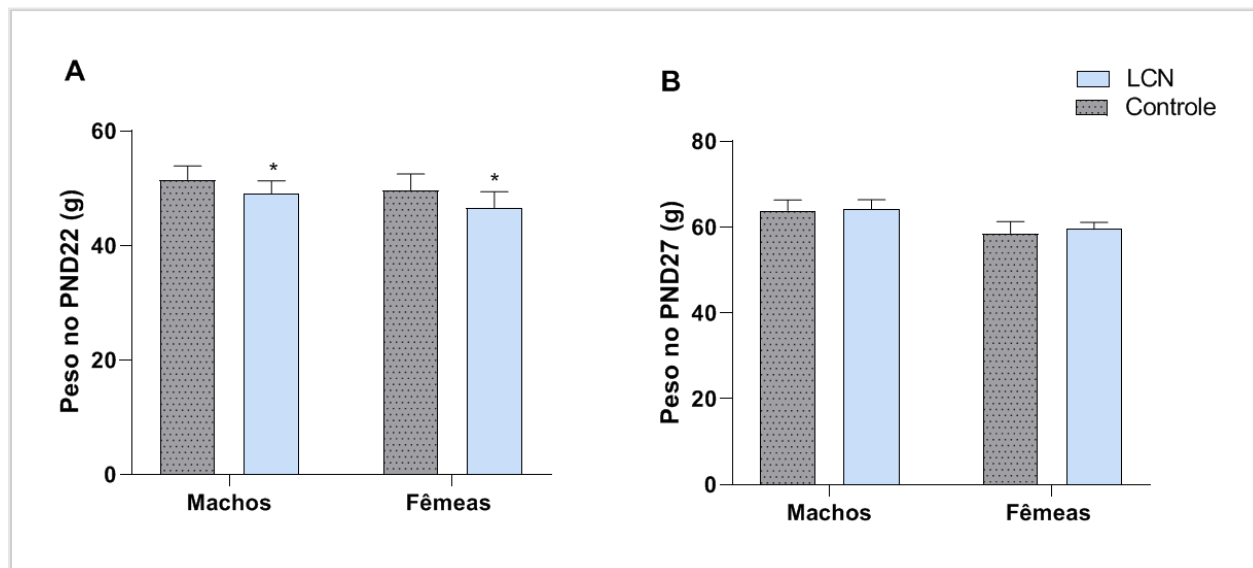


Fonte: Autora (2022).

Nota: Acompanhamento do peso da ninhada em gramas do grupo LCN e controle. Os pontos do gráfico representam os dias que foram aferidos os pesos ( $n = 20$  animais por grupo). Os dados foram submetidos à análise por *two way* (ANOVA) com medidas repetidas, seguido pelo pós teste de *Tukey* com valores expressos como média  $\pm$  EPM. Os asteriscos denotam os níveis de significância quando comparados com o grupo controle: \* $p < 0,05$ .

Os animais do grupo LCN e controle foram pesados individualmente após o desmame no (PND22) e em momentos antes a cada teste comportamental no (PND27) como mostra a figura 18. No desmame os animais submetido a LCN apresentaram uma redução do peso quando comparados com o controle, tanto fêmeas ( $p < 0,05$ , fig. 18.A) quanto machos ( $p < 0,05$ , fig. 18.A) respectivamente. Todavia, avaliação do peso dos animais antes de cada teste comportamental não apresentou diferenças (fig. 18.B) entre os grupos.

Figura 18 - Peso dos filhotes no dia do desmame (PND22) e no dia dos testes (PND27)



Fonte: Autora (2022).

Nota: Em (A) peso dos filhotes machos e fêmeas em gramas no PND22, em (B) peso dos filhotes machos e fêmeas em gramas no PND27 do dia dos testes. Os dados foram submetidos à análise de Teste "t" *student* ( $p < 0,05$ ). As barras representam valores médios ( $\pm$  EPM) para o grupo experimental ( $n = 20$  animais por grupo). \* $p < 0,05$  em comparação com o grupo controle.

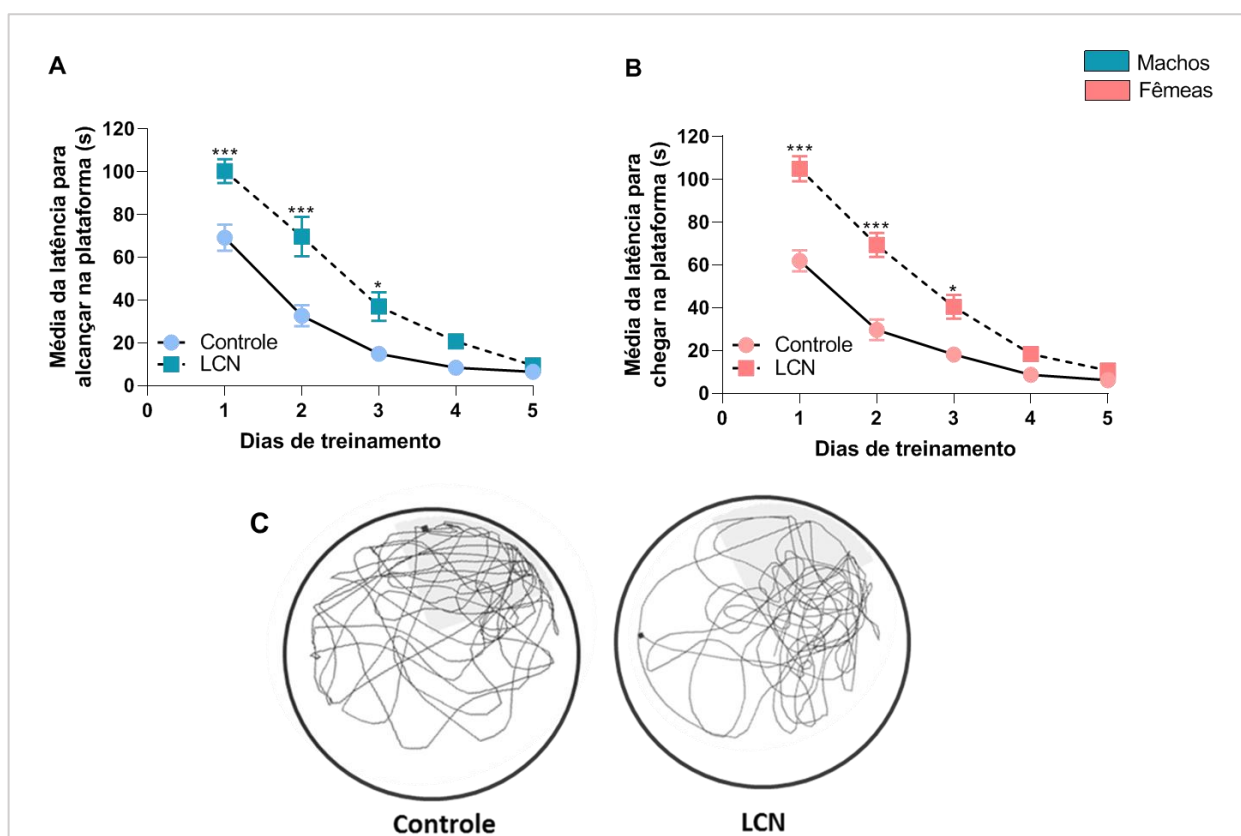
## 6.2.2 Teste Labirinto Aquático de Morris

Para avaliar a memória espacial, a prole do grupo controle e LCN foram testados na tarefa de labirinto aquático de Morris mostrado na figura 19. Para (A) fêmeas, a análise, através da ANOVA *two-way*, revelou que houve efeito nos fatores LCN [ $F(1, 90) = 80,69$ ;  $p < 0,0001$ ], dia [ $F(4, 90) = 106,3$ ;  $p < 0,0001$ ] e ocorreu interação entre os fatores [ $F(4, 90) = 8,506$ ;  $p < 0,0001$ ]. Para (B) machos, através da ANOVA *two-way*, também apontou que houve efeito nos fatores LCN [ $F(1, 89) = 47,78$ ;  $p < 0,0001$ ], dia [ $F(4, 89) = 85,29$ ;  $p < 0,0001$ ] e também ocorreu interação entre os fatores [ $F(4, 89) = 4,035$ ;  $p = 0,0047$ ].

A análise pós-teste *Tukey* revelou que houve um aumento da média da latência para localizar a plataforma durante os dias de treinamento, tanto nos machos como nas fêmeas, sendo mais evidente nos dias 1 (\*\* $p < 0,001$  fig. 19. A, B), 2 (\*\* $p < 0,001$  fig. 19. A, B) e 3 (\* $p < 0,05$  fig. 19. A, B) de treinamento.

Na figura 19. C, é apresentada uma representação do teste LBM, em que a área em cinza representa o quadrante onde a plataforma estava localizada durante os dias de treinamento. Isso permite a visualização do percurso dos animais para encontrar a plataforma. Observou-se que os animais do grupo LCN passavam mais tempo fora do quadrante onde a plataforma estava localizada em comparação aos animais do grupo controle.

Figura 19 - Tempo de latência para alcançar plataforma nos dias de treinamento



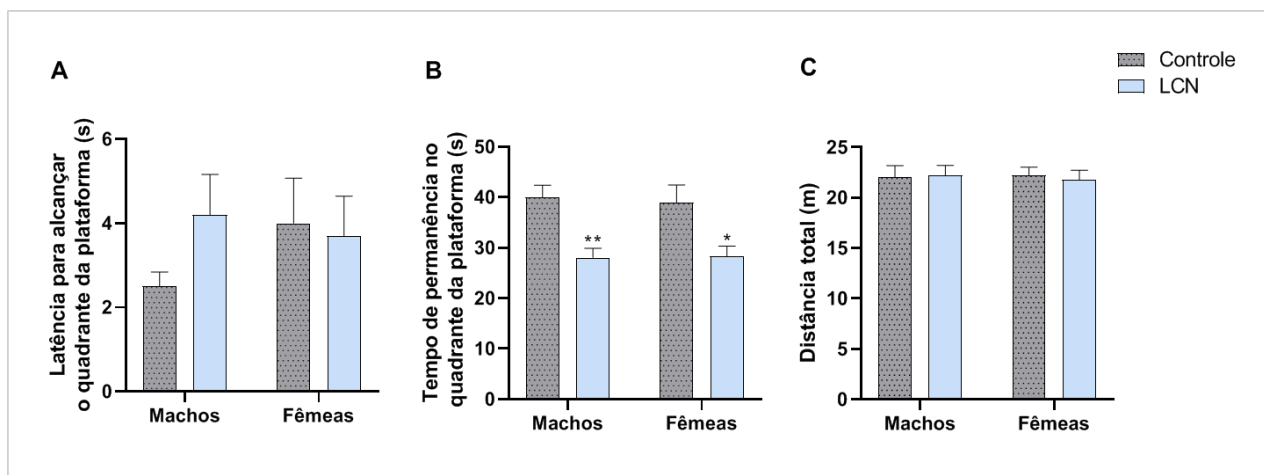
Fonte: Autora (2022).

Nota: A média do tempo das latências para os animais do grupo controle e LCN alcançar a plataforma durante o teste LAM. Em (A) temos o tempo dos machos em segundo para alcançar a plataforma, em (B) temos o tempo das fêmeas em segundo para alcançar a plataforma e em (C) temos uma sonda de memória da localização da plataforma, comparando a permeância no quadrante da plataforma nos animais do grupo LCN e controle, onde o triângulo cinza representa o local onde estava a plataforma e as linhas pretas o percurso do animal no aparato. Os dados foram submetidos à análise por *two way* (ANOVA) com medidas repetidas, seguido pelo pós teste de *Tukey* com valores expressos como média  $\pm$  EPM, para os grupos experimentais (n = 20 animais por grupo). Os asteriscos denotam os níveis de significância quando comparados com o grupo controle: \*p < 0,05; \*\*\*p < 0,001.

A seguir a figura 20 mostra avaliação dos animais do grupo LCN e grupo controle no dia do teste LBM. Observa-se que houve uma diminuição no tempo de permanência no quadrante onde estava a plataforma oculta no animais do grupo LCN,

tanto machos (\*\*p < 0,01; fig. 20.B), como fêmeas (\*p < 0,05; fig. 20.B) em comparação aos animais do grupo controle. E não houver diferenças entre os grupo em relação a distância percorrida ( fig. 20.C).

Figura 20 - Parâmetros avaliados no dia do teste LBM realizado na prole



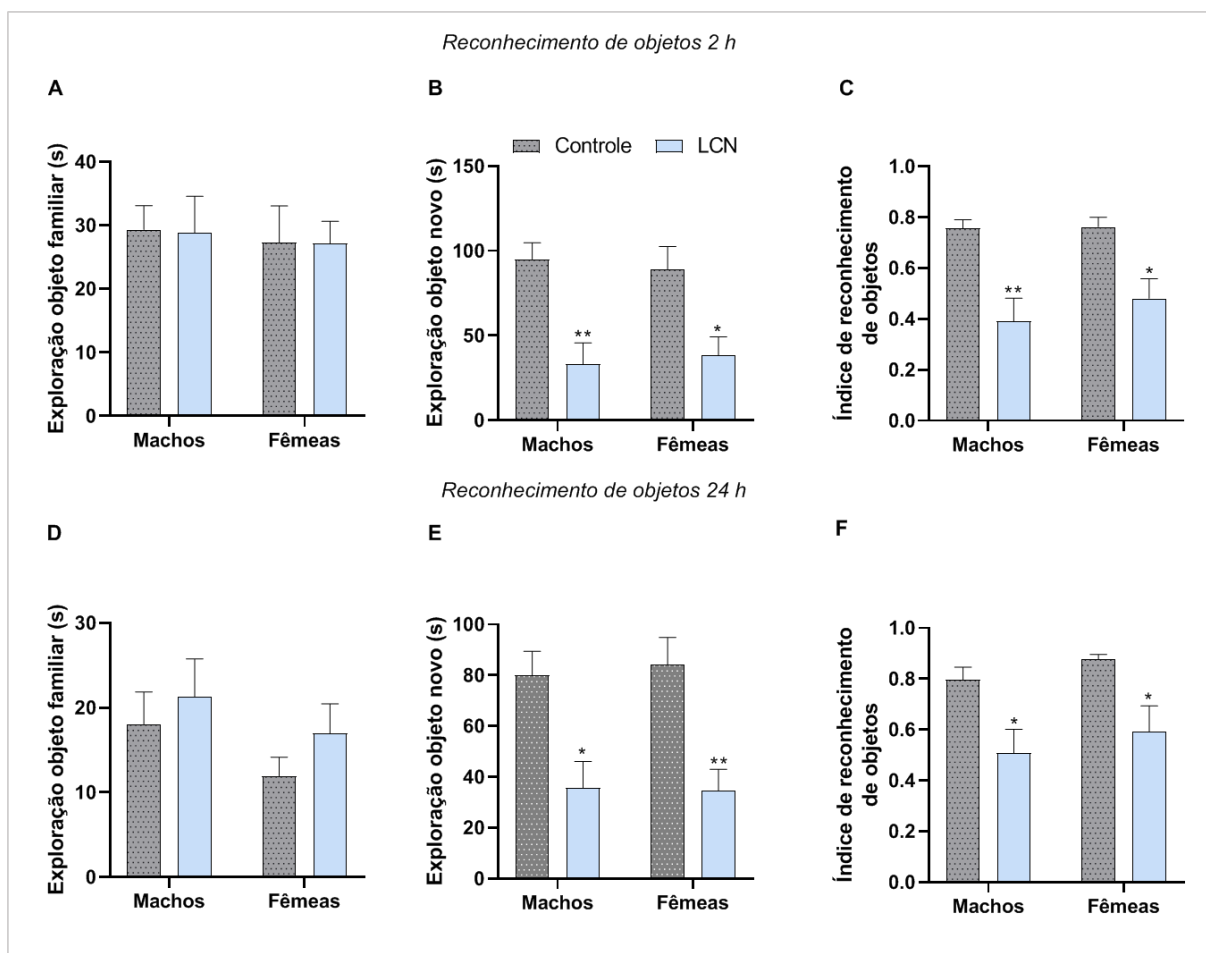
Fonte: Autores (2022).

Nota: Os parâmetros avaliados durante o teste de LBM realizado na prole do grupo LCN e Controle. Em (A) o tempo em segundos para alcançar o quadrante onde estava a plataforma oculta, em (B) o tempo em segundos para a permanência no quadrante onde estava a plataforma oculta, em (C) temos a distância total em centímetros percorrida pelos animais no aparato. Os dados foram submetidos à análise de Teste "t" student ( $p < 0,05$ ). As barras representam valores médios ( $\pm$  EPM) para o grupo experimental ( $n = 20$  animais por grupo). \*p < 0,05; \*\*p < 0,01 em comparação com o grupo Controle.

### 6.2.3 Teste Reconhecimento de Objetos

A figura 21 apresenta o desempenho dos animais submetido ao teste de reconhecimento de objetos. Observa-se uma diminuição no tempo de exploração nos animais submetidos à LCN nos testes de 2h em machos (\*\*p < 0,01; fig. 21.B) como nas fêmeas (\*p < 0,05; fig. 21.B), assim como no teste de 24h (\*p < 0,05; fig. 21.B; \*\*p < 0,01; fig. 21.E), em comparação com o grupo controle. Conseqüentemente, os animais submetidos à LCN apresentaram uma diminuição no índice de reconhecimento de objetos nos testes de 2h em machos (\*\*p < 0,01; fig. 21.C) como em fêmeas (\*p < 0,05; fig. 21.C), bem como em 24h (\*p < 0,05; fig. 21.F).

Figura 21 - Desempenho comportamental da prole no teste de Reconhecimento de Objetos



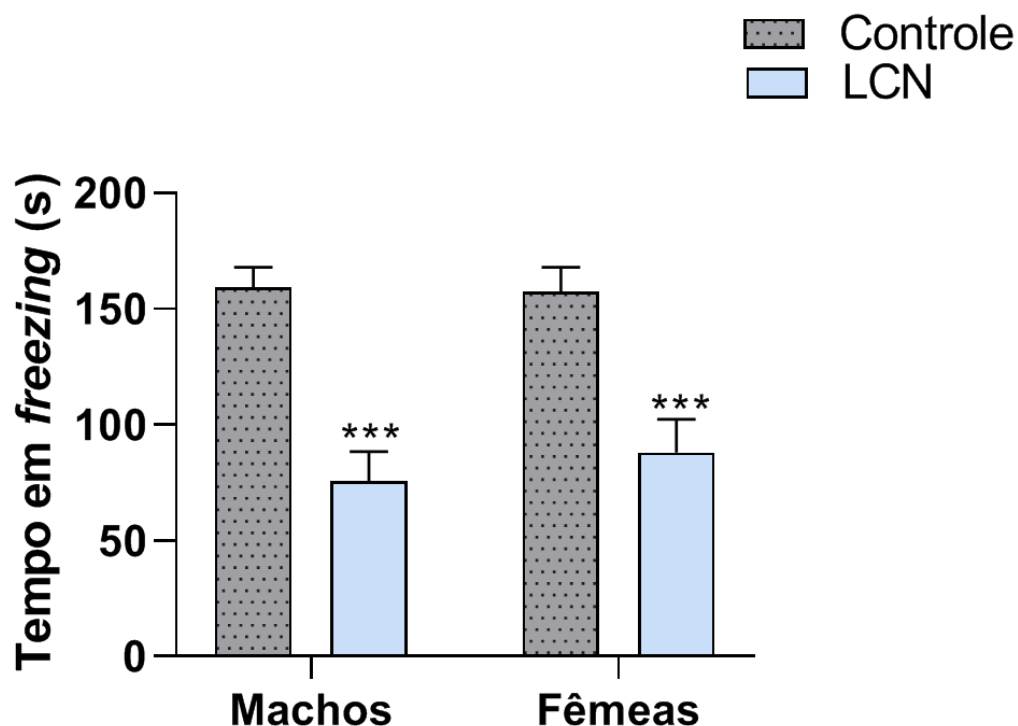
Fonte: Autores (2022).

Nota: Os animais do grupo controle e LCN submetidos ao teste de reconhecimento de objetos de 2 e 24 horas. Em (A) e (D) temos o parâmetro de tempo de exploração ao objeto novo, em (B) e (E) temos o parâmetro de tempo de exploração ao objeto familiar e em (C) e (F) temos o índice de reconhecimento de objetos. Os dados foram submetidos à análise de Teste "t" student ( $p < 0,05$ ). As barras representam valores médios ( $\pm$  EPM) para o grupo experimental ( $n = 20$  animais por grupo). \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ , em comparação com o grupo controle.

#### 6.2.4 Teste de Medo Condicionado ao Contexto

A seguir a figura 22 Observa-se que análise do comportamento de *freezing* durante o teste de memória contextual ao medo, onde revelou-se que machos e fêmeas submetidas a LCN apresentaram menor tempo de *freezing* em resposta à exposição ao contexto aversivo (\*\* $p < 0,001$ ; fig. 22) em comparação ao animais do grupo controle.

Figura 22 - Expressão do Condicionamento Contextual do medo



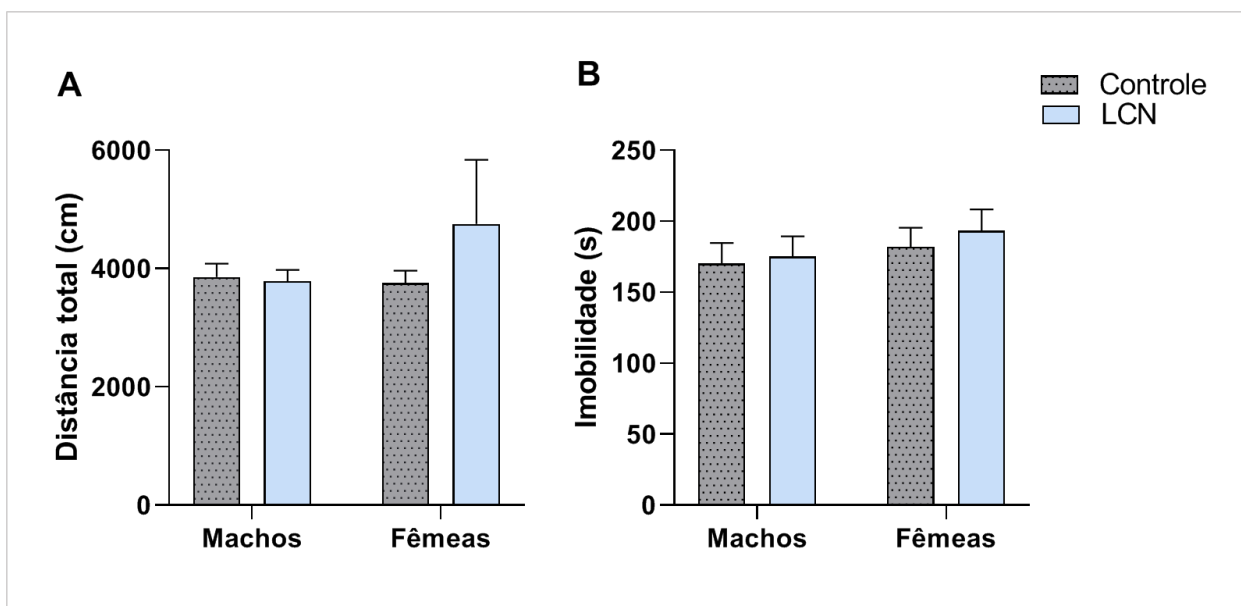
Fonte: Autores (2022).

Nota: O tempo de *freezing* em segundos em machos e fêmeas. Os dados foram submetidos à análise de Teste "t" student ( $p < 0,001$ ). As barras representam valores médios ( $\pm$ S.E.M.) para os grupos experimentais ( $n = 20$  animais por grupo). \*\*\* $p < 0,001$  em comparação com o grupo controle.

### 6.2.5 Teste Campo Aberto na prole

A figura 23 mostra avaliação da distância percorrida (fig. 23. A) e o do tempo de imobilidade (fig. 23. B) do animais no teste de campo aberto. Observa-se que não houve diferença significativas entre os grupos analisados, demonstrando que o LCN não afetou na atividade locomotora exploratória da prole.

Figura 23 - Parâmetros avaliados no teste de campo aberto da prole



Fonte: Autores (2022).

Nota: Os parâmetros avaliação da prole do grupo Controle e LCN submetidas ao teste de campo aberto. Em (A) a distância percorrida (cm) e em (B), o tempo de imobilidade (s). Os dados foram submetidos à análise de Teste "t" student ( $p < 0,05$ ). As barras representam valores médios ( $\pm$ S.E.M.) para os grupos experimentais ( $n = 20$  animais por grupo). \* $p < 0,05$  em comparação com o grupo controle.



## 7 DISCUSSÃO

Inicialmente, é relevante frisar que este estudo adotou a padronização da redução da maravalha para o grupo LCN em quantidade reduzida (1000 ml; 1,2 cm de camada) e para o grupo controle com maravalha abundante (4500 ml; 5 cm de camada), nos dias pós-parto 2 a 9, padronização realizada exclusivamente neste estudo. Dessa forma, é importante considerar que a metodologia de Limitação da Construção do Ninho, padronizada e empregada nesta pesquisa, é inovadora. Ela afeta o comportamento materno. Além disso, proporciona um ambiente mais natural para os roedores ao usar a maravalha, em vez da grade de arame, e abrange a janela temporal com o momento mais crítico para o neurodesenvolvimento da prole, o período pós-natal.

### 7.1 DISCUSSÃO SOBRE GANHO DE PESO E TESTES REALIZADOS NAS PROGENITORAS

#### 7.1.1 Ganho de peso durante a lactação e no desmame

Estudos indicam que mães expostas a ambientes adversos têm uma recuperação metabólica provavelmente mais lenta, uma vez que os processos fisiológicos durante a gestação e lactação demandam profundas mudanças no metabolismo materno e no equilíbrio energético (ABRAMS *et al.*, 2017; AIKEN *et al.*, 2019).

Além disso, é relevante observar que muitos estudos em modelos animais avaliam a interação entre o período gestacional e o estresse. Esses estudos indicam uma redução no peso dos animais submetidos a um protocolo de estresse em comparação com o grupo controle (AMUGONGO; HLUSKO, 2014; GOVINDARAJ *et al.*, 2017; YAO *et al.*, 2014). Contudo, outros estudos não identificaram diferenças significativas entre os grupos (VERSTRAETEN *et al.*, 2019; SÁ *et al.*, 2021).

Embora em menor número, foi encontrado um estudo que evidenciou diferenças significativas no peso corporal de ratas durante o período de lactação, corroborando assim os resultados deste trabalho (NEPHEW; BRIDGES, 2011). Nesse estudo, as ratas progenitoras foram pesadas a cada 3 dias durante todo o período de lactação e desmame, a fim de avaliar a influência da limitação do ninho no ganho de peso. Os resultados indicaram uma diminuição no peso das mães do grupo LCN em

relação ao grupo controle, tanto no final da lactação no PN19 quanto no desmame no PND22. Isso demonstra que o modelo de estresse utilizado interferiu no ganho de peso das progenitoras e possivelmente influenciou o peso da prole, que também apresentou uma diminuição no mesmo período. No entanto, é importante mencionar que o estudo avaliou apenas o peso, sem considerar a ingestão alimentar, o que poderia agregar informações relevantes.

Diante do exposto, Nephew e colaboradores (2011) conduziram um estudo para investigar os distúrbios do humor materno, como depressão e ansiedade crônica, utilizando ratas fêmeas *Sprague Dawley*. O objetivo era avaliar os efeitos do estresse social crônico durante a lactação. Os pesquisadores adotaram como protocolo de estresse social a introdução de machos na gaiola por 1 hora nos dias 2 a 16 de lactação, observando uma diminuição significativa no peso das ratas no nono dia de lactação.

No entanto, destaca-se que a atenuação do ganho de peso das ratas pode ser atribuída a dois possíveis motivos: a alimentação suprimida devido às interações com o macho intruso ou um aumento na taxa metabólica das mães submetidas ao protocolo de estresse. Dessa forma, consideramos que vários fatores podem influenciar resultados diversos na literatura, incluindo protocolos diferentes, modelos de estresse, a linhagem dos animais e a duração da exposição ao estresse.

### **7.1.2 Comportamento Materno**

Os comportamentos maternos em ratos englobam atividades como lambar, amamentar, proteger, limpar e cuidar da prole. Essas ações são fundamentais para o desenvolvimento saudável da prole e para o estabelecimento de vínculos afetivos entre mãe e filhote (POPOOLA; CAMERON, 2017). Ademais, no que se diz respeito à sobrevivência, o comportamento materno é essencial, pois os ratos recém-nascidos necessitam da capacidade materna para se manter vivos. Na realidade, os filhotes são muito imaturos e não conseguem regular sua temperatura por processos fisiológicos, dependendo assim da temperatura ambiente fornecida durante a amamentação. Além disso, outros padrões comportamentais como cavar a serragem e construção do ninho são essenciais para manter a temperatura corporal da prole (PATIN *et al.*, 2002). Segundo o estudo de Stern (1996), os parâmetros de lambar e

cheirar são importantes para o reconhecimento dos filhotes e são cruciais para que os filhotes possam urinar e defecar.

Estudos tanto em humanos como em animais demonstram que o afeto e carinho da mãe são alguns dos principais reguladores dos níveis de estresse do neonato. Em adição, o estresse emocional em humanos está associado à negligência/abuso no início da vida e nessas situações, embora a mãe esteja presente, o comportamento é anormal (BALE *et al.*, 2010; CHAMPAGNE *et al.*, 2003; HEIM *et al.*, 2004; FENOGLIO *et al.*, 2006). Além disso, sabe-se que o cuidado materno pode "programar" de forma constante o desenvolvimento neuronal e comportamental dos filhotes (KAFFMAN, MEANEY, 2007; ENES, GIUSTI PAIVA, 2018).

O presente estudo revela uma diminuição do comportamento materno das progenitoras do grupo LCN (Fig. 15) ao serem submetidas a um protocolo de limitação da construção do ninho, sendo possível observar uma diminuição no parâmetro cifose, uma postura na qual a coluna da mãe fica arqueada, favorecendo assim a amamentação e a regulação da temperatura corporal da prole (GUBERNICK; ALBERTS, 1983). Esses resultados vão de acordo com trabalhos anteriores, como o de Brunson e colaboradores (2005) que descrevem o uso de um modelo animal de estresse perinatal em ratos machos *Sprague Dawley*. Segundo os autores, a mãe e os filhotes foram acomodados em uma gaiola com fundo de malha plástica durante o período que compreendeu do PND2 ao PND9. O material utilizado na construção do ninho consistiu em toalhas de papel. Os resultados indicaram um comportamento anormal por parte das progenitoras, caracterizado por cuidados maternos fragmentados e redução na amamentação.

O comportamento materno fragmentado e imprevisível é um dos principais indicadores de negligência materna (GAUDIN *et al.*, 1996). Neste estudo, utilizamos o paradigma de limitação da construção do ninho para reproduzir esse padrão de negligência materna. Observamos um aumento nos comportamentos não maternos, nos quais a progenitora passou mais tempo fora do ninho, resultando na falta de cuidados maternos para os filhotes. Nephew e colaboradores (2011) conduziram um estudo avaliando os impactos do estresse social crônico durante o período da lactação. Eles observaram prejuízos nos cuidados maternos, evidenciados pelo aumento do tempo que as mães passaram explorando a gaiola e pela diminuição nos cuidados com a prole, conforme também constatado nesta pesquisa.

Adicionalmente, Ivy *et al.* (2008) empregaram o modelo de limitação do ninho; no entanto, as ratas foram alojadas em gaiolas com fundo de arame, utilizando algodão na construção do ninho, no período compreendido entre o DPP2 e o DPP9. Essa abordagem resultou em uma diminuição significativa no parâmetro de lambar/limpar por parte das mães.

Com base nisso, é possível concluir que o modelo animal de estresse perinatal LCN teve um efeito significativo de estresse nas mães do grupo LCN durante o período pós-natal, em comparação com as mães do grupo controle. Esses resultados corroboram a hipótese de que mães expostas a estímulos estressores durante o período perinatal desenvolvem adaptações anormais no comportamento materno (IVY *et al.* (2008). Essas alterações podem trazer consequências negativas para o desenvolvimento da prole, como distúrbios cognitivos, emocionais e comportamentais.

### **7.1.3 Teste de Campo Aberto Progenitoras**

O teste de campo aberto representa um instrumento preditivo amplamente utilizado para avaliação da atividade locomotora em animais, permitindo uma análise minuciosa da locomoção por meio da quantificação da distância percorrida e do tempo de imobilidade no ambiente experimental. Adicionalmente, este teste oferece a oportunidade de investigar comportamentos associados à ansiedade, conforme descrito por Toumi *et al.* (2016).

O presente estudo concentrou-se na análise dos efeitos do modelo de LCN durante o período perinatal em ratas progenitoras. O escopo da avaliação se restringiu, especificamente, à análise da locomoção e do tempo de imobilidade dos animais, a partir de uma abordagem empregando o teste de campo aberto. Contudo, os resultados obtidos não evidenciaram diferenças entre os grupos de estudo em relação a esses parâmetros comportamentais.

Corroboram com esses achados Sá *et al.* (2021), investigaram os mecanismos neurogênicos subjacentes a modificações na aprendizagem e na memória da prole, derivadas do Transtorno de Estresse Pós-Traumático (TEPT) gestacional e não identificaram diferenças na locomoção e no tempo de imobilidade entre os grupos analisados. Chargas (2020), que também utilizou o modelo de indução do TEPT durante o período gestacional para investigar o comportamento ansioso e a

regulação do eixo hipotálamo-pituitária-adrenal (HPA) na prole, não reportou distinções estatisticamente significativas na locomoção e no tempo de imobilidade entre os grupos.

Com base nesses resultados, conclui-se que as alterações comportamentais observadas nas progenitoras não são decorrentes de alterações na locomoção.

## 7.2 ANÁLISE DO GANHO DE PESO E PROCEDIMENTOS REALIZADOS NA PROLE (FÊMEA E MACHO)

### 7.2.1 Ganho de peso da ninhada (DNP1-19) e dos filhotes (pós-desmame)

O papel fundamental no desenvolvimento pós-natal é indubitavelmente desempenhado pela alimentação materna. As potenciais repercussões de uma nutrição inadequada pré-desmame, durante o desmame e após o período de desmame têm sido abordadas em estudos (ANGEL; BACK, 1985; HUYNH *et al.*, 2008; PATEL; SRINIVASAN, 2011; SMITH; SPENCER, 2012). Como mencionado anteriormente, a prole é totalmente dependente da mãe para garantir sua sobrevivência. O aumento de peso da prole é garantido pelo processo de amamentação, até que, mais tarde, esses filhotes possam se alimentar de forma independente.

Em humanos, o organismo não está plenamente desenvolvido no momento do nascimento, e o processo de maturação continua durante o período pós-natal imediato. Nesse estágio de imaturidade, observa-se uma notável plasticidade, com janelas críticas em que qualquer forma de agressão ou intervenção inadequada pode ter influências tanto positivas quanto negativas sobre o crescimento e desenvolvimento pós-natal (PATEL; SRINIVASAN, 2010). De acordo com Galler e seus colaboradores (2001), a inadequação nutricional desempenha um papel fundamental no desenvolvimento do cérebro, sendo um dos principais fatores não genéticos envolvidos nesse processo. Os efeitos da desnutrição e subnutrição são amplamente estudados devido à alta incidência de deficiências nutricionais em fetos e crianças, e ao crescente corpo de evidências que demonstra que os efeitos do insulto nutricional durante o desenvolvimento cerebral são de longa duração, resultando em déficits permanentes no aprendizado e comportamento (STUPP *et al.*, 1995; LISTER *et al.*, 2005).

A presente pesquisa avaliou o peso da ninhada durante o PND1 ao PND19 e dos filhotes após desmame no PND22, onde os mesmos foram submetidos ao protocolo LCN durante os PNDs 2-9. Os resultados indicaram uma diminuição significativa no peso tanto da ninhada quanto dos filhotes pós-desmame, sendo observada essa diminuição em machos e fêmeas.

Os achados estão em consonância com estudos anteriores, exemplificado pelo trabalho de Goodwill *et al.* (2019), que empregou um protocolo de estresse perinatal semelhante em camundongos. No referido estudo, os animais foram alojados em gaiolas com fundo de arame e fornecidos com algodão para a construção do ninho do PND4 ao PND11. Os resultados indicaram que machos e fêmeas submetidos ao protocolo de estresse apresentaram uma redução de 17,4% no peso em comparação com o grupo controle. Em outra investigação conduzida por Brunson *et al.* (2005) com ratos machos *Sprague Dawley*, que foram colocados em gaiolas com fundo de malha plástica e utilizaram toalhas de papel para a construção do ninho do PND2-9, observou-se que os animais submetidos ao período de restrição da cama apresentaram uma diminuição moderada no peso em comparação com o grupo controle.

Além disso, foi possível notar essa diminuição do peso corporal, em outros modelos de estresse, como o de separação materna. Nesse modelo, a prole é simultaneamente separada da progenitora por 3 horas. Orso e colaboradores (2020) empregaram esse modelo para examinar os efeitos de uma abordagem combinada, incorporando estresse precoce, nos comportamentos ansiosos associados ao eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HPA). Ao longo do período de PND2 ao PND15 em camundongos, os resultados revelaram que, ao término do modelo no PN16, os animais submetidos ao estresse exibiram uma redução significativa no peso em comparação com os animais do grupo controle.

Em suma, podemos concluir que os resultados encontrados nesta pesquisa sugerem que o modelo de estresse LCN durante o período perinatal pode ter um impacto negativo no crescimento e desenvolvimento dos filhotes, levando a uma redução dos comportamentos maternos, inferindo assim na amamentação, o que consequentemente levou a impactos significativos no peso corporal da prole.

### 7.2.2 Aprendizagem e memória espacial no teste de Labirinto de Aquático Morris

Um dos objetivos deste estudo foi avaliar o efeito da exposição ao modelo de estresse LCN pós-natal nas funções cognitivas da prole. Estudos indicam que a exposição ao estresse durante o período pós-natal pode impactar no desenvolvimento neurológico e cognitivo da prole. Esses efeitos podem ser observados em testes comportamentais que avaliam o aprendizado e a memória, como o Labirinto Aquático de Morris (LAM) (THEICHER *et al.*, 2016).

O LAM foi estabelecido pela primeira vez pelo neurocientista Richard G. Morris em 1981 como uma forma de testar o aprendizado, incluindo a aquisição de memória espacial e memória espacial de longo prazo. Atualmente, ele fornece um meio de avaliar a memória e o desempenho de aprendizado em animais (e em humanos pode ser utilizado um labirinto virtual), proporcionando uma compreensão da função cognitiva e do processamento espacial (BROMLEY-BRITS; DENG; SONG, 2011).

Os animais submetidos a LCN levaram mais tempo para encontrar a plataforma do que o grupo controle durante os dias 1 a 3. No dia do teste de sonda, foi possível observar que os animais do grupo LCN, tanto machos quanto fêmeas, passaram menos tempo no quadrante onde estava a plataforma oculta, em comparação ao grupo controle. Os machos do grupo LCN apresentaram um tempo significativamente menor de permanência na plataforma oculta. Recentes pesquisas pré-clínicas apoiam esses resultados em relação a ratos machos (HEIM; NEMEROFF, 2001; PLOTSKY *et al.*, 2005; AISA *et al.*, 2007).

Halubová e colaboradores (2018) investigaram os efeitos de estressores perinatais associados à exposição de drogas na função cognitiva, utilizando ratos machos e fêmeas da linhagem *Wistar*. A ninhada foi dividida em dois grupos: o grupo controle e o grupo exposto ao modelo de estresse por separação materna durante o período PND1-21. Assim como no presente estudo, os pesquisadores utilizaram o Labirinto Aquático de Morris (LAM) para avaliação do aprendizado e memória. No entanto, ao realizar testes com a progênie masculina adulta, os pesquisadores observaram que os ratos machos submetidos ao estresse passaram mais tempo procurando a plataforma oculta em comparação ao grupo controle.

O estudo de Brunson e colaboradores (2005), citado anteriormente, evidenciou resultados semelhantes a esta pesquisa, tanto na fase de aquisição (aprendizagem), que apresentou diferenças entre os grupos, quanto na fase de teste, que demonstrou uma redução no tempo de permanência no quadrante onde estava localizada a plataforma para o grupo LCN. Esses achados demonstram que o estresse precoce na vida pós-natal pode ter consequências negativas duradouras nas funções cognitivas de ratos machos e fêmeas, que se estendem até a idade adulta. Isso implica que estágios críticos de desenvolvimento são vulneráveis a estressores ambientais, e que o estresse durante esses períodos iniciais pode ter implicações importantes para a saúde cognitiva ao longo da vida (HOLLUP *et al.*, 2001; YAU *et al.*, 2002).

Aisa e colegas (2009) descobriram que o estresse precoce pós-natal teve efeitos duradouros na estrutura e função do hipocampo. O hipocampo é fundamental para a formação de memórias de longo prazo e aprendizado espacial (MORRIS *et al.*, 2003; MIRESCU *et al.*, 2004) e é altamente suscetível a hormônios relacionados ao estresse durante os estágios iniciais de desenvolvimento (DE KLOET *et al.*, 1999). A formação de células granulares no giro dentado do hipocampo de ratos começa durante a fase final da embriogênese e continua nas primeiras semanas após o nascimento (ALTMAN; BAYER, 1990). Portanto, estudo anteriores sugere que o modelo de estresse por restrição do ninho nos primeiros dias pós-natais pode afetar o desenvolvimento normal das estruturas do hipocampo (MIRESCU *et al.*, 2004; ORELAND *et al.*, 2010).

Diante disso, pesquisas, conduzidas por meio do LAM, confirmam de maneira consistente o impacto prejudicial do estresse pós-natal precoce, em particular, na função cognitiva da prole. (HOLLUP *et al.*, 2001; YAU *et al.*, 2002). É relevante notar que, através dos resultados obtidos no LAM, esta pesquisa destaca uma descoberta significativa: tanto animais machos quanto fêmeas apresentaram déficits de memória espacial, contribuindo assim para a crescente compreensão do impacto do estresse pós-natal precoce na cognição.

Dessa forma, destaca-se a importância crítica dos estágios iniciais de desenvolvimento, onde o hipocampo é particularmente sensível a estressores ambientais, afetando potencialmente a saúde cognitiva ao longo da vida. Além disso, tem implicações importantes para a compreensão do impacto do estresse precoce no neurodesenvolvimento e no aprendizado da prole.



### 7.2.3 Memória de Reconhecimento de objetos

A exposição à novidade, como um objeto ou ambiente, pode desencadear o comportamento de aproximação em ratos e camundongos. Este teste tem como objetivo aferir a capacidade dos ratos em reconhecer e discriminar objetos, fornecendo informações sobre a função cognitiva desses animais. Além disso, ele permite investigar os mecanismos neurais e os circuitos relacionados no processamento visual e memória de reconhecimento. Diante disso, o teste foi realizado para avaliar a capacidade dos ratos de reconhecer objetos novos e familiares e determinar se o modelo de estresse LCN na infância afetou essa capacidade, uma vez que estudos indicam que o estresse crônico na infância tem grande influência em déficits cognitivos e problemas de memória a longo prazo (IVY *et al.*, 2010; LANGER *et al.*, 2013).

Durante o teste de RO em ratos, o hipocampo é ativado e desempenha um papel central na codificação e armazenamento dessas memórias. Deste modo, prováveis prejuízos de memória estarão relacionados a um comprometimento das funções hipocampais (ADERSEN *et al.*, 2004; COHEN; STACKMAN, 2015). No presente estudo, o LCN prejudicou a memória de reconhecimento de curto e longo prazo em ratos pré-púberes (ou seja, os animais do grupo LCN apresentaram uma diminuição do índice de discriminação no teste RO. Pode-se notar que, no teste de 2h, os machos do grupo LCN exploraram menos tempo que as fêmeas o objeto novo. Já no teste após 24h, o inverso aconteceu, as fêmeas do grupo LCN exploraram menos que os machos o objeto novo.

Os resultados encontrados neste estudo estão de acordo com a literatura, onde pesquisas apontam que a exposição ao estresse na adolescência tem um impacto negativo na aprendizagem e na memória (LEMAIRE *et al.*, 2000; MCCORMICK *et al.*, 2010; MARKHAM, KOENIG, 2011; MORDIR *et al.*, 2014). O estudo de Ivy e colaboradores (2010) investigou os efeitos do estresse crônico na primeira infância sobre a função do hipocampo e a cognição. A pesquisa focalizou a interação entre o hormônio liberador de corticotropina (CRH) e seu receptor, CRF1, no hipocampo, sugerindo que esses mecanismos podem contribuir de maneira significativa para os déficits estruturais e cognitivos associados ao estresse precoce. Utilizando um modelo de estresse por limitação do material de nidificação em ratos *Sprague Dawley* machos e fêmeas durante o período PND2-9, as gaiolas foram

restritas com uma tela de alumínio plastificada (2,5 cm acima do piso), e toalhas de papel foram empregadas na construção do ninho. No teste de reconhecimento de objetos, observou-se que os ratos submetidos ao estresse não conseguiam distinguir um objeto novo de um previamente encontrado.

Outro estudo realizado por Rice e cooperadores (2008) caracteriza um modelo de estresse crônico em camundongos machos e fêmeas, em que a interação mãe-filhote foi interrompida pela limitação do material de nidificação do PND2-9, usando pedaços de feltro e as camas das gaiolas com malha de alumínio. Sendo possível observar no teste de RO que a função cognitiva dependente do hipocampo foi prejudicada em camundongos submetidos ao modelo até 7 meses após o período inicial de estresse provocado (RAONY; GERALDO; PANDOLFO, 2021).

Dessa forma, é possível concluir que o modelo de estresse LCN teve um impacto significativo na memória de reconhecimento de curto e longo prazo em ratos pré-púberes, apontando assim para os efeitos negativos do estresse na aprendizagem e memória, especialmente durante a adolescência. Além disso, ao transcrever isso para humanos, esses prejuízos de memória e cognição são extremamente prejudiciais para crianças e adolescentes, já que eles estão em uma fase de desenvolvimento e aprendizado escolar.

#### **7.2.4 Medo Condicionado ao contexto**

Os circuitos neurais que regulam as respostas ao medo e a formação da memória do medo são conservados evolutivamente, permitindo o estudo bem-sucedido desses mecanismos em humanos e animais de laboratório por meio de paradigmas comportamentais (MAHAN e RESSLER, 2012).

Uma abordagem para compreender os mecanismos envolvidos nas sessões de aprendizagem é investigar a aprendizagem associativa, um processo adaptativo que capacita o organismo a antecipar eventos. O condicionamento do medo ao contexto (MCC) é uma forma de aprendizagem associativa amplamente utilizada, estudada em várias espécies. Em modelos animais, a aprendizagem do medo é frequentemente explorada através do condicionamento clássico, um sistema modelo para entender os mecanismos neurobiológicos de aprendizagem e memória em mamíferos, além de elucidar as origens de distúrbios relacionados ao medo em

humanos (BERNAERTS; LAMBERTY; TIRELLI 2004; GOLÇALEZ, 2023; KERSHAW *et al.*, 2023).

A aprendizagem sobre o medo resulta em algumas das memórias mais intensas, elaboradas e precisas, devido à forte emoção presente durante a aquisição e as conexões pós-treinamento, que melhoram a consolidação e, em certa medida, a reconsolidação da memória (MCGAUGH, 2004; IZQUIERDO; FURINI; MYSKIW, 2016; CAMMAROTA *et al.*, 1998).

Este estudo visa investigar a influência do modelo LCN na memória do medo, utilizando o teste MCC, um procedimento fundamental de condicionamento. Neste paradigma, os animais associam um novo contexto à entrega de um estímulo aversivo, como um leve choque nas patas. A formação da memória é avaliada pelo comportamento de *freezing* quando os animais são reexpostos ao contexto sem o choque. Dado que os roedores podem adquirir o condicionamento do medo em uma única sessão, esse paradigma permite investigar mudanças dependentes do tempo na formação da memória de curta e longa duração (KIM; JUNG 2006; AKIRAV; MAROUN 2013; DE CARVALHO MYSKIW, 2015).

A memória emocional capacita os animais a evitar situações potencialmente aversivas com base em experiências passadas. Neste estudo, o nível de *freezing* foi usado como medida da taxa de retenção de memória, indicando que maior *freezing* está associado a uma maior retenção de memória. Observou-se que os animais do grupo LCN, tanto machos quanto fêmeas, exibiram menor tempo de *freezing* em resposta à exposição ao contexto em comparação com os animais grupo controle. Esses resultados são congruentes com pesquisas anteriores (PRYCE *et al.*, 2003; KOSTEN *et al.*, 2005).

O estudo de Chocyk e seus cooperadores (2014) investigaram como o estresse precoce na vida pode influenciar a formação e a retenção de memórias de medo em ratos machos e fêmeas adolescentes e se essas memórias persistem na idade adulta. Eles usaram o protocolo de separação materna em ratos *wistar* por 3 horas, durante os PNDs 1 a 14. Assim como está pesquisa, foi realizado o teste de MCC na adolescência e na fase adulta. Os autores observaram reduções no tempo de *freezing* nos animais submetido a separação materna, independente do sexo. Outro estudo de Gresack e seus colaboradores (2010) demonstraram que criação de camundongos em um ambiente isolado pode interferir com a capacidade de aprender o medo contextual. Adicionalmente Krosten e pesquisadores (2007) observaram que

a manipulação do isolamento neonatal no início da vida leva a efeitos duradouros na função do hipocampo, resultando em comprometimento do desempenho da memória e alterações no hipocampo.

Pesquisas recentes apontam que os adolescentes apresentam maior sensibilidade afetiva e social, bem como diferenças na aprendizagem associativa de estímulos apetitivos e aversivos, em comparação com crianças e adultos. Durante a aprendizagem, a sensibilidade afetiva e social do adolescente contribui para uma forte aquisição, maior generalização, redução da extinção e aumento da exploração. Isso significa que os adolescentes têm uma capacidade única de aprender através de suas emoções (TOWNER; CHIERCHIA; BLAKEMORE, 2023)

Dessa forma, embora exista poucas análises experimentais de MCC na adolescência em animais, podemos concluir que a influência do modelo LCN na memória do medo, é uma ferramenta importante para avaliar a formação e a retenção dessa memória em roedores. Sendo possível observar nesta pesquisa que, os animais do grupo LCN exibiram menor tempo de *freezing* em resposta à exposição ao contexto quando comparado com o grupo controle, impedindo uma alteração na taxa de retenção de memória.

Em resumo, este estudo destaca que o modelo LCN tem um impacto significativo na memória do medo em roedores pré-púberes. Além disso, destaca a necessidade de uma compreensão mais aprofundada dos mecanismos subjacentes a essas mudanças na formação e manutenção da memória emocional. Ao contribuir para o entendimento dos processos de aprendizagem associativa e emocional, este estudo abre caminho para pesquisas futuras com implicações importantes na compreensão e tratamento de distúrbios neurobiológicos relacionados à aprendizagem e memória.

#### **7.2.5 Avaliação do Campo Aberto Prole (Machos e Fêmeas)**

Assim como nas progenitoras, foi realizado o teste de campo aberto na prole. Como citado anteriormente, o teste de campo aberto (CA) é uma medida comum do comportamento exploratório e da atividade geral em camundongos e ratos, onde tanto a qualidade quanto a quantidade da atividade podem ser medidas. Isso significa que o teste pode fornecer informações sobre como os animais exploram seu ambiente e

quão ativos eles são em geral (GOULD; DAO; KOVACSICS, 2009; WALSH; CUMMINS, 1976).

Nesta pesquisa, o teste foi realizado na prole nos PNDs 27 a 33, assim como suas progenitoras foram avaliadas para verificar a influência do modelo LCN na atividade locomotora e exploratória. Os resultados não revelaram diferenças significativas nos parâmetros avaliados entre os grupos. Diante disso, sugere-se que o modelo LCN, aplicado no período perinatal, não teve um impacto distintivo sobre os níveis de atividade locomotora e exploratória da prole. Essa descoberta é consistente com a literatura existente (ORSO *et al.*, 2020; RESHETNIKOV *et al.*, 2020).

O estudo de Benneti e colegas (2009) avaliou o possível papel dos déficits colinérgicos no comprometimento cognitivo causado pela privação materna em ratos *Wistar* machos. No PND11, os animais foram submetidos a 3 horas de privação diária da mãe durante os primeiros 10 dias de vida; logo após, na idade adulta, foram realizados testes para verificar o impacto dessa privação em seu desenvolvimento cognitivo. Assim como neste trabalho, eles avaliaram a atividade locomotora dos animais, todavia não observaram diferenças entre os grupos estudados.

Goodwill *et al.* (2019) utilizando um modelo de restrição de material de nidificação com camundongos adolescentes não encontrou diferenças significativas nos parâmetros de locomoção dos animais. Isso demonstra que a alteração nas condições do ninho não afetou a locomoção dos animais, reforçando a consistência dos resultados desses estudos. Adicionalmente, Gallo *et al.* (2019), também utilizando o modelo análogo ao LCN em camundongos machos e fêmeas, observou que o uso de uma gaiola com piso de arame e algodão para construção do ninho durante o PND4-11 não afetou a atividade locomotora dos animais estudados.

## 8 CONCLUSÃO

Diante dos resultados encontrados neste trabalho, concluímos que o estresse perinatal induzido pelo modelo LCN impactou o comportamento materno o que pode ter contribuído para os déficits de memória espacial, de memória de reconhecimento de objetos e de memória aversiva.

Nesse contexto, a detecção precoce de alterações no neurodesenvolvimento emerge como uma ferramenta fundamental para mitigar os impactos negativos nas esferas social, emocional e na infância, no qual podem persistir na vida adulta. Identificar precocemente desafios cognitivos resultantes do estresse perinatal, como os observados no modelo LCN deste estudo, proporciona oportunidades cruciais para implementar estratégias de intervenção e apoio. Essas medidas não apenas visam melhorar a qualidade de vida dos indivíduos afetados, mas também contribuem para a construção de uma sociedade mais consciente e inclusiva, destacando a importância de abordagens preventivas e terapêuticas no cuidado com o neurodesenvolvimento desde as fases iniciais da vida.

## REFERÊNCIAS

- AGGLETON, J. P. One-trial object recognition by rats. **The Quarterly Journal of Experimental Psychology**, v. 37, n. 4, p. 279-294, 1985.
- AISA, B. *et al.* Effects of neonatal stress on markers of synaptic plasticity in the hippocampus: implications for spatial memory. **Hippocampus**, v. 19, n. 12, p. 1222-1231, 2009.
- AKIRAV, I.; MAROUN, M. Stress modulation of reconsolidation. **Psychopharmacology**, v. 226, p. 747-761, 2013.
- ALDAO, A.; NOLEN-HOEKSEMA, S.; SCHWEIZER, S. Emotion-regulation strategies across psychopathology: A meta-analytic review. **Clinical Psychology Review**, v. 30, n. 2, p. 217-237, 2010.
- ALTMAN, J.; BAYER, S. A. Migration and distribution of two populations of hippocampal granule cell precursors during the perinatal and postnatal periods. **Journal of Comparative Neurology**, v. 301, n. 3, p. 365-381, 1990.
- AMUGONGO, S. K.; HLUSKO, L. J. Impact of maternal prenatal stress on growth of the offspring. **Aging Dis, Berkeley**, v. 5, p. 1-16, 2014.
- ANDERSEN, M. L. *et al.* **Princípios éticos e práticos do uso de animais de experimentação**. São Paulo: Universidade Federal de São Paulo, 2004, p.167.
- ANGEL, J. F.; BACK, D. W. Weaning and metabolic regulation in the rat. **Canadian Journal of Physiology and Pharmacology**, v. 63, n. 5, p. 538-545, 1985.
- APFELBACH, R. *et al.* The effects of predator odors in mammalian prey species: a review of field and laboratory studies. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 29, n. 8, p. 1123-1144, 2005.
- ARAUJO, M. R. *et al.* Spontaneous activity of CB2 receptors attenuates stress-induced behavioral and neuroplastic deficits in male mice. **Frontiers in Pharmacology**, v.12, p. 4179, 2021.
- BALE, T. L. *et al.* Early life programming and Neurodevelopmental Disorders. **Biological Psychiatry**, v. 68, n. 4, p. 314-319, 2010.
- BATINIĆ, B. *et al.* Positive modulation of  $\alpha 5$  GABAA receptors in preadolescence prevents reduced locomotor response to amphetamine in adult female but not male rats prenatally exposed to lipopolysaccharide. **International Journal of Developmental Neuroscience**, v. 61, p. 31-39, 2017.
- BENETTI, F. *et al.* Early postnatal maternal deprivation in rats induces memory deficits in adult life that can be reversed by donepezil and galantamine. **International Journal of Developmental Neuroscience**, v. 27, n. 1, p. 59-64, 2009.

BERLYNE, D. E. Novelty and curiosity as determinants of exploratory behaviour. **British Journal of Psychology**, v. 41, n. 1, p. 68, 1950.

BERNAERTS, P.; LAMBERTY, Y.; TIRELLI, E. Histamine H3 antagonist thioperamide dose-dependently enhances memory consolidation and reverses amnesia induced by dizocilpine or scopolamine in a one-trial inhibitory avoidance task in mice. **Behavioural Brain Research**, v. 154, n. 1, p. 211-219, 2004.

BERNE, R. M.; LEVY, M. N.; KOEPPEN, B. M. **Berne & Levy physiology**. 6. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2009.

BIFULCO, A. *et al.* Adult attachment style. II: Its relationship to psychosocial depressive-vulnerability. **Social Psychiatry and Psychiatric Epidemiology**, v. 37, n. 2, p. 60-67, 2002.

BROMLEY-BRITS, K.; DENG, Y. U.; SONG, W. Morris water maze test for learning and memory deficits in Alzheimer's disease model mice. **JoVE (Journal of Visualized Experiments)**, n. 53, p. 29-20, 2011.

BRUNSON, K. L. *et al.* Mechanisms of late-onset cognitive decline after early-life stress. **Journal of Neuroscience**, v. 25, n. 41, p. 9328-9338, 2005.

CAMMAROTA, M. *et al.* Learning-specific, time-dependent increases in hippocampal Ca<sup>2+</sup>/calmodulin-dependent protein kinase II activity and AMPA GluR1 subunit immunoreactivity. **European Journal of Neuroscience**, v. 10, n. 8, p. 2669-2676, 1998.

CAMPOS, A. C. *et al.* Plastic and neuroprotective mechanisms involved in the therapeutic effects of cannabidiol in psychiatric disorders. **Frontiers in Pharmacology**, v. 120, n. 2, p. 269, 2017.

CHAE, Y. *et al.* Event memory and suggestibility in abused and neglected children: Trauma-related psychopathology and cognitive functioning. **Journal of Experimental Child Psychology**, v. 110, n. 4, p. 520-538, 2011.

CHAGAS, L. A. *et al.* Anxiety-like behavior and neuroendocrine changes in offspring resulting from gestational post-traumatic stress disorder. **Behavioural Brain Research**, v. 399, p. 113-026, 2021.

CHAGAS, L. A. **Transtorno do estresse pós-traumático durante a gestação induz ao comportamento tipo-ansioso e desregulação do eixo hipotálamo pituitária-adrenal na prole**. 2020. 80 f. Dissertação (Mestrado em Zoologia e Comportamento Animal) - Universidade Federal de Alfenas, Alfenas-MG, 2020.

CHAMPAGNE, F. A. *et al.* Variations in maternal care in the rat as a mediating influence for the effects of environment on development. **Physiology & Behavior**, v. 79, n. 3, p. 359-371, 2003.



- CHOCYK, A. *et al.* The effects of early-life adversity on fear memories in adolescent rats and their persistence into adulthood. **Behavioural Brain Research**, v. 264, p. 161-172, 2014.
- 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, p. 105-117, Aug. 2015.
- COLUCCI-D'AMATO, L.; SPERANZA, L.; VOLPICELLI, F. Neurotrophic factor BDNF, physiological functions and therapeutic potential in depression, neurodegeneration and brain cancer. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 20, p. 177-777, 2020.
- COQUELLE, F. M. *et al.* The DCX superfamily 1: common and divergent roles for members of the mouse DCX superfamily. **Cell Cycle**, v. 5, n. 9, p. 976-983, 2006.
- COTMAN, C. W.; BERCHTOLD, N. C. Exercise: a behavioral intervention to enhance brain health and plasticity. **Trends in Neurosciences**, v. 25, n. 6, p. 295-301, 2002.
- CROMWELL, H. C.; PANKSEPP, J. Rethinking the cognitive revolution from a neural perspective: How overuse/misuse of the term 'cognition' and the neglect of affective controls in behavioral neuroscience could be delaying progress in understanding the Brain Mind. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v.35, n.9, p. 2026-2035, 2011.
- CURRAN, H. V.; MINTZER, M. Z. Psychopharmacology of memory. **Psychopharmacology**. v. 188, p. 393–396, 2006.
- D'HOOGE, R.; DE DEYN, P. P. Applications of the Morris water maze in the study of learning and memory. **Brain Research Reviews**, v. 36, n. 1, p. 60-90, 2001.
- D'SOUZA, V. *et al.* Increased oxidative stress from early pregnancy in women who develop preeclampsia. **Clinical and Experimental Hypertension**, v. 38, n. 2, p. 225-232, 2016.
- DAYAN, J. Clinique et épidémiologie des troubles anxieux et dépressifs de la grossesse et du post-partum. **Review J Gynecol Obstet Biol Reprod**, v.35, n. 6, p. 549-561. 2007.
- DE BELLIS, M. D. *et al.* Developmental traumatology part II: brain development. **Biological Psychiatry**, v. 45, n. 10, p. 1271-1284, 1999.
- DE CARVALHO MYSKIW, J. *et al.* Extinction learning, which consists of the inhibition of retrieval, can be learned without retrieval. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 112, n. 2, p. E230-E233, 2015.
- DE CARVALHO MYSKIW, J.; BENETTI, F.; IZQUIERDO, I. Behavioral tagging of extinction learning. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 110, n. 3, p. 1071-1076, 2013.

DE KLOET, E. R.; OITZL, M. S.; JOËLS, M. Stress and cognition: are corticosteroids good or bad guys? **Trends in Neurosciences**, v. 22, n. 10, p. 422-426, 1999.

DEBIEC, J.; BUSH, D. E. A.; LEDOUX, J. E. Noradrenergic enhancement of reconsolidation in the amygdala impairs extinction of conditioned fear in rats—a possible mechanism for the persistence of traumatic memories in PTSD. **Depression and Anxiety**, v. 28, n. 3, p. 186-193, 2011.

DEL CERRO, M. C. R. *et al.* Maternal care counteracts behavioral effects of prenatal environmental stress in female rats. **Behavioural Brain Research**, v. 208, n. 2, p. 593-602, 2010.

DEMAESTRI, C. *et al.* Type of early life adversity confers differential, sex-dependent effects on early maturational milestones in mice. **Hormones and Behavior**, v. 124, p. 104-763, 2020.

DÖHLER, M.; MANOW, P. Korporatisierung als gesundheitspolitische Strategie. **MPIfG Discussion Paper**, n. 91/9, p. 35-90, 1991. Disponível em: <http://hdl.handle.net/10419/125909>. Acesso em: 29 July. 2022.

ENES-MARQUES, S.; GIUSTI-PAIVA A. Litter size reduction accentuates maternal care and alters behavioral and physiological phenotypes in rat adult offspring. **J Physiol Science**, v. 68, n. 6, p.789-798, 2018.

ENNACEUR, A.; DELACOUR, J. A new one-trial test for neurobiological studies of memory in rats. 1: Behavioral data. **Behavioural Brain Research**, v. 31, n. 1, p. 47-59, 1988.

ENNACEUR, A.; CHAZOT, Paul L. Preclinical animal anxiety research—flaws and prejudices. **Pharmacology Research & Perspectives**, v. 4, n. 2, p. 002-23, 2016.

FENOGLIO, K. A. *et al.* Enduring, handling-evoked enhancement of hippocampal memory function and glucocorticoid receptor expression involves activation of the corticotropin-releasing factor type 1 receptor. **Endocrinology**, v. 146, n. 9, p. 4090-4096, 2005.

FENOGLIO, K. A.; CHEN, Y.; BARAM, T. Z. Neuroplasticity of the hypothalamic–pituitary–adrenal axis early in life requires recurrent recruitment of stress-regulating brain regions. **Journal of Neuroscience**, v. 26, n. 9, p. 2434-2442, 2006.

FIORENZA, N. G. *et al.* Modulation of the extinction of two different fear-motivated tasks in three distinct brain areas. **Behavioural Brain Research**, v. 232, v.1, 210–216. 2012.

GALLER, J. R.; BARRETT, L. R. Children and famine: long-term impact on development. **Ambulatory Child Health**, v. 7, n. 2, p. 85-95, 2001.

GALLO, M. *et al.* Limited bedding and nesting induces maternal behavior resembling both hypervigilance and abuse. **Frontiers in Behavioral Neuroscience**, v. 13, 25 July 2019.

GAUDIN, J. R.; JAMES, M. *et al.* Family functioning in neglectful families. **Child Abuse & Neglect**, v. 20, n. 4, p. 363-377, 1996.

GLUCKMAN, P. D. *et al.* Environmental influences during development and their later consequences for health and disease: implications for the interpretation of empirical studies. **Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 272, n. 1564, p. 671-677, 2005.

GLYNN, L. M.; BARAM, T. Z. The influence of unpredictable, fragmented parental signals on the developing brain. **Frontiers in Neuroendocrinology**, 53, 100736, 2019.

GONÇALVES, M. P.; TOMAZ, C.; SANGOI, C. Considerações sobre envelhecimento, memória e atividade física. **Revista Brasileira de Ciência e Movimento**, v. 14, n. 2, p. 95-102, 2006.

GOODMAN, M. L. *et al.* Child maltreatment, social capital, maternal mental health and duration of program involvement: Assessment from a community-based empowerment program in Kenya. **Journal of Family Violence**, v. 38, n. 3, p. 407-417, 2023.

GOODWILL, H. L. *et al.* Early life stress leads to sex differences in development of depressive-like outcomes in a mouse model. **Neuropsychopharmacology**, v. 44, n. 4, p. 711-720, 2019.

GOULD, T. D.; DAO, D. T.; KOVACSICS, C. E. The open field test. Mood and anxiety related phenotypes in mice: Characterization using behavioral tests. **Methods Mol Biol**, p. 1-20, 2009.

GOVINDARA, J. S. *et al.* Maternal psychological stress-induced developmental disability, neonatal mortality and stillbirth in the offspring of Wistar albino rats. **PLoS One**. v. 12, n. 2, p. 017-1089, 2017.

GONÇALEZ, J. L. **Avaliação da influência do ciclo estral e os efeitos da inibição da recaptação de serotonina e noradrenalina e da inibição da síntese de corticosterona nas respostas ao modelo de medo condicionado ao contexto.** 2023. 63 f. Tese (Doutorado em Neurociências) - Universidade de São Paulo, São Paulo - SP, 2023.

GRESACK, J. E. *et al.* Isolation rearing-induced deficits in contextual fear learning do not require CRF2 receptors. **Behavioural Brain Research**, v. 209, n. 1, p. 80-84, 2010.

GUALTIERI, F. *et al.* Effects of environmental enrichment on doublecortin and BDNF expression along the dorso-ventral axis of the dentate gyrus. **Frontiers in Neuroscience**, v. 11, p. 488, 2017.

GUBERNICK, D. J.; ALBERTS, J. R. Maternal licking of young: resource exchange and proximate controls. **Physiology Behavior**, v. 5, p. 593-601, 1983.

GUDI, Viktoria *et al.* Synaptophysin is a reliable marker for axonal damage. **Journal of Neuropathology & Experimental Neurology**, v. 76, n. 2, p. 109-125, 2017.

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

HEIM, C.; PLOTSKY, P. M.; NEMEROFF, C. B. Importance of studying the contributions of early adverse experience to neurobiological findings in depression. **Neuropsychopharmacology**, v. 29, n. 4, p. 641-648, 2004.

HEIN, C.; NEMEROFF, C. B. The role of childhood trauma in the neurobiology of mood and anxiety disorders: preclinical and clinical studies. **Biol. Psychiatry.**, v.49, p.1023-1039, 2001.

HENNESSY, M. B. *et al.* Maternal behavior, pup vocalizations, and pup temperature changes following handling in mice of 2 inbred strains. *Developmental Psychobiology: The Journal of the International Society for Developmental Psychobiology*, v. 13, n. 6, p. 573-584, 1980.

HOLLUP, S. A. *et al.* Impaired recognition of the goal location during spatial navigation in rats with hippocampal lesions. **Journal of Neuroscience**, v. 21, n. 12, p. 4505-4513, 2001.

HOLUBOVÁ, A. *et al.* Early postnatal stress impairs cognitive functions of male rats persisting until adulthood. **Frontiers in Behavioral Neuroscience**, v. 12, p. 176, 2018.

HUYNH, M. *et al.* Dietary fructose during the suckling period increases body weight and fatty acid uptake into skeletal muscle in adult rats. **Obesity**, v. 16, n. 8, p. 1755-1762, 2008.

IVY, A S. *et al.* Dysfunctional nurturing behavior in rat dams with limited access to nesting material: a clinically relevant model for early-life stress. **Neuroscience**, v. 154, n. 3, p. 1132-1142, 2008.

IVY, A. S. *et al.* Hippocampal dysfunction and cognitive impairments provoked by chronic early-life stress involve excessive activation of CRH receptors. **Journal of Neuroscience**, v. 30, n. 39, p. 13005-13015, 2010.

IZQUIERDO, I. **Memória**. Porto Alegre: Artmed; 2002.

IZQUIERDO, I.; FURINI, C. R. G.; MYSKIW, J. C. Fear memory. **Physiological Reviews**, v. 96, n. 2, p. 695-750, 2016.

IZQUIERDO, I. *et al.* Neurotransmitter receptors involved in post-training memory processing by the amygdala, medial septum, and hippocampus of the rat. **Behavioral and Neural Biology**, v. 58, n. 1, p. 16-26, 1992.

IZQUIERDO, I.; MEDINA, J. H. Memory formation: the sequence of biochemical events in the hippocampus and its connection to activity in other brain structures. **Neurobiology of Learning and Memory**, v. 68, n. 3, p. 285-316, 1997.

KAFFMAN, A.; MEANEY, M. J. Neurodevelopmental sequelae of postnatal maternal care in rodents: clinical and research implications of molecular insights. **Journal of Child Psychology and Psychiatry**, v.48, n.3/4, p. 224–244, 2017.

KANDEL, E. R. *et al.* **Principles of neural science**. New York: McGraw-Hill. 2000, v. 4, p. 1227-1246.

KARATSOREOS, I. N.; MCEWEN, B. S. Annual research review: The neurobiology and physiology of resilience and adaptation across the life course. **Journal of Child Psychology and Psychiatry**, v. 54, n. 4, p. 337-347, 2013.

KENNEY, J. W. *et al.* Contextual fear conditioning in zebrafish. **Learning & Memory**, v. 24, n. 10, p. 516-523, 2017.

KERSHAW, K. A. *et al.* Dissociable role of the basolateral complex of the amygdala in the acquisition and extinction of conditioned fear following reproductive experience in female rats. **Neurobiology of Learning and Memory**, v. 206, p. 107863, 2023.

KIM, J. J.; FANSELOW, M. S. Modality-specific retrograde amnesia of fear. **Science**, v. 256, n. 5057, p. 675-677, 1992.

KIM, J. J.; JUNG, M. W. Circuitos neurais e mecanismos envolvidos no condicionamento do medo pavloviano: uma revisão crítica. **Neurociências e Revisões Biocomportamentais**, v. 2, pág. 188-202, 2006.

KINSLEY, C. H. *et al.* Motherhood improves learning and memory. **Nature**, v. 402, n. 6758, p. 137-138, 1999.

KINSLEY, C. H.; AMORY-MEYER, E. Why the maternal brain? **Journal of Neuroendocrinology**, v. 23, n. 11, p. 974-983, 2011.

KORTE, M. *et al.* A role for BDNF in the late-phase of hippocampal long-term potentiation. **Neuropharmacology**, v. 37, n. 4-5, p. 553-559, 1998.

KOSTEN, T. A. K. P. Neonatal isolation is a relevant model for studying the contributions of early life stress to vulnerability to drug abuse: response to Marmendal *et al.* (2004). **Dev Psychobiol.** v. 47 n. 2, p.10-108. 2005.

KOSTEN, T. A. *et al.* Memory impairments and hippocampal modifications in adult rats with neonatal isolation stress experience. **Neurobiology of Learning and Memory**, v. 88, n. 2, p. 167-176, 2007.

LAMBERT, T. J.; FERNANDEZ, S. M.; FRICK, K. M. Different types of environmental enrichment have discrepant effects on spatial memory and synaptophysin levels in female mice. **Neurobiology of Learning and Memory**, v. 83, n. 3, p. 206-216, 2005.

LANE, R. D. Memory reconsolidation, emotional arousal and the process of change in psychoanalysis. **Outcome Research and the Future of Psychoanalysis: Clinicians and Researchers in Dialogue**, v. 01, p. 188-205, 2020.

LEAL, G.; BRAMHAM, C. R.; DUARTE, C. B. BDNF and hippocampal synaptic plasticity. **Vitamins and Hormones**, v. 104, p. 153-195, 2017.

LEGER, M. *et al.* Object recognition test in mice. **Nature Protocols**, v. 8, n. 12, p. 2531-2537, 2013.

LEHMANN, J. *et al.* The maternal separation paradigm and adult emotionality and cognition in male and female Wistar rats. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 64, n. 4, p. 705-715, 1999.

LEMAIRE, V. *et al.* Prenatal stress decreases spatial learning and memory retrieval of the adult male offspring of rats. **Physiology & Behavior**, v. 129, p. 104-109, 2014.

LENT, R. **Cem bilhões de neurônios: conceitos fundamentais de neurociência**. Rio de Janeiro: Atheneu, 2004 p. 600–698.

LESBURGUÈRES, E. *et al.* The object context-place-location paradigm for testing spatial memory in mice. **Bio-Protocol**, v. 7, n. 8, p. 2231-2231, 2017.

LEVINE, B. Eating oneself and uninvited guests: autophagy-related pathways in cellular defense. **Cell**, v. 120, n. 2, p. 159-162, 2005.

LINCOLN, T. M.; SCHULZE, L.; RENNEBERG, B. The role of emotion regulation in the characterization, development and treatment of psychopathology. **Nature Reviews Psychology**, v1, p. 272-286, 2022.

LISTER, J. P. *et al.* Effect of prenatal protein malnutrition on numbers of neurons in the principal cell layers of the adult rat hippocampal formation. **Hippocampus**, v. 15, n. 3, p. 393-403, 2005.

LOMBROSO, P. Learning and memory. **Brazilian Journal of Psychiatry**, v. 26, p. 207-210, 2004.

LU, B.; NAGAPPAN, G.; LU, Y. BDNF. BDNF and synaptic plasticity, cognitive function, and dysfunction. **Neurotrophic Factors**, v. 220, p. 223-250, 2014.  
Disponível em: [https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-642-45106-5\\_9](https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-642-45106-5_9)  
Acesso em: 30 out. 2022.

LUEPTOW, L. M. Novel object recognition test for the investigation of learning and memory in mice. **JoVE (Journal of Visualized Experiments)**, n. 126, p. e55-718, 2017.

LUI, C. C. *et al.* Prenatal stress in rat causes long-term spatial memory deficit and hippocampus MRI abnormality: Differential effects of postweaning enriched environment. **Neurochemistry International**, v. 58, n. 3, p. 434-441, 2011.

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

MAHAN, A. L.; RESSLER, K. J. Fear conditioning, synaptic plasticity and the amygdala: implications for posttraumatic stress disorder. **Trends in Neurosciences**, v. 35, n. 1, p. 24-35, 2012

MANNS, J. R.; HOPKINS, R. O.; SQUIRE, L. R. Semantic memory and the human hippocampus. **Neuroscience**, v. 38, n. 1, p. 127-133, 2003.

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

MAREN, S.; PHAN, K. L.; LIBERZON, I. The contextual brain: implications for fear conditioning, extinction and psychopathology. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 14, n. 6, p. 417-428, 2013.

MARKHAM, J. A.; KOENIG, J. I. Prenatal stress: role in psychotic and depressive diseases. **Psychopharmacology**, v. 214, p. 89-106, 2011.

MCCORMICK, C. M. *et al.* Investigations of HPA function and the enduring consequences of stressors in adolescence in animal models. **Brain and Cognition**, v. 72, n. 1, p. 73-85, 2010.

MCEWEN, B. S. Effects of adverse experiences for brain structure and function. **Biological Psychiatry**, v. 48, n. 8, p. 721-731, 2000.

MCEWEN, B. S. Protective and damaging effects of stress mediators: central role of the brain. **Progress in Brain Research**, v. 122, p. 25-34, 2000.

MCEWEN, Bruce S.; WINGFIELD, John C. The concept of allostasis in biology and biomedicine. **Hormones and Behavior**, v. 43, n. 1, p. 2-15, 2003.

MCGAUGH, J. L. The amygdala modulates the consolidation of memories of emotionally arousing experiences. **Rev. Neuroscience**, v. 27, p. 1-28, 2004.

MEERLO, P. *et al.* The influence of postnatal handling on adult neuroendocrine and behavioural stress reactivity. **Journal of Neuroendocrinology**, v. 11, n. 12, p. 925-933, 1999.

MELTZER-BRODY, S. New insights into perinatal depression: pathogenesis and treatment during pregnancy and postpartum. **Dialogues Clin Neurosci**. V. 13, p. 89-100, 2011. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21485749/>. Acesso em: 16 ago. 2022.

MESQUITA, B.; ALBERT, D. The cultural regulation of emotions. **Handbook of Emotion Regulation**, v. 2, p. 284-301, 2007.

MIRESCU, C.; PETERS, J. D.; GOULD, E. Early life experience alters response of adult neurogenesis to stress. **Nature Neuroscience**, v. 7, n. 8, p. 841-846, 2004.

MOOG, N. K. *et al.* Influence of maternal thyroid hormones during gestation on fetal brain development. **Neuroscience**, v. 342, p. 68-100, 2017.

MORRIS, R. Developments of a water-maze procedure for studying spatial learning in the rat. **Journal of Neuroscience Methods**, v. 11, n. 1, p. 47-60, 1984.

MORRIS, R. G. M. *et al.* Elements of a neurobiological theory of the hippocampus: the role of activity-dependent synaptic plasticity in memory. Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: **Biological Sciences**, v. 358, n. 1432, p. 773-786, 2003.

MORRIS, R. G. M. Spatial localization does not require the presence of local cues. **Learning and Motivation**, v. 12, n. 2, p. 239-260, 1981.

MUMBY, D. G. *et al.* Hippocampal damage and exploratory preferences in rats: memory for objects, places, and contexts. **Learning & Memory**, v. 9, n. 2, p. 49-57, 2002.

MUNCK, A.; GUYRE, P. M.; HOLBROOK, N. J. Physiological functions of glucocorticoids in stress and their relation to pharmacological actions. **Endocrine Reviews**, v. 5, n. 1, p. 25-44, 1984.

NEPHEW, B. C.; BRIDGES, R. S. Effects of chronic social stress during lactation on maternal behavior and growth in rats. **Stress**, v. 14, n. 6, p. 677-684, 2011.

NEWPORT, D. J.; STOWE, Z. N.; NEMEROFF, C. B. Parental depression: animal models of an adverse life event. **American Journal of Psychiatry**, v. 159, n. 8, p. 1265-1283, 2002.

NUMAN, M. Neural basis of maternal behavior in the rat. **Psychoneuroendocrinology**, v. 13, n. 1-2, p. 47-62, 1988.

NUNES, A. J.; SALES, M. C. Violence against children in Brazilian scenery. **Ciência e Saúde Coletiva**, v. 21, n. 3, p. 871-880, 2016.

NUNEZ, J. Morris water maze experiment. **JoVE (Journal of Visualized Experiments)**, n. 19, p. 897, 2008.

O'DONNELL, C.; SEJNOWSKI, T. J. Selective memory generalization by spatial patterning of protein synthesis. **Neuroscience**, v. 82, n. 2, p. 398-412, 2014.

OLAZÁBAL, D. E. *et al.* Flexibility and adaptation of the neural substrate that supports maternal behavior in mammals. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 37, n. 8, p. 1875-1892, 2013.

OMMATI, M. M. *et al.* Pre-postnatal taurine supplementation improves neurodevelopment and brain function in mice offspring: A persistent developmental



study from puberty to maturity. **Life Sciences**, v.336, p.122-284, 2024.

ORELAND, S.; NYLANDER, I.; PICKERING, C. Prolonged maternal separation decreases granule cell number in the dentate gyrus of 3-week-old male rats. **International Journal of Developmental Neuroscience**, v. 28, n. 2, p. 139-144, 2010.

ORSO, R. *et al.* Maternal separation combined with limited bedding increases anxiety-like behavior and alters hypothalamic-pituitary-adrenal axis function of male BALB/cJ mice. **Frontiers in Behavioral Neuroscience**, v. 14, p. 600766, 2020.

PATEL, M. S.; SRINIVASAN, M. Metabolic programming due to alterations in nutrition in the immediate postnatal period. **The Journal of Nutrition**, v. 140, n. 3, p. 658-661, 2010.

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

PAVLOV, I. P. *Conditioned reflexes: An Investigation of the Physiological Activity of the Cerebral Cortex.* **Oxford Univ. Press**, London, 1927.

PINHEIRO, R. M. C. *et al.* Long-lasting recognition memory impairment and alterations in brain levels of cytokines and BDNF induced by maternal deprivation: effects of valproic acid and topiramate. **Journal of Neural Transmission**, v. 122, n. 5, p. 709-719, 2015.

PLOTSKY, P. M. *et al.* Long-term consequences of neonatal rearing on central corticotropin-releasing factor systems in adult male rat offspring. **Neuropsychopharmacology**, v. 30, n. 12, p. 2192-2204, 2005.

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.

POWELL, J. D.; POLLIZZI, K. Fueling memories. **Immunity**, v. 36, n. 1, p. 3-5, 2012.

PRYCE, C. R. *et al.* Comparison of the effects of early handling and early deprivation on conditioned stimulus, context, and spatial learning and memory in adult rats. **Behavioral Neuroscience**, v. 117, n. 5, p. 883, 2003.

PRYCE, C. R.; FELDON, J. Long-term neurobehavioural impact of the postnatal environment in rats: manipulations, effects and mediating mechanisms. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 27, n. 1-2, p. 57-71, 2003.

RAONY, í.; GERALDO, A.; PANDOLFO, Pablo. A single episode of stress during adolescence impairs short-term memory and increases risk behaviour in an animal model of attention-deficit/hyperactivity disorder. **Behavioural Processes**, v. 187, p. 104-395, 2021.

RATES, S. M. *et al.* Violence against children: an analysis of mandatory reporting of violence, Brazil 2011. **Ciências e Saúde Coletiva**, v. 20, n. 3, p. 655- 665, 2015.

REGER, M. L.; HOVDA, D. A.; GIZA, C. C. Ontogeny of rat recognition memory measured by the novel object recognition task. **Developmental Psychobiology: The Journal of the International Society for Developmental Psychobiology**, v. 51, n. 8, p. 672-678, 2009.

REINER, O. *et al.* The evolving doublecortin (DCX) superfamily. **BMC Genomics**, v. 7, n. 1, p. 1-16, 2006.

RESHETNIKOV, V. V. *et al.* Stress early in life leads to cognitive impairments, reduced numbers of CA3 neurons and altered maternal behavior in adult female mice. **Genes, Brain and Behavior**, v. 19, n. 3, p.12-541, 2020.

RICE, C. *et al.* "A novel Mouse model for acute and long-lasting consequences of early life stress." **Endocrinology**, v. 149, n. 10, p. 4892-4900, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1210/en.2008-0633>. Acesso em: 20 out. 2023.

ROBINSON, D. L.; ZITZMAN, D. L.; WILLIAMS, S. K. Mesolimbic dopamine transients in motivated behaviors: focus on maternal behavior. **Frontiers in Psychiatry**, v. 2, p. 23, 2011.

ROTH, T. L. *et al.* Lasting epigenetic influence of early-life adversity on the BDNF gene. **Biological Psychiatry**, v. 65, n. 9, p. 760-769, 2009.

SÁ, J.C. de. **Déficits de memória na prole decorrentes do transtorno do estresse pós-traumático perinatal e possíveis implicações neurogênicas**. 2021. 110 f. Dissertação (Mestrado em Geografia) - Universidade Federal de Alfenas, Alfenas-MG, 2021.

SANDI, Carmen. Stress and cognition. **Wiley Interdisciplinary Reviews: Cognitive Science**, v. 4, n. 3, p. 245-261, 2013.

SAPOLSKY, R. M.; ROMERO, L. M.; MUNCK, A. U. How do glucocorticoids influence stress responses? Integrating permissive, suppressive, stimulatory, and preparative actions. **Endocrine Reviews**, v. 21, n. 1, p. 55-89, 2000.

SCHMIDT, M. V.; STERLEMANN, V.; MÜLLER, M. B. Chronic stress and individual vulnerability. **Ann N Y Acad Sci**. v.1148, p.174-83, 2008.

SCHMIDT, S. D. *et al.* PACAP modulates the consolidation and extinction of the contextual fear conditioning through NMDA receptors. **Neurobiology of Learning and Memory**, v. 118, p. 120-124, 2015.

SCHULKIN, J. *et al.* **The neuroendocrine regulation of behavior**. Cambridge University Press, 1999, v. 1, p.140-172.

SELYE, H. **Stress-a tensão da vida**. Rio de Janeiro, Ibrasa, 1959.

- SMITH, J. T.; SPENCER, S. J. Prewearing over-and underfeeding alters onset of puberty in the rat without affecting kisspeptin. **Biology of Reproduction**, v. 86, n. 5, p. 145, 2012.
- SMITH, P. F.; DARLINGTON, C. L.; ZHENG, Y. Move it or lose it—is stimulation of the vestibular system necessary for normal spatial memory? **Hippocampus**, v. 20, n. 1, p. 36-43, 2010.
- SOUSA, N. The dynamics of the stress neuromatrix. **Molecular Psychiatry**, v. 21, n. 3, p. 302– 312, 2016.
- SQUIRE, L. R. Memory and the hippocampus: a synthesis from findings with rats, monkeys, and humans. **Psychological Review**, v. 99, n. 2, p. 195, 1992.
- STERN, J. M. Somatosensation and maternal care in Norway rats. In: Advances in the study of behavior. **Academic Press**, p. 243-294,1996.
- STRUPP, B. J.; LEVITSKY, D. A. Enduring cognitive effects of early malnutrition: a theoretical reappraisal. **The Journal of Nutrition**, v. 125, n. 8, p. 2221S-2232S, 1995.
- TAN S, Y.; YIP, A.; HANS, S. Founder of the stress theory. **Singapore Med J**, v. 59, n. 4, p.170-171, 2018.
- TEICHER, M. H. *et al.* Functional deficits in basal ganglia of children with attention-deficit/hyperactivity disorder shown with functional magnetic resonance imaging relaxometry. **Nature Medicine**, v. 6, n. 4, p. 470-473, 2000.
- TEICHER, M. H.; SAMSON, J. A. Annual research review: enduring neurobiological effects of childhood abuse and neglect. **Journal of Child Psychology and Psychiatry**, v. 57, n. 3, p. 241-266, 2016.
- TEODOROV, E.; FELÍCIO, L. F.; BERNARDI, M. M. Animal models as ethical tools in biomedical research. São Paulo: **CLR Balieiro Editores**, v. I, p. 149-162. 2010.
- TOMAZ, C. Amnésia. In: GRAEFF, F. B (ed.). **Neurobiologia das doenças mentais**. São Paulo: Lemos editora,1993. v. 1, p. 175-184.
- 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://link.springer.com/article/10.1007/s12038-016-9613-1>). Acesso em: 29 set. 2023.
- TSIGOS, C.; CHROUSOS, G. P. Hypothalamic–pituitary–adrenal axis, neuroendocrine factors and stress. **Journal of Psychosomatic Research**, v. 53, n. 4, p. 865-871, 2002.
- VALLE, F. P. Effects of strain, sex, and illumination on open-field behavior of rats. **The American Journal of Psychology**, v. 1 p. 103-111, 1970.

VAN DEN BERGH, B. R. *et al.* Prenatal developmental origins of behavior and mental health: The influence of maternal stress in pregnancy. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, n.117, p. 26-64, 2020.

VAN DEN BERGH, B. R. *et al.* Prenatal stress and the developing brain: Risks for neurodevelopmental disorders. **Development and Psychopathology**, v. 30, n. 3, p. 743-762, 2018.

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, Aug. 2019.

VILELA, F. C. *et al.* Experiencing early life maternal separation increases pain sensitivity in adult offspring. **International Journal of Developmental Neuroscience**, v. 62, p. 8-14, 2017.

WALSH, R. N.; CUMMINS, R.A. The open-field test: a critical review. **Psychological Bulletin**, v. 83, n. 3, p. 482, 1976.

WANG, C. S.; KAVALALI, E. T.; MONTEGGIA, L. M. BDNF signaling in context: From synaptic regulation to psychiatric disorders. **Cell** v. 185, p. 62-72, 2021.

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 Neuroscience**, Jinan, v. 19, n. 1, p. 61- 82, Oct. 2018.

WILLNER, P. The validity of animal models of depression. **Psychopharmacology**, v. 83, n. 1, p. 1-16, 1984.

YAN, C. G. *et al.* Aberrant development of intrinsic brain activity in a rat model of caregiver maltreatment of offspring. **Translational Psychiatry**, v. 7, n. 1, p. e1005-1005, 2017.

YAO, Y. *et al.* Ancestral exposure to stress epigenetically programs preterm birth risk and adverse maternal and newborn outcomes. **BMC medicine**, v. 12, p. 1-12, 2014.

YAU, J. L. W. *et al.* Chronic treatment with the antidepressant amitriptyline prevents impairments in water maze learning in aging rats. **Journal of Neuroscience**, v. 22, n. 4, p. 1436-1442, 2002.

**ANEXOS**  
**Anexo A: Folha de aprovação**

RENATA RAIMUNDA DE JESUS

IMPACTO DA LIMITAÇÃO NA CONSTRUÇÃO DO NINHO SOBRE O  
APRENDIZADO E MEMÓRIA DA PROLE PRÉ-PÚBERE

O(A) Presidente da banca examinadora abaixo assina a aprovação da Dissertação apresentada como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Ciências pela Universidade Federal de Alfenas. Área de concentração: Biociências Aplicada à Saúde

Aprovada em: 19 de fevereiro de 2024.

Profa. Dra. Fabiana Cardoso Vilela Giusti

Presidente da Banca Examinadora Instituição:

Universidade federal de Alfenas UNIFAL-MG

Prof. Dr. Bruno Zavan

Instituição: Universidade federal de Alfenas

UNIFAL-MG

Profa. Dra. Patrícia Molz

Instituição: Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre

UFCSPA



Documento assinado eletronicamente por **Fabiana Cardoso Vilela Giusti, Usuário Externo**, em 20/02/2024, às 08:30, 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](https://sei.unifal-mg.edu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0), informando o código verificador **1184644** e o código CRC **32BF3CE7**.