

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALFENAS

DÉBORA TAVARES DE CASTILHO CASSIMIRO

**A LIMITAÇÃO NA CONSTRUÇÃO DO NINHO REDUZIU O COMPORTAMENTO
MATERNO E INDUZIU PARÂMETROS TIPO-DEPRESSIVOS MATERNOS
ACOMPANHADOS POR ASTROGLIOSE NO CÓRTEX PRÉ-FRONTAL**

ALFENAS/MG

2023

DÉBORA TAVARES DE CASTILHO CASSIMIRO

**A LIMITAÇÃO NA CONSTRUÇÃO DO NINHO REDUZIU O COMPORTAMENTO
MATERNO E INDUZIU PARÂMETROS TIPO-DEPRESSIVOS MATERNOS
ACOMPANHADOS POR ASTROGLOSE NO CÓRTEX PRÉ-FRONTAL**

Dissertação de mestrado apresentado como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Biociências Aplicadas à Saúde da Universidade Federal de Alfenas.

Orientadora: Prof. Dr. Fabiana Cardoso Vilela Giusti.

**ALFENAS/MG
2023**

Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal de Alfenas
Biblioteca Central

Cassimiro, Débora Tavares de Castilho.

A limitação na construção do ninho reduziu o comportamento materno e induziu parâmetros tipo-depressivos maternos acompanhados por astrogliose no córtex pré-frontal / Débora Tavares de Castilho Cassimiro. - Alfenas, MG, 2023.

71 f. : il. -

Orientador(a): Fabiana Cardoso Vilela Giusti.

Dissertação (Mestrado em Biociências Aplicadas à Saúde) - Universidade Federal de Alfenas, Alfenas, MG, 2023.

Bibliografia.

1. Limitação na construção do ninho. 2. Comportamento materno. 3. Depressão pós parto. 4. Astrogliose. 5. Córtex pré-frontal. I. Giusti, Fabiana Cardoso Vilela, orient. II. Título.

Débora Tavares de Castilho Cassimiro

A LIMITAÇÃO NA CONSTRUÇÃO DO NINHO REDUZIU O COMPORTAMENTO MATERNO E INDUZIU PARÂMETROS TIPO-DEPRESSIVOS MATERNOS ACOMPANHADOS POR ASTROGLOSE NO CÓRTEX PRÉ-FRONTAL

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

Aprovada em: 15 de março de 2023

Profa. Dra. Fabiana Cardoso Vilela Giusti- (UNIFAL-MG)

Instituição: Universidade Federal de Alfenas UNIFAL-MG

Profa. Dra. Heloísa Helena Vilela (UFTM)

Instituição: Universidade Federal do Triângulo Mineiro UFTM

Prof. Dr. Fernando Vitor Vieira (UNIFAL-MG)

Instituição: Universidade Federal de Alfenas UNIFAL - MG



Documento assinado eletronicamente por Heloísa Helena Vilela Costa, Usuário Externo, em 15/03/2023, às 16:37, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por Fabiana Cardoso Vilela Giusti, Usuário Externo, em 15/03/2023, às 16:37, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por Fernando Vitor Vieira, Usuário Externo, em 17/03/2023, às 08:15, 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 0942636 e o código CRC 8EECCAF.

Dedico a finalização desse trabalho à Deus, ao meu esposo Gustavo, aos meus filhos Samuel, Lucas e Theo e à toda minha família.

AGRADECIMENTOS

Com imensa alegria e satisfação agradeço a todos que, de alguma forma, contribuíram para o desenvolvimento deste trabalho.

Primeiramente, agradeço a Deus pelo dom da vida, por ter me sustentado e fortalecido em todo tempo deste processo vivido nestes dois anos, agradeço pela tua fidelidade, pelo teu amparo, pelo encorajamento nos momentos mais difíceis, por ter me guardado e pela oportunidade de toda aprendizagem nesta fase.

À minha orientadora, a professora Dra. Fabiana Cardoso Vilela Giusti, pela amizade, paciência, dedicação, oportunidade, ensinamentos, por ser um exemplo de profissional e pelo ser humano incrível que é. Com certeza a jornada até aqui foi mais leve por que foi você que esteve presente, sendo compreensiva nos momentos que as vezes parecia impossível. Com certeza sou abençoada por Deus permitir ter você ao meu lado nesta jornada.

Ao meu esposo Gustavo, digo: você faz parte deste sonho, obrigado pelo apoio, pelas palavras de encorajamento nos momentos difíceis, por abdicar de seu tempo para que eu pudesse me dedicar a este trabalho, pelo amor, cuidado, carinho e parceria em todo tempo, amo você! Ao meu filho Samuel, pela compreensão nos tempos em que não estive presente para me dedicar a este trabalho e ainda assim me recebia com toda alegria e carinho perguntando “como estavam os ratinhos?”, obrigado por ser esse menino alegre, doce e amoroso, com certeza você é o maior tesouro que Deus me deu, amo te amar! Aos meus filhos, os gêmeos Lucas e Theo, que hoje ainda em meu ventre, já trazem muita alegria a toda nossa família, está sendo uma experiência impar poder estar gerando vocês juntamente deste sonho, já amo vocês com todas as forças e agradeço a Deus por vocês, minhas bênçãos em porção dobrada!

Aos meus pais Lucimara e Davi, pelo apoio, pelo cuidado comigo e com o Samuel, pelo amor incondicional e por acreditarem em mim em todo tempo.

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

À Cíntia Novais, agradeço por todo o carinho e amizade, por todos ensinamentos e companheirismo em todos os momentos desta jornada.

A todos os meus amigos, os de perto e os de longe e à toda minha família, que sempre me incentivaram, apoiaram e demonstraram todo seu carinho e amor.

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

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

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

RESUMO

O estresse é uma condição de desordem fisiológica e/ou psicológica que altera a qualidade de vida, gerando respostas imediatas e/ou tardias. No período pós-natal, eventos estressantes contribuem com o aparecimento de vulnerabilidades e psicopatologias. Entre os transtornos psiquiátricos do pós-parto, a depressão pós-parto é um transtorno psiquiátrico grave com consequências devastadoras não só para a mãe como também para a prole. A Limitação na Construção do Ninho (LCN) é um modelo de estresse animal que mimetiza os comportamentos consequentes do estresse perinatal, caracterizado principalmente na redução do cuidado maternal. Sendo assim o objetivo deste trabalho foi estudar os efeitos da LCN sobre o desenvolvimento de parâmetros tipo-depressivos maternos e sua influência sobre o comportamento materno e desenvolvimento inicial da prole. Para isto entre os Dias Pós-Natal (PND) 2 a 9 as mães do grupo LCN foram mantidas em caixas com a maravalha reduzida (1000 ml) e o grupo de mães Controle foram mantidas em caixas com a maravalha em abundância (4500 ml). As ratas passaram por avaliação do comportamento materno e ganho de peso (PND 2 a 9), atividade locomotora no campo aberto (PND 5) e teste do nado forçado (PND 8 e 9). Posteriormente as ratas foram eutanasiadas para retiradas das estruturas encefálicas hipocampo e córtex para quantificação da expressão da proteína GFAP por *Western Blotting*. Os filhotes foram submetidos à análise de desenvolvimento físico e reflexológico e acompanhamento do ganho de peso (PND 2 a 9). Observou-se que a LCN diminuiu o parâmetro maternal de lambar o filhote, aumentou a latência para a rata pegar o primeiro filhote e leva-lo ao ninho, aumentou o tempo de construção do ninho e aumentou o tempo de *self grooming* não maternal comparadas ao grupo Controle. No teste de nado forçado as mães LCN apresentaram maior frequência de imobilidade e maior tempo de imobilidade comparadas ao Controle. Não houve alteração na atividade locomotora exploratória no teste de campo aberto. Observou-se ainda aumento da expressão da proteína GFAP no córtex pré-frontal das mães LCN quando comparadas às do grupo controle. Houve uma redução no ganho de peso nos filhotes machos LCN (PND 7 a 9) quando comparados aos do grupo Controle. Verificou-se que a prole do grupo LCN apresentou atraso para apresentar o reflexo geotaxia negativa nos filhotes machos e atraso no dia de apresentar o endireitamento da postura nos filhotes fêmeas quando comparados aos do grupo controle. Conclui-se, portanto que a limitação na construção do ninho (LCN) foi capaz de induzir efeitos sobre o desenvolvimento de parâmetros tipo-depressivos maternos e na redução nos cuidados maternos, acompanhados por astrogliose no córtex pré-frontal, assim como impactos no desenvolvimento inicial reflexológico da prole.

Palavras chaves: Limitação na construção do ninho; Comportamento materno;

Depressão pós parto; Astrogliose no córtex pré-frontal.

ABSTRACT

Stress is a condition of physiological and/or psychological disorder that alters the quality of life, generating immediate and/or delayed responses. In the postnatal period, stressful events contribute to the appearance of vulnerabilities and psychopathologies. Among postpartum psychiatric disorders, postpartum depression is a serious psychiatric disorder with devastating consequences not only for the mother but also for the offspring. Nest Building Limitation (LCN) is an animal stress model that mimics the behaviors resulting from perinatal stress, mainly characterized by reduced maternal care. Therefore, the objective of this work was to study the effects of NCL on the development of maternal depressive-like parameters and their influence on maternal behavior and the initial development of the offspring. For this, between Postpartum Days (PND) 2 to 9, the mothers of the LCN group were kept in boxes with reduced shavings (1000 ml) and the Control group of mothers were kept in boxes with an abundance of shavings (4500 ml). The rats underwent evaluation of maternal behavior and weight gain (PND 2 to 9), locomotor activity in the open field (PND 5) and forced swimming test (PND 8 and 9). Subsequently, the rats were decapitated to remove the brain structures, hippocampus and cortex for quantification of GFAP protein expression by Western Blotting. The puppies were submitted to analysis of physical and reflexological development and monitoring of weight gain (PND 2 to 9). It was observed that LCN decreased the maternal parameter of licking the pup, increased the latency for the rat to catch the first pup and take it to the nest, increased the nest building time and increased the time of non-maternal self grooming compared to the group control. In the forced swimming test, the LCN mothers showed a higher frequency of immobility and a longer time of immobility compared to the Control. There was no change in exploratory locomotor activity in the open field test. There was also an increase in GFAP protein expression in the prefrontal cortex of LCN mothers when compared to the control group. There was a reduction in weight gain in male LCN pups (PND 7 to 9) when compared to the Control group. It was verified that the offspring of the LCN group presented a delay in presenting the negative geotaxis reflex in the male offspring and a delay in the day of presenting the posture straightening in the female offspring when compared to the control group. It is concluded, therefore, that the limitation in nest building (LCN) was able to induce effects on the development of maternal depressive-like parameters and in the reduction in maternal care, accompanied by astrogliosis in the prefrontal cortex, as well as impacts on the development initial reflexology of the offspring.

Key words: Limitation in nest building; Maternal behavior; Baby blues; Astrogliosis
in the prefrontal cortex.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Desenho de um subconjunto de comportamentos maternos incluindo recolher filhotes, construir ninho, amamentar, lambar e agressão maternal (contra um intruso).....	18
Figura 2 - Representação esquemática do Delineamento experimental	30
Figura 3 - Acompanhamento do ganho de peso das progenitoras	36
Figura 4 - Parâmetros avaliados no comportamento materno no PND 5	38
Figura 5 - Parâmetros avaliados no comportamento materno no PND 7	39
Figura 6 - Parâmetros avaliados no teste de Campo Aberto das progenitoras .	40
Figura 7 - Parâmetros avaliados no teste de Nado Forçado	41
Figura 8 - Quantificação de GFAP no hipocampo e córtex das progenitoras...	42
Figura 9 - Avaliação do ganho de peso corporal da prole	43
Figura 10 - Parâmetros avaliados no teste de Desenvolvimento Inicial e reflexológico da prole.....	44

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACTH	Adrenocorticotrófico
CEUA	Comissão de Ética no Uso de Animais
CM	Comportamento Materno
CO	Controle
CRH	Corticotrofina
DEXA	Dexametasona
DPP	Depressão Pós Parto
GD	Dia Gestacional
GFAP	Proteína Ácida Fibrilar Glial
LCN	Limitação na Construção do Ninho
PND	Dia Pós Natal
TEPT	Transtorno do Estresse Pós Traumático
UNIFAL-MG	Universidade Federal de Alfenas

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	15
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	17
2.1	ESTRESSE.....	17
2.2	COMPORTAMENTO MATERNO.....	19
2.3	ESTRESSE PÓS-NATAL E ALTERAÇÕES NA PROLE.....	22
2.4	LIMITAÇÃO NA CONSTRUÇÃO DO NINHO (LCN) E POSSÍVEIS CONSEQUÊNCIAS NA PROLE.....	24
2.5	DEPRESSÃO PÓS PARTO.....	26
2.6	PARTICIPAÇÃO DO HIPOCAMPO E CORTÉX PRÉ FRONTAL NA ETIOLOGIA DA DEPRESSÃO E ATIVAÇÃO DAS CÉLULAS DA GLIA.....	29
3	JUSTIFICATIVA.....	31
4	OBJETIVOS.....	32
4.1	Objetivo geral.....	32
4.2	Objetivos específicos.....	32
5	MATERIAL E MÉTODOS.....	33
5.1	ANIMAIS.....	33
5.2	GRUPOS EXPERIMENTAIS.....	33
5.3	DELINEAMENTO EXPERIMENTAL.....	34
5.4	ACASALAMENTO.....	36
5.5	LIMITAÇÃO DA CONSTRUÇÃO DO NINHO (LCN).....	36
5.6	ACOMPANHAMENTO DO GANHO DE PESO (MÃES E FILHOTES)	36
5.7	AVALIAÇÃO DO COMPORTAMENTO MATERNO.....	36
5.8	CAMPO ABERTO.....	37
5.9	TESTE DO NADO FORÇADO (TNF).....	37
5.10	DESENVOLVIMENTO FÍSICO E REFLEXOLÓGICO.....	38
5.11	EXPRESSÃO DA PROTEÍNA GFAP NO CÓRTEX E HIPOCAMPO PELA TÉCNICA DE <i>WESTERN BLOTTING</i>	38
6	ANÁLISES ESTATÍSTICAS.....	40

7	RESULTADOS.....	41
8	DISCUSSÃO.....	49
9	CONCLUSÃO.....	60
	REFERÊNCIAS.....	61
	ANEXOS.....	71

1 INTRODUÇÃO

O cuidado materno envolve um conjunto de fatores neurais, moleculares e endócrinos, que vem se mantendo ao longo da evolução, garantindo assim as condições adequadas para a sobrevivência e perpetuação da espécie. Sob o ponto de vista da prole, o cuidado materno abrange também o ensinamento de aspectos ligados ao ambiente que permite ao filhote garantir sua sobrevivência (Teodorov, *et al.*, 2016). Em mamíferos, os filhotes são totalmente dependentes dos cuidados maternos até a fase que possam buscar alimento, manter a temperatura corporal e abrigo, bem como dependem do aprendizado dos ensinamentos básicos para sobrevivência oriundos da mãe durante a amamentação (Kinsley, *et al.*, 2008).

Portanto a experiência reprodutiva (gravidez, parto e lactação) induz profundas mudanças fisiológicas, neuroendócrinas e comportamentais em todas as espécies de mamíferos. Essas mudanças preparam a mãe para garantir a sobrevivência de sua prole e de si mesma diante das novas exigências ambientais da maternidade. Também promove mudanças nos circuitos nervosos e no comportamento que não estão diretamente relacionados ao cuidado da prole (mas, indiretamente, contribuem para isso) e envolvem respostas cognitivas, afetivas e de estresse (Barba-Müller *et al.*, 2019; Bridges, 2016; Hillerer *et al.*, 2014, 2012).

O pós-parto é um período de vulnerabilidade para o desenvolvimento de transtornos do humor, principalmente quando estão presentes fatores de risco que aumentam a suscetibilidade. Mesmo que a etiologia dos transtornos afetivos pós-parto não é totalmente conhecida, fatores de risco genéticos, psicossociais, ambientais e biológicos têm sido propostos (Payne e Maguire, 2019). Entre os transtornos psiquiátricos do pós-parto, a depressão pós-parto (DPP) é um transtorno psiquiátrico grave com consequências devastadoras não só para o bem-estar da mãe, mas também para a prole (Nguyen *et al.*, 2019). A DPP é uma doença mentalmente incapacitante que afeta uma em cada sete mulheres pelo mundo (Friedman; Resnick, 2009; Xia, 2016). Estima-se que de 10 a 15% das mulheres em países em desenvolvimento sofrem dessa doença e em países em desenvolvimento cerca de 60% das mulheres (Fleming; Lonstein; Pawluski, 2017).

Diante do exposto, é importante ser considerado, que diferentes modelos animais são utilizados para a indução de estresse perinatal, pois, mimetizam e demonstram os comportamentos consequentes de situações estressoras. Assim, o

modelo de estresse Limitação na Construção do Ninho (LCN) que será utilizado neste estudo, é considerado um modelo mais “natural”, pois consiste em limitar o material de construção do ninho. Essa interferência sobre o ambiente produz consequências no preparo típico da fêmea com a chegada e a criação de seus filhotes (Apfelbach, *et al.*, 2005; Yan *et al.*, 2017).

Com a redução da maravalha, a capacidade das mães em construir o ninho também é reduzida, além da necessidade de construções mais frequentes de ninhos, manuseio brusco, pisoteamento dos filhotes, e menor tempo de cuidado. Esse paradigma é um modelo de estresse animal útil para a compreensão do desenvolvimento da prole sob a influência do cuidado frente aos maus tratos materno. Em humanos a negligência materna é a forma mais frequente de maus-tratos contra crianças e adolescentes, sendo que dentre os diferentes tipos de violência contra crianças, a negligência é responsável por 50% dos casos (Nunes, 2016; Rates *et al.*, 2015; Yan *et al.*, 2017).

Neste contexto, considerando os possíveis riscos que o estresse pós-natal pode levar à saúde psicossocial de mães e as possíveis consequências no desenvolvimento inicial da prole, o objetivo deste trabalho foi estudar os efeitos da limitação na construção do ninho (LCN) sobre o desenvolvimento de parâmetros tipo-depressivos maternos e sua influência sobre o comportamento materno e desenvolvimento inicial da prole.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 ESTRESSE

O termo estresse, foi utilizado pela primeira vez, pelo cientista canadense Hans Selye (1956), e atualmente, apesar de ser muito utilizado socialmente, não possui uma definição absoluta (Mcewen, 2000). Os seus estudos experimentais foram pioneiros na relação do estresse e a capacidade do organismo em emergir respostas e a adaptar-se aos agentes estressores. Selye, com o objeto de facilitar a compreensão e a definição de estresse, o descreveu como uma “*resposta não específica do corpo a qualquer desafio*” (Tan; Yip, 2018).

Entende-se por estressores, qualquer demanda ou desafio que podem ser reais ou percebidos, e apresentam dinâmicas temporais distintas, podendo ter a sua forma leve, inofensiva ou resultar em situações maiores e com efeitos imediatos, ou de curto a longo prazo na qualidade de vida do sujeito (Sousa, 2016). Essa emergência de respostas e adaptação aos estressores, foi denominada por Selye como a “síndrome de adaptação geral” e desde então, as pesquisas passaram a evoluir significativamente, expandindo o conhecimento sobre as alterações de mecanismos neuroendócrinos autonômicos que se relacionam ao estresse (Mcewen, 2000).

Embora o estresse seja considerado prejudicial e negativo, é importante ressaltar que ele tem participação crucial para a sobrevivência por meio da adaptação enquanto espécie e a sua evolução. Animais e outros organismos, como por exemplo, as plantas, respondem diretamente ao estresse. Deste modo, embora o estresse tenha um importante papel, quando não moderado e controlado, pode causar diferentes danos ao longo do desenvolvimento (Souza, 2016).

Segundo Selye (1956), respostas diferentes podem ser providas de determinados tipos de estresse, se referindo a “eustresse”, que consiste em respostas que são consideradas positivas e que preparam um indivíduo para o enfrentamento de novos desafios, e ao conceito de “distresse”, que é considerado como o estresse negativo, excessivo e com consequências de debilidade física, comportamental e mental.

Portanto, o estresse pode ser entendido como uma condição de desordem fisiológica e/ou psicológica que altera a qualidade de vida, gerando respostas imediatas e/ou tardias (Mcewen, 2000). A condição do estresse pode surgir de

maneira aguda e crônica, sendo que a primeira acontece em curtos períodos e com alta intensidade, além de respostas imediatas. Já a condição de estresse crônico ocorre por um período constante, prolongado, com menor intensidade e com resposta mais tardia (Mcewen, 2000).

O estresse vem sendo frequentemente relacionado como respostas a eventos que são considerados como o acima citado, estressores buscando uma adaptação do organismo, desenvolvendo uma perturbação na homeostase, resultando em respostas importantes com o objetivo de adaptação, e do retorno da estabilidade homeostática ideal (Levine, 2005). A homeostase se refere à manutenção de uma zona estreita de parâmetros fisiológicos vitais e necessários para a sobrevivência, como a temperatura corporal, sistemas como pH, e tensão de oxigênio, componentes internos e essenciais para a vida (Bruce, 2000). Quando essa zona estreita de equilíbrio biológico e os limites são alterados, o organismo recorre ao um processo de alostase, objetivando recuperar novamente a sua estabilidade e avaliando a sobrevivência. Este processo de alostase refere-se ao ajuste orgânico sobre os eventos previsíveis e imprevisíveis em busca de equilíbrio (Mcewen; Wingfield, 2003).

Nesse contexto, a alostase é um termo mais bem empregado para mecanismos de confrontação fisiológica do que homeostase, que é importante ser mantida para os parâmetros que são essencialmente reservados para a sobrevivência. Desse modo, a alostase é o mecanismo que mantém o organismo vivo e funcionando, ou seja, mantendo a homeostase ou 'mantendo a estabilidade por meio da mudança' e promovendo adaptação e enfrentamento, pelo menos em curto prazo (Bruce, 2000).

Portanto, objetivando a sobrevivência, o organismo desenvolve a capacidade de enfrentamento em lidar com mudanças e desafios ambientais com resiliência (Karatsoreos; Mcewen, 2013). Quando não alcançada, ele pode afetar cada pessoa de maneira diferente e ser considerado como um risco para o surgimento de diversas doenças (Schmidt; Sterlemann; Müller, 2008).

As respostas derivadas do estresse envolvem três elementos principais que representam uma cascata neuroendócrina: O hipotálamo, a hipófise (ou pituitária) e a glândula adrenal. Esta conexão de estruturas representa o principal sistema fisiológico de resposta do estresse, sendo conhecido como eixo HPA (Mcewen, 2000).

Inicialmente, a resposta começa no hipotálamo, produzindo a liberação de corticotrofina (CRH) e liberando-a na circulação porta-hipofisária. O CRH, estimula o

hormônio adrenocorticotrófico (ACTH), sendo liberado na circulação sanguínea sistêmica, agindo no córtex da glândula adrenal através de suas células com o objetivo de estimular a síntese do hormônio glicocorticoide, o cortisol em humanos, e em outras espécies, como roedores, a corticosterona. Os glicocorticoides por sua vez, são responsáveis por promoverem a quebra de proteínas e gorduras, facilitando e aumentando a disponibilidade de energia, principalmente nos músculos, na resposta de luta ou fuga, com a metabolização da glicose no fígado (Munck; Guyre *et al.* 1984).

Assim, quando o estresse gera respostas exacerbadas, ultrapassando a capacidade de enfrentamento natural, alterações neuroendócrinas são induzidas, mesmo que precocemente, e estão diretamente associadas a problemas comportamentais e a doenças na idade adulta, como memória e aprendizado prejudicado, além de sintomas semelhantes a depressão e ansiedade, resultando então, em alterações crônicas e a processos fisiopatológicos significativos (Mcewen, 2000; Souza, 2016).

2.2 COMPORTAMENTO MATERNO

O conjunto de cuidados que a mãe de mamíferos oferece aos filhotes é denominado comportamento materno (CM). O cuidado maternal é um comportamento complexo, espontâneo, instintivo e com características determinadas por modificações fisiológicas que ocorrem pouco antes ou logo após o parto (Mattson *et al.*, 2001; Numan, 1994). Durante este importante período, a fêmea tem por objetivo garantir sua própria sobrevivência e de seus filhotes.

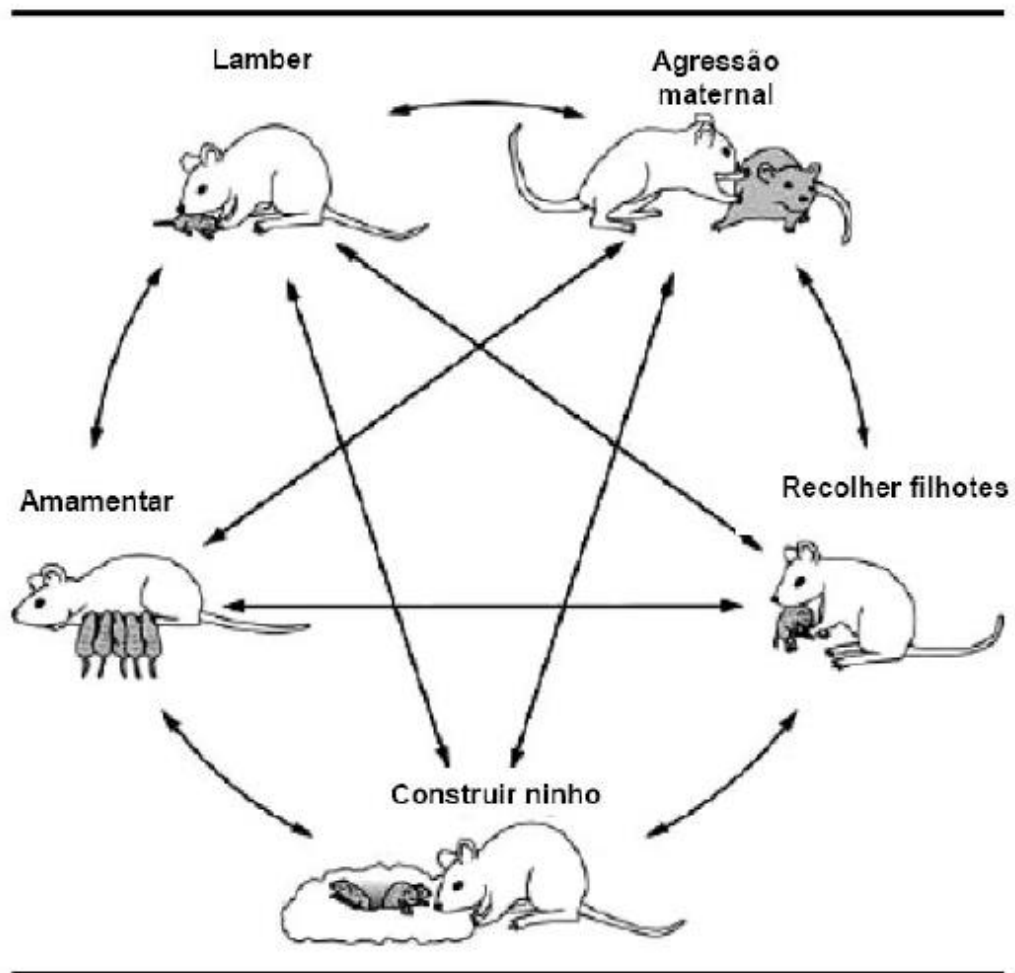
O comportamento materno em ratas consiste de vários elementos integrados que estão relacionados com a nutrição e o cuidado dos filhotes. Eles podem envolver diretamente os filhotes (amamentação, lambida, busca de filhotes) ou não (construção de ninhos, agressão maternal). Este padrão complexo aparece espontaneamente em mães primíparas. Perto da data do parto, a mãe inicia uma sequência de mudanças comportamentais que visam receber adequadamente os filhotes (Numan e Insel, 2003). Ela muda seus padrões de limpeza corporal, levando mais tempo na limpeza da região mamária e, alguns dias antes do parto, ela constrói um ninho com o substrato disponível (Numan, 1994).

O cuidado materno em ratos é de extrema importância para a sobrevivência,

para o desenvolvimento reprodutivo e para a função endócrina da prole (Popoola e Cameron, 2018). No que diz respeito a sobrevivência, sabe-se que os filhotes ainda são imaturos e necessitam dos cuidados da mãe para se manterem vivos. Na verdade, sua temperatura corporal ainda não pode ser regulada por mecanismos fisiológicos, desta forma, ela é regulada através da temperatura do meio em que vivem. Sendo assim, a construção do ninho (manter todos os filhotes juntos) e estar sobre eles é essencial para manutenção da temperatura corporal da ninhada, garantindo sua sobrevivência. O comportamento de lambar e cheirar, fazem parte do reconhecimento dos filhotes, além disso, essa ação é crucial para que os filhotes possam urinar e defecar; e falta de estimulação tátil, pode estar relacionada a uma menor sobrevivência dos filhotes (Patin *et al.*, 2002).

Em ratas, as ações maternas são observadas e registradas quando a rata apresenta comportamentos diretamente relacionados aos filhotes como construção do ninho, estimulação a micção através da lambida ano-genital, agrupamento dos filhotes no ninho e posicionamento sobre eles para prove-los de nutrição e calor, além do comportamento indireto agressivo (Mann, 2006) (Figura 1).

Figura 1 - Desenho de um subconjunto de comportamentos maternos incluindo recolher filhotes, construir ninho, amamentar, lambar e agressão maternal (contra um intruso) adaptado de GRAMMIE 2005.



Fonte: adaptado de GRAMMIE 2005.

A rata lactante geralmente fica no ninho sobre os filhotes em uma postura denominada de cifose fisiológica, na qual sua coluna fica arqueada, facilitando assim a amamentação. As lactantes passam um tempo significativo lambendo a cria para limpá-la, sendo que a limpeza da área ano-genital estimula a defecação e micção dos filhotes (Gubernick; Alberts, 1983) bem como a diferenciação sexual do SNC (sistema nervoso central) da prole masculina (Dohler, 1991).

Diversos fatores ambientais, psicológicos, biológicos e neurais interagem para promover e manter o CM. Assim como mudanças hormonais geram respostas fisiológicas e comportamentais compensatórias, mudanças ambientais também levam alterações hormonais (Schulkin, 1999).

A ansiolise maternal certamente é resultado de uma adaptação do SNC que é necessária para a sobrevivência da prole. A responsividade reduzida a ansiedade observada durante a lactação pode ser explicada, pelo menos em parte, por um aumento da secreção de ocitocina e prolactina já que ambos possuem propriedades ansiolíticas. Estudos anteriores demonstraram que altos níveis de ocitocina e prolactina diminuíram a responsividade emocional observada na lactação (Fleming, Walsh, 1994; Numam, 1994; Roseblatt, 1974).

O estabelecimento de uma interação normal entre a mãe e o filhote é crítico para o crescimento e o desenvolvimento comportamental na maioria das espécies de mamíferos (Moriceau; Sullivan 2005; Sullivan 2003). A realização de comportamentos recíprocos entre a mãe e o filhote aumenta a chance de o filhote sobreviver, e vindo a sobreviver, ele irá se reproduzir e criar, com sucesso, seus próprios filhos (Anand e Scalzo 2000; Fleming *et al.*, 1999; Insel e Young 2001).

Portanto interações na relação mãe-filhote são importantes para o crescimento e desenvolvimento adequados dos mamíferos. A interrupção de estímulos sensoriais providos pela mãe tem efeitos negativos no desenvolvimento da ninhada em muitas espécies (Pauk *et al.*, 2017).

2.3 ESTRESSE PÓS-NATAL E ALTERAÇÕES NA PROLE

É sabido então, que os agentes estressores influenciam diretamente ao longo de todo o desenvolvimento, e no 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; Gluckman *et al.*, 2005; Heim e Nemeroff, 2001; Meijer, 2006; Newport *et al.*, 2002).

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 (Kinsley; Amory-Meyer, 2011; Kinsley; Robinson; Zitzman; Numan, 1988; Teodorov; Felício; Bernardi, 2010; Williams, 2011).

Esse cuidado, oferece à prole que é exclusivamente dependente dessa relação, estímulos vitais para e 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; Pryce e Feldon, 2003).

Além da regulação da temperatura corpórea, as mães lactantes dos roedores, apresentam uma postura chamada de *crouching* ou cifose fisiológica, que consiste em sua coluna arqueada, oferecendo a amamentação, também com o objetivo de limpar a cria, as lambem, já que esse comportamento limpa a área anogenital e estimula a defecação e micção dos filhotes, assim como favorece a prole masculina a respeito da diferenciação sexual no cérebro (Döhler, 1991).

Variações nesses e em outros comportamentos maternos, resultantes de diversas condições, seja com a mãe ou em seu ambiente, são associadas à 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).

O estresse pós-natal não só afeta a prole, mas, também, o comportamento da mãe resultando em alterações na interação mãe-filhote. A análise do relacionamento entre mãe e filhotes durante as primeiras semanas de desenvolvimento pós-natal é constantemente empregada como preditor de diferenças na prole em períodos mais tardios da vida. Para tanto é necessária a análise de comportamentos maternos básicos, como a frequência da amamentação, de lambe os filhotes e do tempo junto a prole. (Numan M. 1988; Weaver Icg, *et al.*, 2004)

Orso R. *et al*, 2019, em sua revisão, descreveram o impacto da exposição em período precoce da vida na interação mãe-filhote. Relataram, então, que, em muitos casos, ocorria aumento no *lamber/grooming* dos filhotes, enquanto em outros modelos de estresse maternal não foram observadas alterações no parâmetro. Quanto ao comportamento arqueado de amamentar, o mais importante componente do cuidado maternal, este não estava presente na maior parte dos trabalhos, bem como a busca dos filhotes.

Dessa maneira, quando déficits são encontrados precocemente, induzidos pelo estresse no período pós-natal, podem contribuir para anormalidades comportamentais mais tardias na vida, além de serem considerados marcadores de transtornos do neurodesenvolvimento (Mesquita, *et al.*, 2007).

2.4 LIMITAÇÃO NA CONSTRUÇÃO DO NINHO (LCN) E POSSÍVEIS CONSEQUÊNCIAS NA 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; Yan *et al.*, 2017).

O modelo citado anteriormente e utilizado para influenciar e reduzir esse cuidado é a limitação da maravalha na gaiola, como descrito pelo protocolo de Yan *et al.* (2017). Com a redução da maravalha, a redução da capacidade das mães em construir o ninho pode ocorrer, além da necessidade de construções mais frequentes de ninhos, manuseio brusco e pisoteamento dos filhotes, e menor tempo de cuidado. Esse paradigma é um modelo de estresse animal útil para a compreensão do desenvolvimento da prole sob a influência do cuidado materno, caracterizado na redução do cuidado maternal (Yan *et al.*, 2017).

A imprevisibilidade e a carência de recursos para a construção do ninho são 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).

Ivy *et al.* (2008) reduziram as condições do ninho entre os dias 2-9 pós-natais. Esses autores verificaram redução no grooming dos filhotes, redução da presença da mãe no ninho ou em contato com sua prole, além de aumento nas mães dos níveis plasmáticos de corticosterona e do peso das adrenais, concomitantemente com aumento da liberação hipofisária do hormônio adrenocorticotrófico.

Rincón-Cortés e Sullivan (2016) reduziram as condições do ninho entre os dias pós-natais 8 –12 e verificaram que o comportamento social da prole ao desmame não foi modificado, porém entre os dias 20-22 e na adolescência (dias 42-48) houve redução na sociabilidade dos animais. Observaram redução na atividade da amígdala, no córtex medial pré-frontal e no núcleo accumbens, áreas importantes no comportamento emocional. Ainda, esses autores verificaram a presença de comportamento tipo- depressivo na idade adulta.

Moussaoui *et al* (2016) reduziram as condições do ninho entre os dias pós natais 2-10 da lactação e verificaram prejuízos no comportamento maternal e, na prole masculina, aumento na permeabilidade da barreira intestinal.

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.*, 2006).

Por fim, na literatura, ainda é limitado a utilização desse modelo de estresse animal, principalmente no que diz respeito aos efeitos da limitação na construção do ninho (LCN) sobre o desenvolvimento de parâmetros tipo-depressivos maternos e sua influência sobre o comportamento materno e desenvolvimento inicial da prole. Entretanto, reduzir a capacidade da mãe de construir o ninho e oferecer aos filhotes um ambiente saudável, leva ao repertório anormal e fragmentado dos cuidados

maternos adequados, e possivelmente, como resultado, o estresse crônico, fornece uma ferramenta útil para o estudo das consequências dessa experiência de estresse no início da vida (Ivy, *et al.*, 2008).

2.5 DEPRESSÃO PÓS PARTO

A experiência reprodutiva (gravidez, parto e lactação) induz profundas mudanças fisiológicas, neuroendócrinas e comportamentais em todas as espécies de mamíferos. Essas mudanças preparam a mulher para garantir a sobrevivência de seus filhos e de si mesma diante das novas exigências ambientais da maternidade. Também promove mudanças nos circuitos nervosos e no comportamento que não estão diretamente relacionados ao cuidado da prole (mas, indiretamente, contribuem para isso) e envolvem respostas cognitivas, afetivas e de estresse (Barba-Müller *et al.*, 2019; Bridges, 2016; Hillerer *et al.*, 2014, 2012).

Tradicionalmente, os transtornos mentais que podem acometer a mulher após o parto são divididos em: disforia pós-parto (blues), Depressão Pós Parto (DPP) e psicose puerperal. Entre os agravos citados, a DPP é comum e pode se apresentar associada a outras condições como ansiedade e transtorno do estresse pós-traumático (TEPT) (Brunner, *et al.*, 2011).

A depressão pós-parto é uma doença mentalmente incapacitante que afeta uma em cada sete mulheres pelo mundo (Friedman; Resnick, 2009; Xia, 2016). Estima-se que de 10 a 15% das mulheres em países em desenvolvimento sofrem dessa doença e em países em desenvolvimento cerca de 60% das mulheres (Pawluski; Lonstein; Fleming, 2017).

Apesar de a depressão pós-parto ser considerada a complicação mais comum do parto, devido ao impacto negativo na mãe e as alterações importantes provocados no desenvolvimento comportamental, emocional e cognitivo da criança, ainda é uma doença pouco estudada e pouco diagnosticada no mundo; cerca de 50% das mulheres com depressão pós-parto não são diagnosticadas e não recebem o tratamento adequado (Friedman; Resnick, 2009; Payne; Maguire, 2019). A etiologia da DPP ainda permanece incerta. Sabe-se que as lesões teciduais, a involução uterina, a dor e o estresse emocional gerados pelo parto fazem com que o corpo feminino inicie uma busca de reequilíbrio de sua condição física. Nesse processo, uma

série de reações envolvendo o sistema imunológico e o eixo hipotálamo-pituitária-adrenal são desencadeadas. Algumas pesquisas tentam explicar como a influência dessa desregulação poderia estar ligada à apresentação de sintomas depressivos em algumas mulheres (Bloch *et al.*, 2000; Corwin & Pajer, 2008). Outros estudos tentam explicar a DPP através de modelos animais e da epigenética, no entanto, ainda é necessário que mais evidências sejam descobertas (Meltzer-Brody, 2011).

Ainda que não exista uma etiologia definida, estudos vêm conseguindo identificar fatores de risco para o desenvolvimento de DPP. Essa medida possibilita a elaboração de ações de prevenção e tratamento a serem oferecidos em prol da saúde materna. De acordo com o Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders – Fourth Edition (DSM-V), publicado pela Associação Psiquiátrica Americana, a DPP deve iniciar-se em até quatro semanas após o parto. A Classificação Estatística Internacional de Doenças e Problemas Relacionados à Saúde – 10ª Revisão (CID-10) classifica como transtornos mentais associados ao puerpério aqueles iniciados nas primeiras seis semanas pós-parto. Contudo, os participantes de um workshop na Suécia realizado em 1999 concluíram que o termo depressão pós-parto é útil para descrever qualquer transtorno depressivo sem características psicóticas presente durante o primeiro ano pós-natal (Cox J, Holden J, 2003).

O diagnóstico e tratamento da DPP é de extrema importância, uma vez que depressões não tratadas ou sub-tratadas são fatores de risco para futuras sequelas, na mãe e no recém-nascido. Na mãe, estas sequelas incluem descuido na própria nutrição, com conseqüente ganho ou perda excessivos de peso, subutilização dos cuidados de saúde pós-natais, aumento do abuso de substâncias, incluindo álcool ou drogas (Marcus, 2009), e, segundo alguns investigadores, perda de potencial fértil (Burt Vivien K, 2009).

Em países como o Reino Unido e a Austrália, o suicídio é a principal causa de morte materna (Cliffe S, *et al.*, 2008; Oates M., 2003). Algumas mulheres preocupam-se excessivamente com a saúde e a alimentação do filho e se retratam como pessoas más, incapazes de amar seu filho (Almond P, 2009). O sentimento de culpa surge num momento em que todos à sua volta esperam satisfação e alegria e as mães sentem-se deprimidas. Para caracterizar-se como DPP, esses sintomas devem persistir por duas semanas (Remick RA, 2002). Esse critério de duas semanas serve para diferenciar a DPP dos casos de disforia pós-parto, quando os sintomas depressivos

surgem mais precocemente, bem como leva em consideração o período necessário à adaptação da mulher às noites mal dormidas e aos problemas com a amamentação (Gavin N, *et al.*, 2005).

Para Dayan (2007), tanto a depressão quanto a ansiedade são os principais fatores de risco pré-natais para a DPP, com uma correlação aparente entre as intensidades das manifestações ansiosas durante a gestação e a intensidade da DPP. São citados ainda por esse autor os antecedentes de violência e abusos sexuais na infância como fatores de risco, relacionando o estresse pós-traumático à DPP.

A depressão e ansiedade são comorbidades que ocorrem em 25% de pacientes com depressão (Tiller, 2013). Em ratos também são observadas estas comorbidades. É bastante frequente que, em modelos animais de depressão, ocorram também ansiedade e aumento dos níveis de corticosterona (Lam, *et al.*, 2019; Marais, *et al.*, 2008; Naert, *et al.*, 2011; Wilcoxon, *et al.*, 2007;).

O estudo realizado por Maniam *et al.* (2010), examinou os impactos iniciais e de longo prazo da separação materna no perfil comportamental das mães, e os efeitos da dieta rica em gordura (HFD) de cafeteria saborosa. Após o nascimento da prole, as ratas Sprague-Dawley foram submetidas a separação prolongada, S180 (180 min) ou breve separação, S15 (15 min / dia) dos dias pós-natal (PND) 2-14. Ansiedade e comportamentos semelhantes à depressão foram avaliados antes e depois da dieta. Após a separação prolongada, o estudo concluiu que as mães pareciam ansiosas, apresentavam comportamento semelhante ao da depressão, eram anedônicas e nestas houve aumento da corticosterona plasmática em comparação com as mães S15.

Como visto a Depressão Pós-Parto (DPP) é uma doença mental grave de grande importância para a saúde pública mundial. Apesar disso, ainda é uma doença pouco estudada e pouco diagnosticada no mundo. Embora existam diversos tratamentos disponíveis, estes ainda são incertos. Portanto estudos utilizando modelos animais possuem um papel importante no desenvolvimento de pesquisas sobre a DPP, pois ilustram os efeitos biológicos e comportamentais que podem ser desenvolvidos na DPP e traz a existência as prováveis hipóteses de quais interferência podem ocasionar a DPP, trazendo à tona a urgente reflexão e iniciativas sobre a necessidade de maiores cuidados com as mães no período perinatal.

2.6 PARTICIPAÇÃO DO HIPOCAMPO E CORTÉX PRÉ FRONTAL NA ETIOLOGIA DA DEPRESSÃO E ATIVAÇÃO DAS CÉLULAS DA GLIA

Diferentes regiões cerebrais e seus circuitos estão envolvidos na diversidade dos sintomas relacionados a depressão pós parto, sendo as áreas frontais e temporais as mais estudadas. As alterações no córtex pré-frontal em quadros depressivos estão relacionadas à atenção, à psicomotricidade, capacidade executiva e de tomada de decisão, além de alterações na anatomia como a redução dessa região também estaria implicada na fisiopatologia da depressão (Lorenzetti, *et al.*, 2009; Maletic, *et al.*, 2009; Zandio, *et al.*, 2002). Já o hipocampo, está relacionado a processos cognitivos como aprendizado e memória, além de alterações como perda de interesse, apatia e déficit de memória, podem estar presentes e serem alterados pela exposição a diversos estressores significativos. Ressaltando a importância do hipocampo, nele estão presentes receptores de glicocorticoides que regulam o eixo HPA, tornando-o mais vulnerável ao estresse e à depressão (Duman, *et al.*, 2016; Liu, *et al.*, 2017).

As células gliais podem ser classificadas no SNC em dois grupos que se diferem de acordo com sua morfologia e funcionalidade: a microglia, de origem mesodermal, e a macroglia, de origem ectodermal (Gomes; Tortelli; Diniz, 2013; Ransom; Kettenmann, 1990). Elas contribuem de diversas formas para a sustentação da homeostase tecidual e para a neuroinflamação, como, na monitoração do ambiente externo, respondendo aos sinais de desequilíbrio na homeostase (microglias) e participam de todas as funções essenciais do SNC, como metabolismo energético, defesa imunológica e neurotransmissão (astrócitos) (Kreutzberg, 1996; Oberheim *et al.*, 2012).

Os astrócitos compreendem a população mais abundante da glia no cérebro de mamíferos e são fundamentais para a boa funcionalidade do SNC, uma vez que participam de eventos como migração neuronal, proteção contra o estresse oxidativo, composição da barreira hematoencefálica, transmissões sinápticas e resposta imune com secreção de citocinas pró-inflamatórias (Volterra; Meldolesi, 2005).

A ativação dos astrócitos está associada à expressão de uma proteína, chamada de Proteína Glial Fibrilar Ácida (GFAP). A GFAP é a principal subunidade proteica dos filamentos intermediários gliais, sendo a principal estrutura dos astrócitos maduros (Li *et al.*, 2019; Menard, Hodes e Russo, 2016). A GFAP constitui o principal biomarcador de astrócitos, e é um tipo de filamento intermediário que compõe o

citoesqueleto da célula astrocitária (Rodnight *et al.*, 1997).

A GFAP se altera devido a interferências no desenvolvimento ou no sistema nervoso central. A expressão de GFAP é regulada sob a influência de fatores neuronais e expressão de citocinas e/ou mediadores inflamatórios (Li *et.al.*, 2019; Menard, Hodes e Russo, 2016).

A capacidade de respostas dos astrócitos ao sistema nervoso comprometido (lesão, inflamação, drogas de abuso, doença neuropsiquiátrica) varia de astrocitopatia a astrogliose, incluindo expressão gênica e tamanho celular reduzidos, aumento da expressão de GFAP, tamanho celular e liberação moléculas pró- inflamatórias. Um grande número de pesquisas na literatura indica adaptações e alterações de células gliais, como, os astrócitos quando relacionadas as doenças e transtornos neuropsiquiátricos (Kim *et al.*, 2017; Pekny *et al.*, 2016; Sofroniew; Vinters, 2010;).

Portanto, diante do exposto, ao final do nosso estudo foi feita a retiradas das estruturas encefálicas córtex pré-frontal e hipocampo das progenitoras de ambos os grupos, com o objetivo de investigar e quantificar a expressão da proteína GFAP nas estruturas citadas através da técnica de *Western Blotting*. O intuito desta investigação foi para avaliar a possível correlação de desenvolvimento nas progenitoras de parâmetros tipo depressivos maternos, assim como uma possível astrogliose no córtex pré-frontal e hipocampo.

3 JUSTIFICATIVA

O pós-parto é um período de vulnerabilidade para o desenvolvimento de transtornos do humor, principalmente quando estão presentes fatores de risco que aumentam a suscetibilidade. Mesmo que a etiologia dos transtornos afetivos pós-parto não é totalmente conhecida, fatores de risco genéticos, psicossociais, ambientais e biológicos têm sido propostos. Entre os transtornos psiquiátricos do pós-parto, a depressão pós-parto (DPP) é um transtorno psiquiátrico grave com consequências devastadoras não só para o bem-estar da mãe, mas também para o filho e a família.

E a limitação na construção do ninho (LCN), metodologia utilizada neste trabalho, é um modelo de estresse durante a lactação que mimetiza um tipo de estresse psicossocial, e que através da sua abordagem translacional, traz à tona, os desafios semelhantes vivenciados no período pós-natal.

Na literatura, ainda é limitado a utilização desse modelo de estresse animal, principalmente no que diz respeito aos efeitos da LCN sobre o desenvolvimento de parâmetros tipo-depressivos maternos e sua influência sobre o comportamento materno e desenvolvimento inicial da prole. Entretanto, reduzir a capacidade da mãe de construir o ninho e oferecer aos filhotes um ambiente saudável, leva ao repertório anormal e fragmentado dos cuidados maternos adequados, e possivelmente, como resultado, o estresse crônico, fornece uma ferramenta útil para o estudo das consequências dessa experiência de estresse no início da vida, assim como o desenvolvimento da DPP, que é uma doença mental grave de grande importância para a saúde pública mundial.

Portanto, a investigação e os resultados deste estudo, traz a existência as prováveis hipóteses de quais interferências o estresse no período perinatal e o desenvolvimento da DPP podem ocasionar às mães, podendo então contribuir para a maior compreensão dos prejuízos oriundos do estresse pós natal e sua influência sobre o comportamento materno e o desenvolvimento inicial da prole, assim como trazer à tona a urgente reflexão e iniciativas sobre a necessidade de maiores cuidados com as mães no período perinatal.

4 OBJETIVOS

4.1 Objetivo geral

Estudar os efeitos da limitação na construção do ninho (LCN) sobre o desenvolvimento de parâmetros tipo-depressivos maternos e sua influência sobre o comportamento materno e desenvolvimento inicial da prole.

4.2 Objetivos específicos

Parâmetros das progenitoras:

- a) Avaliar se existe variações nos comportamentos relacionados à depressão em ratas utilizando o teste do nado forçado;
- b) Investigar a atividade locomotora/exploratória no teste de Campo Aberto;
- c) Investigar e quantificar a expressão da proteína GFAP através da técnica de *Western Blotting*;
- d) Investigar o ganho de peso das ratas;
- e) Investigar os parâmetros de cuidados maternos motivacionais;

Parâmetros da prole (fêmea e macho)

- a) Investigar o ganho de peso da ninhada;
- b) Investigar o desenvolvimento físico e reflexo.

5 MATERIAL E MÉTODOS

5.1 ANIMAIS

Os animais experimentais foram obtidos do Biotério Central da Universidade Federal de Alfenas – UNIFAL. Foram utilizadas ratas fêmeas *Wistar* com oito semanas de vida pesando entre 200 e 250 gramas e ratos machos da mesma linhagem, tendo oito semanas de vida 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 ± 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 ± 1 °C). Os animais receberam água e ração comercial *ad libitum* durante todo período experimental.

5.2 GRUPOS EXPERIMENTAIS

O estudo contou com 2 grupos experimentais:

- a) Controle (C): n=10
- b) Submetidos a Limitação na Construção do Ninho (LCN): n=10.

Total: 20 ratas.

Das ratas *Wistar*, foram originados:

- a) 80 machos: 40 animais machos para mães Controle (**C**) e 40 animais machos para mães submetidas a limitação na construção do ninho (**LCN**);
- b) 80 fêmeas: 40 animais fêmeas para mães Controle (**C**) e 40 animais fêmeas para mães submetidas a limitação na construção do ninho (**LCN**);

Para a avaliação do desenvolvimento físico e reflexológico dos filhotes, foram utilizados um macho e uma fêmea de cada ninhada.

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. 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, onde mais tarde, também ficaram alocados os seus filhotes.

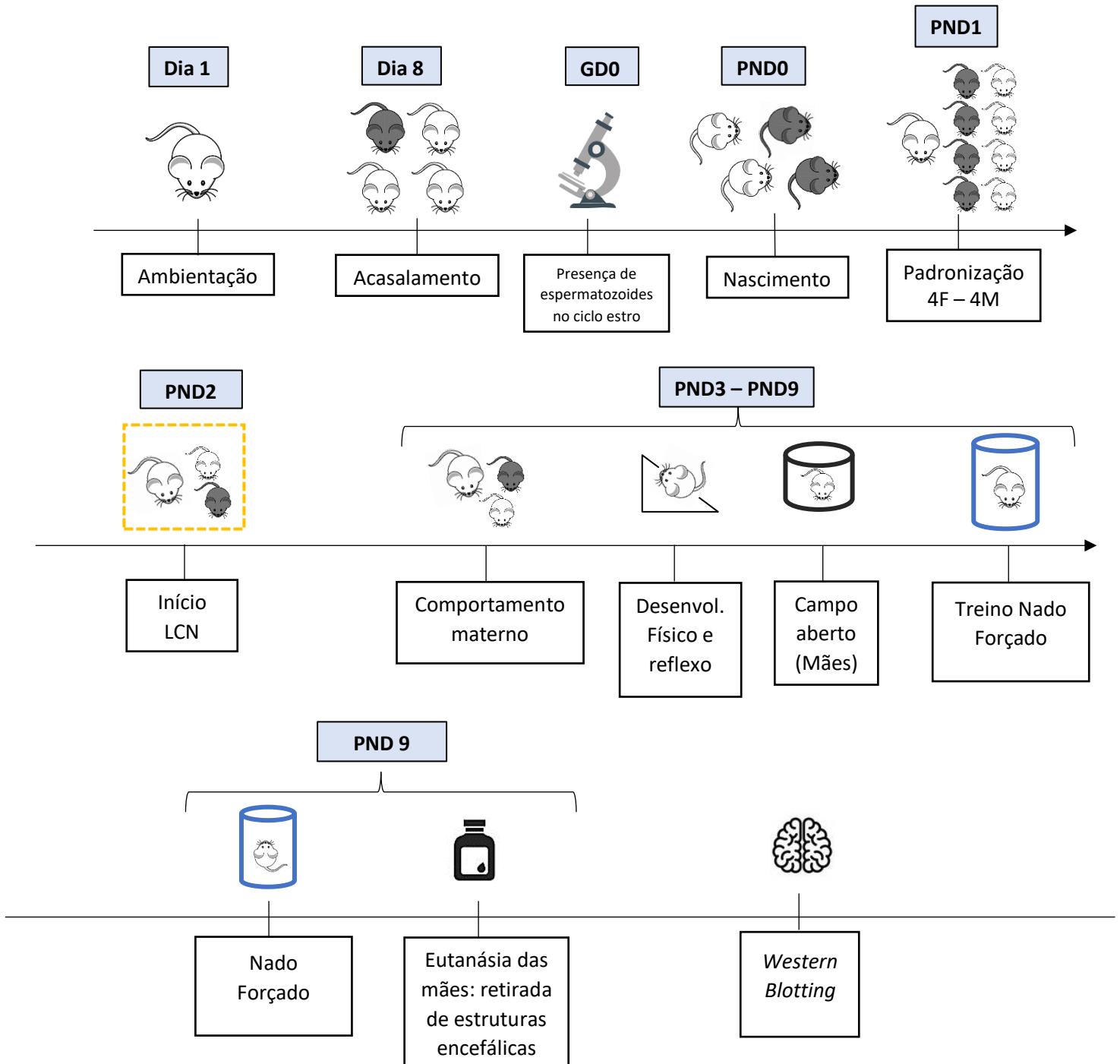
As ratas prenhas de ambos os grupos, sendo, as mães Controle e as mães do Modelo de estresse de limitação na construção do ninho (LCN), foram pesadas em um intervalo de dois dias até o PND9.

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 igualmente pesados em um intervalo de dois dias desde o PND1 até o PND9 em que ocorreu a finalização de todos os testes. A partir do PND2 o grupo LCN foram mantidos em caixas de polipropileno individuais com a maravalha reduzida (1000 ml) e o grupo Controle foram mantidos em caixas de polipropileno individuais com a maravalha em abundancia (4500 ml). No PND03 até o PND09 foi iniciado em ambos os grupos, Controle e LCN, a observação quanto aos comportamentos maternos apresentados, assim como os testes de desenvolvimento físico e reflexológico na prole de ambos os grupos. Em paralelo, no PND05, as mães passaram ainda, pelo teste de campo aberto, para a avaliação da atividade locomotora. No PND8 as mães de ambos os grupos passaram por treino para o teste do nado forçado. No PND9 ambos os grupos passaram pelo teste do nado forçado para avaliar se existia variações nos comportamentos relacionados à depressão.

Ainda no PND9, imediatamente após o teste do nado forçado, as mães foram eutanasiadas para coleta dos encéfalos córtex pré-frontal e hipocampo, posteriormente foram manualmente dissecados para análises de *Western Blotting*. Os filhotes foram sacrificados por excesso de anestésico inalatório Isoflurano.

Todos os procedimentos experimentais foram submetidos a Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UNIFAL-MG (Anexo 1).

Figura 2 - Representação esquemática do delineamento experimental



Fonte: Da autora

5.4 ACASALAMENTO

Os animais vieram do biotério central da universidade e passaram por um período de 7 dias de adaptação ao laboratório de Fisiologia Translacional. Após este período, foram colocados em uma caixa para acasalamento em uma proporção de 3 fêmeas para 1 macho. No dia seguinte, para verificar a prenhez destes animais, foi realizado o procedimento de lavado vaginal e quando verificada a presença de espermatozoides na fase estral do ciclo do animal, foi considerado como dia gestacional 0 (GD0).

5.5 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) ou com maravalha abundante (4500 ml; 5 cm de camada) do PND2 ao 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).

5.6 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 2 dias desde o PND1 até o PND9. O mesmo ocorreu com os filhotes que, foram pesados em ninhada a cada 2 dias até o PND9.

5.7 AVALIAÇÃO DO COMPORTAMENTO MATERNO

O comportamento materno foi avaliado nos dias pós-parto 5 e 7 no período da manhã entre 7 e 12 horas. Inicialmente foi anotada a posição do ninho na gaiola moradia. A ninhada foi retirada da gaiola e colocada em caixa aquecida. Após 2 horas, os filhotes foram recolocados na gaiola moradia no lado oposto ao ninho inicial e

distribuídos de forma não homogênea (Vilela, 2011). Foram então filmados por 30 minutos e, de acordo com descrições encontradas em estudos prévios (Caldji *et al.*, 1998; Champagne *et al.*, 2003; Myers *et al.*, 1989; Slamberová *et al.*, 2001) foram analisados os seguintes parâmetros:

Comportamento Materno:

1. Posição de cifose
2. Tempo de permanência sobre os filhotes
3. Latência para pegar o primeiro filhote
4. Latência para construir o ninho
5. Tempo de lambida (Vilela, 2011)

Comportamento Não-Materno:

1. Tempo de self-grooming
2. Tempo de permanência fora do ninho (Vilela, 2011)

5.8 CAMPO ABERTO

O aparato de campo aberto consiste em uma caixa quadrada de acrílico (60 cm x 60 cm x 60 cm), onde os ratos foram colocados no centro da arena e filmados por cinco minutos.

O teste foi realizado com as ratas dos grupos Controle e LCN no PND5. Cada animal foi colocado no centro da arena e a sua atividade locomotora foi filmada por 5 minutos. Os parâmetros avaliados foram distância percorrida no centro do aparato, distância percorrida na periferia, distância total percorrida, relação entre a distância percorrida no centro e total e tempo total de imobilidade. Após o teste de cada animal, o aparato foi limpo com álcool 5%. O software Ethovision XT versão 9.0 foi utilizado para análise automática dos parâmetros anteriormente determinados (Noldus; Spink; Tegelenbosch, 2001).

5.9 TESTE DO NADO FORÇADO (TNF)

Este teste é utilizado para verificar sintomas semelhantes à depressão em roedores. Para a realização do teste, utilizamos um aparato cilíndrico transparente de 24 cm de diâmetro por 60 cm de altura, contendo 50 cm de água a $24 \pm 1^\circ\text{C}$ (Padovan

e Guimarães, 2004). O volume de água permite ao animal nadar ou boiar sem encostar as patas ou a cauda no fundo do aparato. O animal foi colocado para nadar por um período de 15 minutos no dia anterior ao teste (pré-teste), e no dia do teste, foi filmado por 5 minutos. Foram observados os comportamentos de frequência de imobilidade e tempo de imobilidade. Para confirmação dos dados coletados, os testes foram filmados. Foi considerada Imobilidade a movimentação do animal para se manter apenas com a cabeça fora da água, com o objetivo de respirar; para este parâmetro, foi mensurado o tempo de imobilidade.

5.10 DESENVOLVIMENTO FÍSICO E REFLEXOLÓGICO

Para a avaliação do desenvolvimento físico dos animais foram observados os dias de ocorrência dos seguintes parâmetros: desdobramento das orelhas, abertura dos olhos, erupção dos dentes incisivos e nascimento de pelos. Essas observações foram realizadas, diretamente, em cada filhote, um macho e uma fêmea de cada ninhada, durante a lactação. Para avaliação do desenvolvimento dos reflexos, os animais foram observados durante a lactação quanto ao dia de ocorrência: do reflexo de preensão palmar, do reflexo de endireitamento de postura, do reflexo de geotaxia negativa e do dia de andar adulto (Veronesi *et al.*, 2017).

5.11 EXPRESSÃO DA PROTEÍNA GFAP NO CÓRTEX E HIPOCAMPO PELA TÉCNICA DE *WESTERN BLOTTING*

Após o término dos experimentos no PND9, os animais foram eutanasiados e o hipocampo e o córtex pré-frontal dissecados e armazenados em -80°C até o momento da realização do teste de Bradford. Para a realização do teste de Bradford as amostras foram homogeneizadas em tampão de lise com um coquetel de inibidores de protease (Sigma-Aldrich, St Louis, MO). Em seguida as amostras foram centrifugadas (9200 rpm, 15 minutos, 4°C) e a concentração de proteínas no sobrenadante quantificada pelo teste de Bradford. As amostras contendo o tampão de lise juntamente com Laemmli foram fervidas e submetidas a análise de Western blotting. As proteínas separadas por SDS-PAGE a 10% ou 12% dependendo do peso das proteínas (electroforese em gel de poliacrilamida com dodecilsulfato de sódio) e

em seguida transferidas para membranas de nitrocelulose com um sistema electroforético semi-seco (Bio-Rad, Hercules, CA). A membrana foi lavada 3 vezes em PBS contendo 0,05% de Tween 20, bloqueada com 5% de leite desnatado e albumina em PBS durante 3 horas a temperatura ambiente e depois incubada overnight, a 4 °C com 28 determinado anticorpo primário (anti-GFAP). No dia seguinte, após 3 lavagens em PBS contendo 0,05% de Tween 20, as membranas foram incubadas durante 1 hora a temperatura ambiente com anticorpo secundário correspondente. Após o período de incubação, a membrana foi lavada 3 vezes em PBS 0,1 M contendo Tween 20 a 0,05% e depois utilizado um kit de detecção comercial durante aproximadamente 1 a 2 minutos (kit de detecção ECL, Bio-Rad, Hercules, CA). As imagens de análise foram capturadas por analisador de imagem por quimioluminescência (Chemidoc, Bio-Rad, Hercules, CA). Posteriormente as membranas passaram pelo processo de stripping seguido do bloqueio em 5% de leite desnatado em PBS durante 2 horas. Após o bloqueio as membranas foram lavadas 3 vezes em PBS 0,1 M contendo Tween 20 a 0,05%, seguida da incubação overnight, a 4 °C com anticorpo anti-actina (1:5000, Sigma Aldrich 4700). No dia seguinte, as membranas foram lavadas 3 vezes em PBS 0,1 M contendo Tween 20 a 0,05%, e incubadas por 1 hora com o anticorpo secundário (1:2000, Abcam-ab 6789). Após incubação, as membranas foram novamente lavadas 3 vezes em PBS 0,1 M contendo Tween 20 a 0,05%, em seguida foi utilizado o mesmo kit de detecção durante aproximadamente 1 a 2 minutos (kit de deteco ECL, Bio-Rad, Hercules, CA). As imagens de análise foram capturadas por analisador de imagem por quimioluminescência (Chemidoc, Bio-Rad, Hercules, CA) e as intensidades das bandas quantificadas utilizando um software específico da Bio-Rad. A intensidade de cada banda foi expressa em relação à da β -actina e os dados expressos normalizados para o controle (Ribeiro *et al.*, 2020).

6 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Os resultados obtidos foram analisados pelo *software GraphPad* versão 8.0 e expressos como média \pm desvio padrão da média. Foi aplicado o teste *t de Student* para comparação de duas médias. No teste para comparação de dois fatores foi utilizado a análise de variância *two way ANOVA*, seguida pelo pós-teste de *Bonferroni*. Os resultados com $p < 0.05$ foram considerados estatisticamente significativos.

7 RESULTADOS

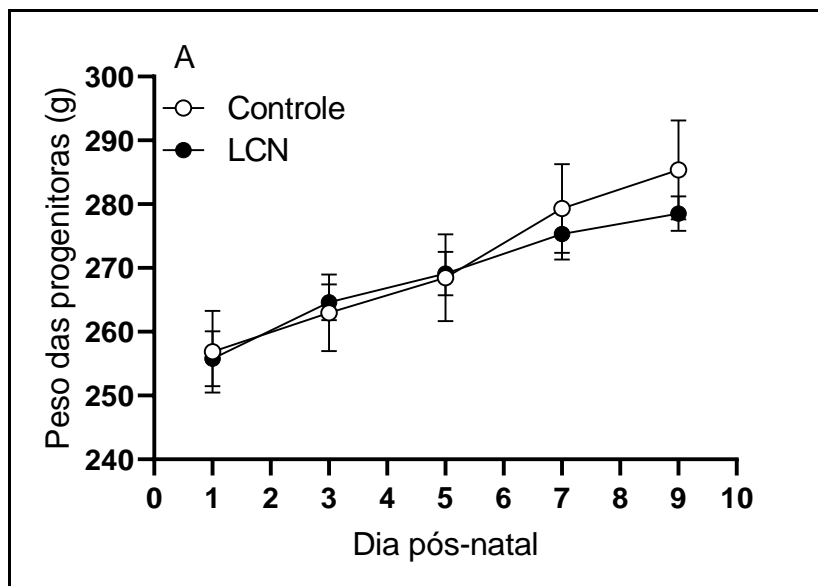
7.1 RESULTADOS DOS TESTES COMPORTAMENTAIS E GANHO DE PESO CORPORAL DAS PROGENITORAS

7.1.1 Avaliação do ganho de peso das progenitoras

A figura 3 mostra o ganho de peso das progenitoras durante o período pós-natal (PND 1, 3, 5, 7 e 9).

Como pode-se observar no gráfico da figura abaixo, não houveram diferenças estatísticas no ganho de peso entre os grupos controle e LCN durante o período pós-natal.

Figura 3 - Acompanhamento do ganho de peso das progenitoras.



Fonte: Da autora

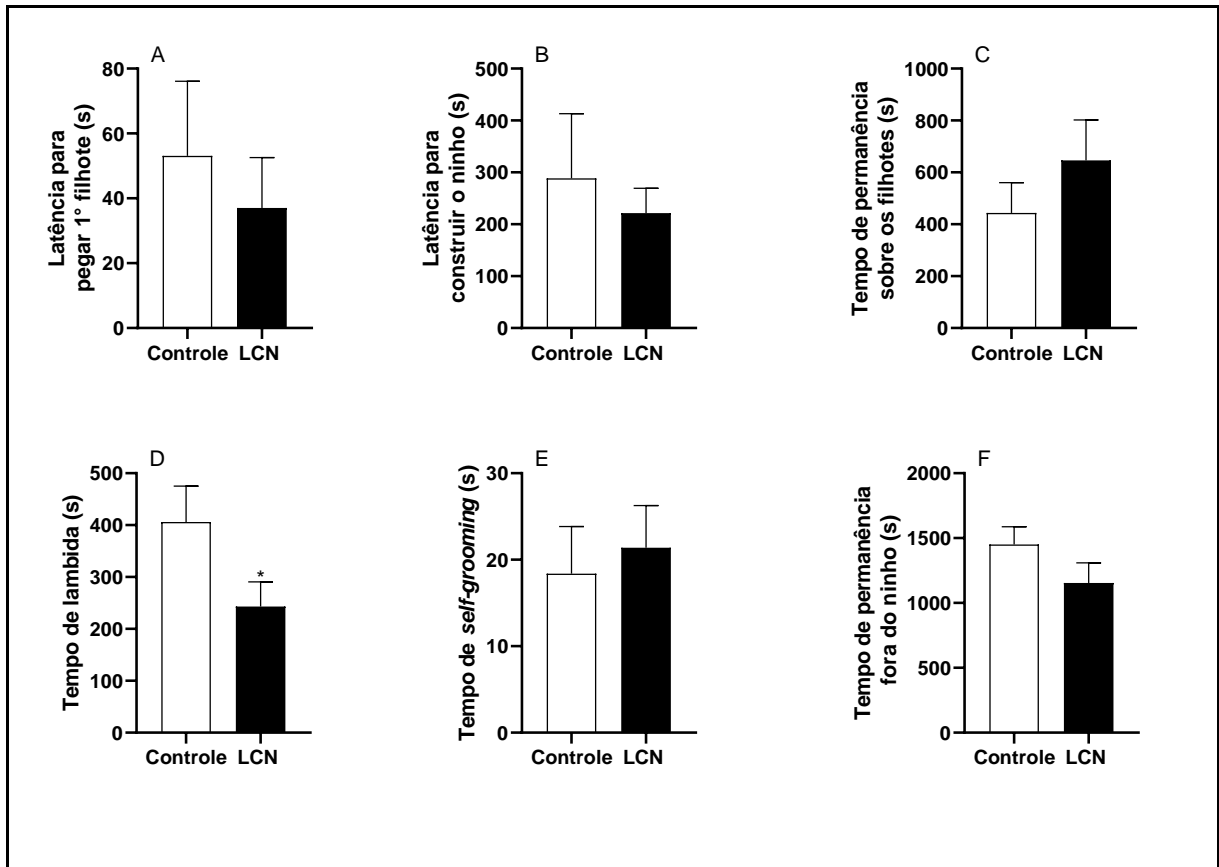
Legenda: Na figura 3 temos o acompanhamento do peso das progenitoras de acordo com o PND. As barras representam valores médios (\pm S.E.M.) para os grupos experimentais ($n = 8$ animais por grupo).

7.1.2 Avaliação do Comportamento materno motivacional

A Figura 4 mostra a avaliação do comportamento materno motivacional das ratas do grupo controle e LCN no PND 5. Observa-se uma diminuição no parâmetro

maternal de lambe o filhote ($p < 0.05$; Fig.2.D) das ratas LCN quando comparadas ao grupo Controle.

Figura 4 - Parâmetros avaliados no comportamento materno no PND 5

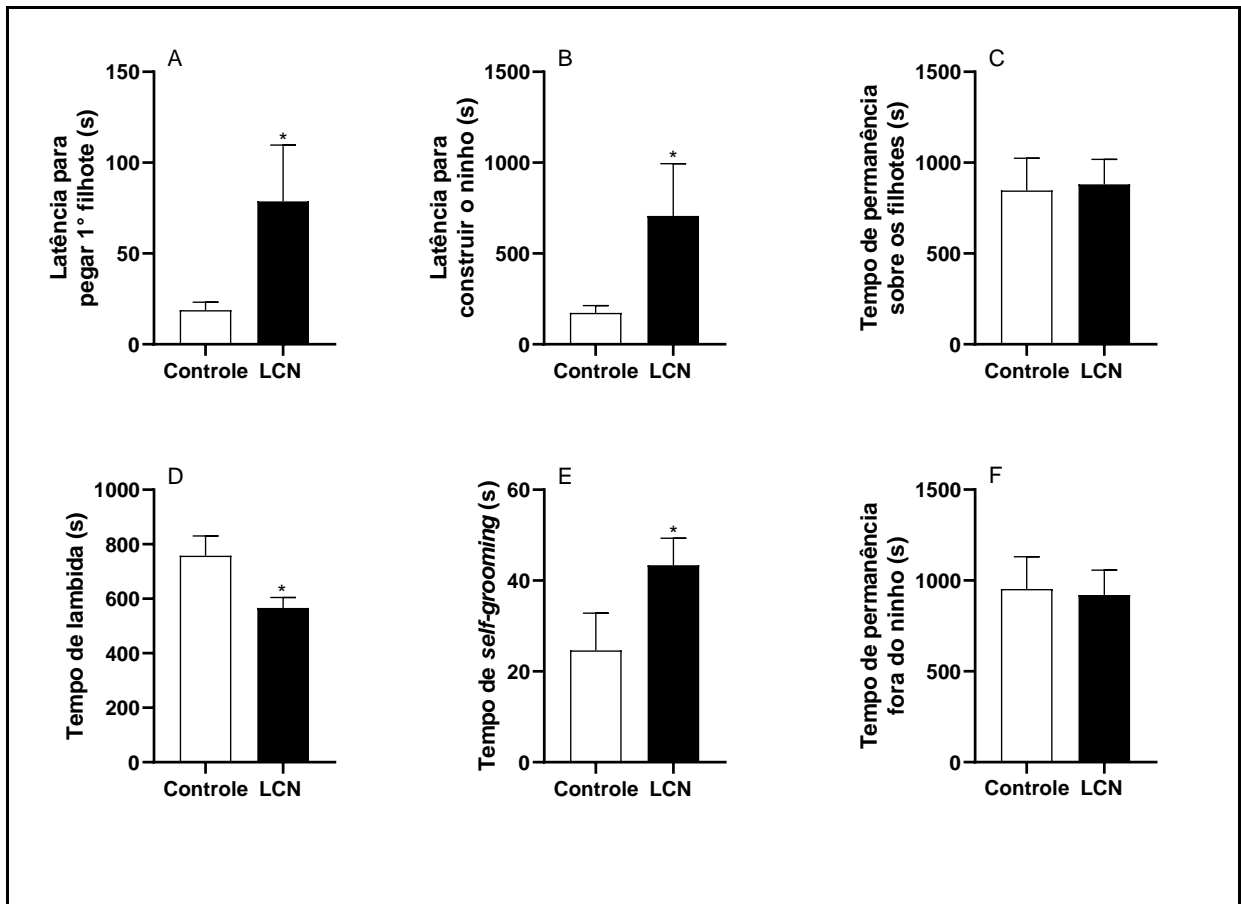


Fonte: Da autora.

Legenda: A figura 4 mostra o tempo de comportamento materno das ratas dos grupos controle e LCN no PND 5. a) Em A temos a latência para pegar o 1º filhote. b) Em B a latência para construir o ninho. c) Em C o tempo de permanência sobre os filhotes. d) Em D o tempo de lambidas. e) Em E o tempo de self-grooming f) Em F o tempo de permanência fora do ninho. As barras representam valores médios (\pm S.E.M.) para os grupos experimentais ($n = 8$ animais por grupo). O asterisco denota o nível de significância do grupo LCN quando comparados ao grupo controle.

A Figura 5 mostra a avaliação do comportamento materno motivacional das progenitoras do grupo controle e LCN no PND 7. Onde pode se observar um aumento no tempo de latência para pegar o 1º filhote ($p < 0.05$; Fig.5.A), uma tendência ao aumento no tempo de latência para construir o ninho ($p = 0.07$; Fig.5.B), uma diminuição no tempo de lambida ($p < 0.05$; Fig.5.D) e um aumento no tempo de self-grooming ($p < 0.05$; Fig.5.E) das ratas grupo LCN em comparação ao grupo controle.

Figura 5 - Parâmetros avaliados no comportamento materno no PND 7



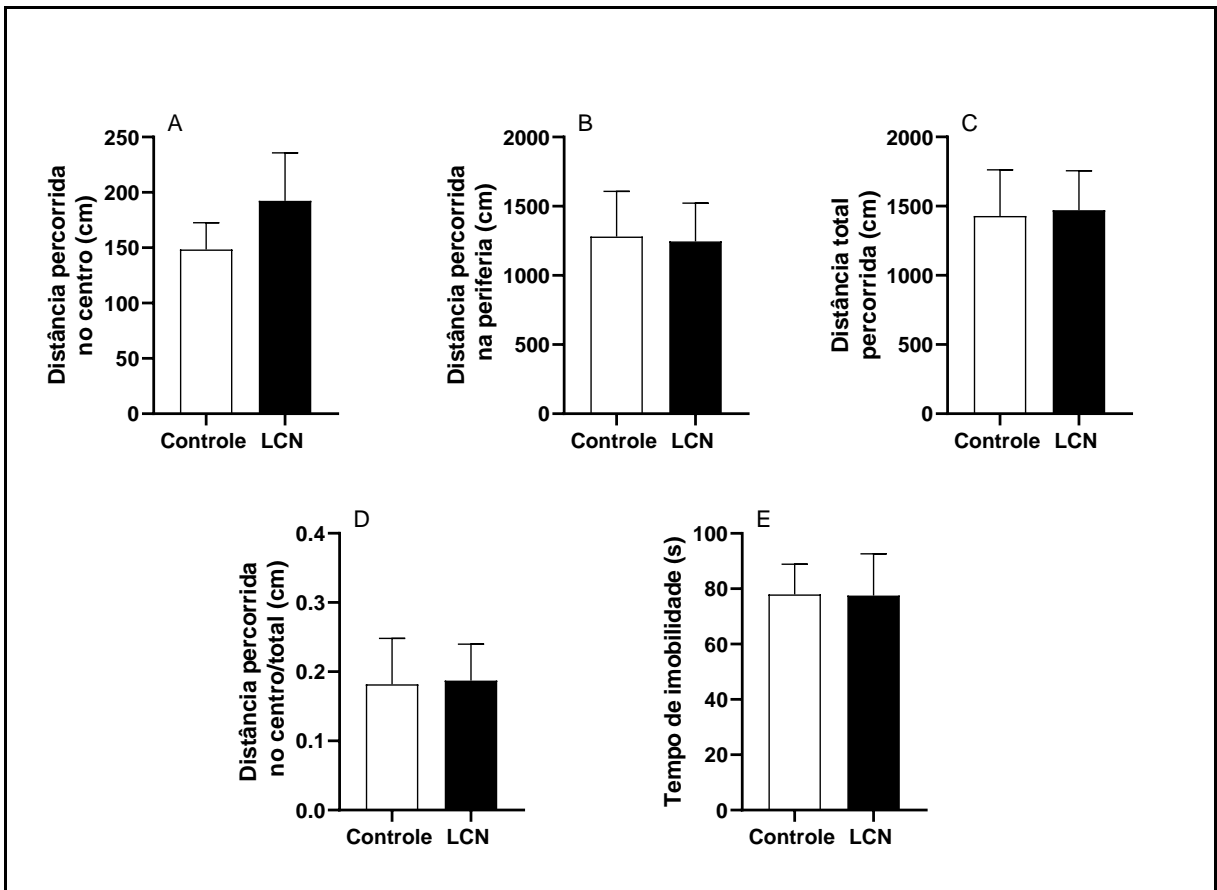
Fonte: Da autora.

Legenda: A figura 5 mostra o tempo de comportamento materno das ratas dos grupos controle e LCN no PND 7. a) Em A temos a latência para pegar o 1º filhote. b) Em B a latência para construir o ninho. c) Em C o tempo de permanência sobre os filhotes. d) Em D o tempo de lambidas. e) Em E o tempo de self-grooming f) Em F o tempo de permanência fora do ninho. As barras representam valores médios (\pm S.E.M.) para os grupos experimentais ($n = 8$ animais por grupo). O asterisco denota o nível de significância do grupo LCN quando comparados ao grupo controle $*p < 0.05$ (test "t" student).

7.1.3 Avaliação do Campo aberto

A figura 6 mostra os parâmetros avaliados no teste de campo aberto. Observe que não houve diferença nos parâmetros avaliados no grupo de mães LCN quando comparadas ao grupo Controle, demonstrando que a LCN não afetou a atividade locomotora das progenitoras.

Figura 6 - Parâmetros avaliados no teste de campo aberto das progenitoras.



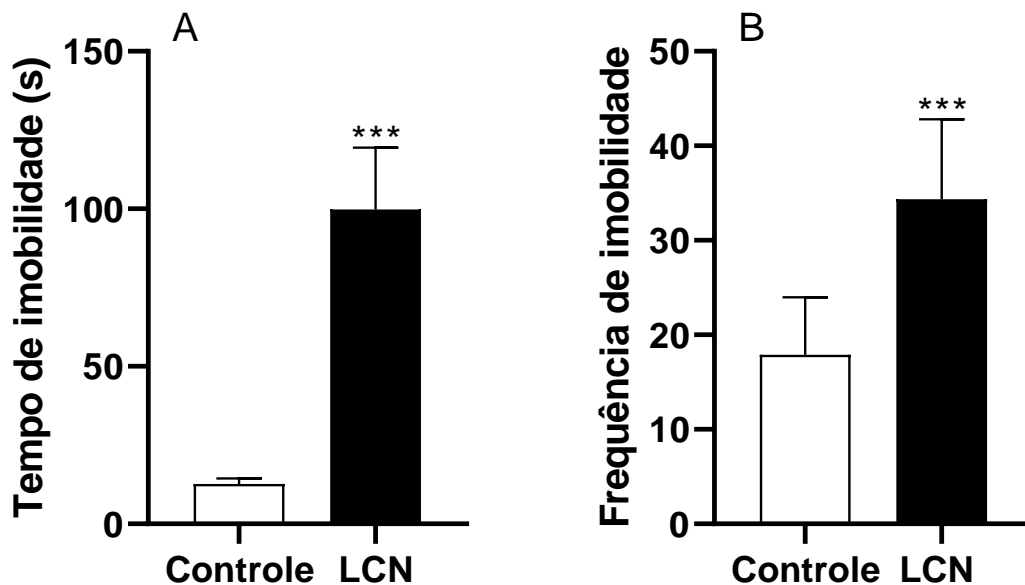
Fonte: Da autora.

Legenda: Parâmetros avaliados no teste de campo aberto: Distância percorrida no centro do aparato pelas progenitoras do grupo Controle e LCN (A), distância percorrida na periferia (B), distância total percorrida (C), relação entre a distância percorrida no centro e total (D) e tempo total de imobilidade (E) pelas progenitoras do grupo Controle e LCN. 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 ($n = 8$ animais por grupo).

7.1.4 Avaliação do nado forçado

A avaliação do teste de nado forçado nas progenitoras dos grupos Controle e LCN estão demonstrados na Figura 7. Onde pode se observar que as progenitoras LCN apresentaram maior frequência de imobilidade e maior tempo de imobilidade quando comparadas às progenitoras do grupo Controle ($p < 0.05$; Fig. 7.A).

Figura 7 - Parâmetros avaliados no teste de nado forçado.



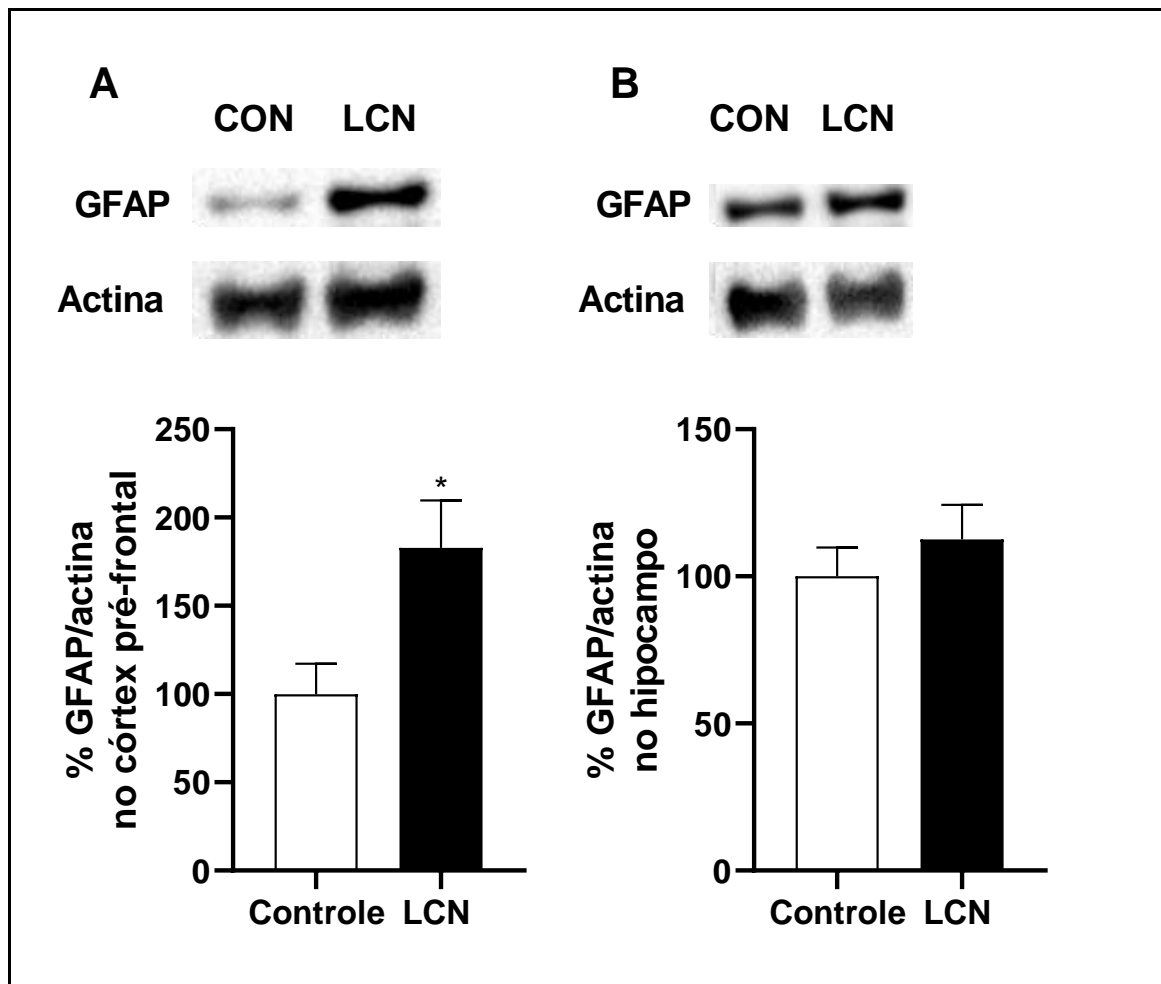
Fonte: Da autora.

Legenda: Parâmetros avaliados no teste de nado forçado: tempo de imobilidade (A) e frequência de imobilidade (B) das progenitoras do grupo LCN e Controle. As barras representam valores médios (\pm S.E.M.) para os grupos experimentais ($n = 8$ animais por grupo). Os asteriscos denotam os níveis de significância quando comparado com ao grupo controle $*p < 0.05$ (test "t" student).

7.1.5 Expressão da proteína GFAP no córtex e hipocampo pela técnica de *Western Blotting*

A figura 8 mostra a quantificação da expressão da proteína GFAP na estrutura encefálica córtex pré-frontal (A) e Hipocampal (B) das progenitoras do grupo Controle e LCN. Observa-se que não houve diferença na quantificação da expressão da proteína GFAP no hipocampo das progenitoras LCN em relação ao grupo Controle. Porém, houve um aumento na quantidade de expressão da proteína GFAP no córtex pré-frontal das progenitoras do grupo LCN ($p < 0.05$) quando comparadas ao grupo Controle.

Figura 8 - Quantificação de GFAP no hipocampo e córtex das progenitoras.



Fonte: Da autora.

Legenda: Quantificação da expressão da proteína GFAP e perfil da expressão de GFAP e actina córtex pré-frontal (A) e Hipocampo (B) das progenitoras do grupo Controle e LCN. As barras representam valores médios (\pm S.E.M.) para os grupos experimentais ($n = 8$ animais por grupo). Os asteriscos denotam os níveis de significância quando comparado com o grupo controle $*p < 0.05$.

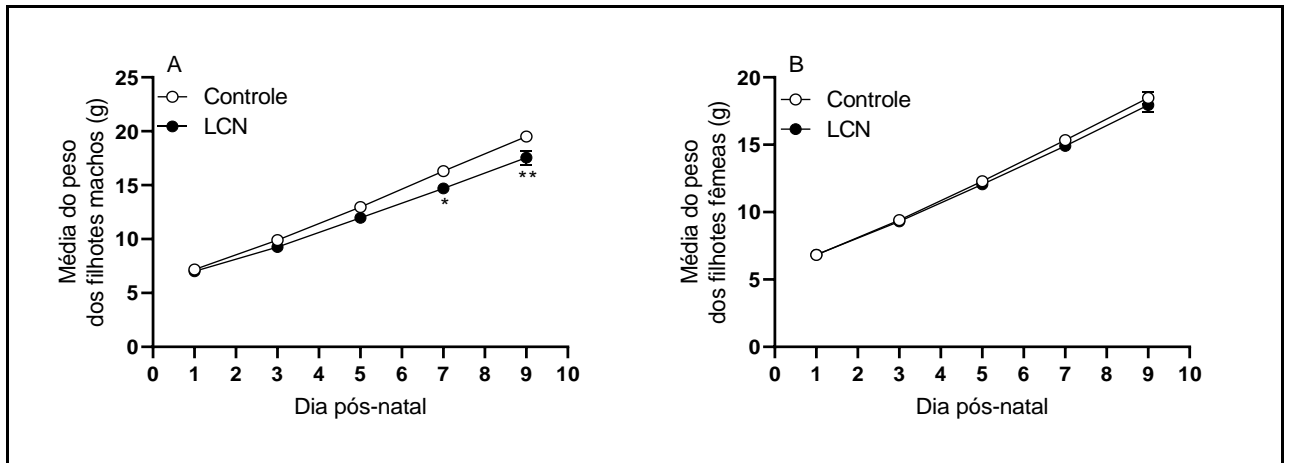
7.2 RESULTADOS DO GANHO DE PESO CORPORAL E TESTE DE DESENVOLVIMENTO INICIAL E REFLEXOLÓGICO DA PROLE

7.2.1 Avaliação do ganho de peso corporal da prole

A Figura 9 mostra o ganho de peso das proles dos grupos Controle e LCN. A análise, através da ANOVA two-way, indicou que houve uma redução no ganho de peso nos filhotes machos LCN (PND 7 a 9) (13.17 ± 2.19 para $12.10 \pm 1.87g$; $p < 0.001$)

quando comparados aos filhotes machos do grupo Controle. Para os filhotes fêmeas observa-se que não houve diferença nos parâmetros avaliados no grupo LCN quando comparadas ao grupo Controle, demonstrando que a LCN não afetou o ganho de peso de filhotes fêmeas.

Figura 9 – Avaliação do ganho de peso corporal da prole



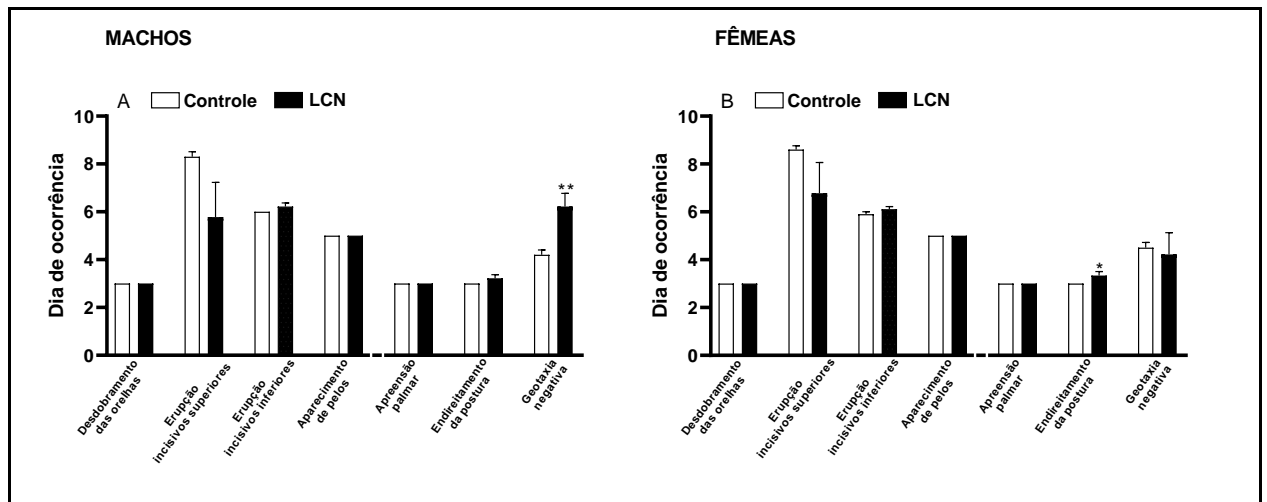
Fonte: Da autora

Legenda: Na figura 9 temos o acompanhamento do peso das ninhadas dos grupos controle e LCN de acordo com o PND. Média do peso dos filhotes machos (A) e Média do peso dos filhotes fêmeas (B). Os valores foram expressos como média \pm SEM (teste ANOVA two-way seguidos do pós-teste Bonferroni).

7.2.2 Avaliação do teste de Desenvolvimento Inicial e reflexológico da prole

A Figura 10 mostra o desenvolvimento físico (desdobramento das orelhas; erupção dos incisivos inferiores e superiores; abertura dos olhos; aparecimento de pelos) e o desenvolvimento do reflexo (preensão palmar; endireitamento de postura; geotaxia negativa; andar adulto) dos filhotes machos e fêmeas de mães Controle e LCN. A análise, através do teste “t” de *Student*, indicou que os filhotes machos do grupo LCN apresentou atraso para apresentar o reflexo geotaxia negativa (4.20 ± 0.20 para 6.22 ± 0.54 pnd; $p < 0.001$) e atraso no dia de apresentar o endireitamento da postura nos filhotes fêmeas do grupo LCN (3.00 ± 0.00 para 3.33 ± 0.16 pnd; $p < 0.001$) quando comparados à prole do grupo controle. Para os demais parâmetros, os grupos não diferiram entre si ($p > 0,05$).

Figura 10 - Parâmetros avaliados no teste de Desenvolvimento Inicial e reflexológico da prole



Fonte: Da autora

Legenda: Efeitos da LCN no desenvolvimento físico e reflexo dos filhotes machos e fêmeas de mães LCN e Controle. As barras representam valores médios (\pm S.E.M.) para os grupos experimentais ($n = 8$ animais por grupo). Os asteriscos denotam os níveis de significância quando comparado com o grupo controle * $p < 0.05$ (teste "t" Student).

8 DISCUSSÃO

Inicialmente, é importante destacar que, na literatura científica, se encontra resultados que corroboram, ou não, com os apresentados neste estudo. Porém, essas pesquisas, não utilizaram um modelo animal de estresse perinatal onde a padronização da redução da maravalha para o grupo LCN tenha sido em quantidade reduzidas (1000 ml; 1,2 cm de camada) e para o grupo controle maravalha abundante (4500 ml; 5 cm de camada) mas realizadas somente entre os dias pós-parto 2 a 9. Portanto a metodologia de Limitação da Construção do Ninho padronizada e utilizada neste estudo pode ser considerada inovadora.

8.1 DISCUSSÃO SOBRE O GANHO DE PESO CORPORAL E TESTES COMPORTAMENTAIS DAS PROGENITORAS

8.1.1 Avaliação do ganho de peso das progenitoras

O peso das progenitoras de ambos os grupos foi acompanhado durante todo o período experimental. As ratas foram pesadas individualmente a cada 2 dias desde o PND1 até o PND9.

O ganho de peso é um parâmetro importante a ser avaliado já que a gestação é um período onde há naturalmente um aumento do consumo alimentar, tendo em vista que é preciso suprir as necessidades energéticas da mãe e dos fetos (Amugongo; Hlusko, 2014). O corpo da gestante sofre diversas modificações, incluindo o ganho de peso. Quando ocorre justaposição entre gestação e estresse, a maioria dos estudos com modelos animais, indicam uma redução no peso corporal em relação ao grupo controle (Govindaraj *et al.*, 2017; Yao *et al.*, 2014).

Porém, os resultados deste trabalho demonstram que a limitação na construção do ninho (LCN) não foi capaz de alterar o ganho de peso das progenitoras. Corroborando com nossos estudos, Sá *et al.* (2021), que investigou os possíveis prejuízos na cognição da prole decorrentes do Transtorno de Estresse Pós-traumático (TEPT) gestacional, utilizando-se ratas *Wistar* prenhas, as quais foram induzidas ao TEPT por choque na pata, seguido de isolamento social, também verificou que o modelo de estresse animal não foi capaz de interferir no ganho de peso das progenitoras.

8.1.2 Avaliação do Comportamento materno motivacional

A avaliação do comportamento materno se faz fundamental uma vez que, alterações no comportamento da mãe podem refletir diretamente sobre a saúde de seus filhotes. Sabe-se que o cuidado da mãe é importante para manter a temperatura adequada dos filhotes que são ainda imaturos e não possuem pelos, dessa maneira, o ato de construir o ninho mantendo todos os filhotes próximos uns dos outros e o fato da mãe posicionar-se sobre eles contribui para a estabilização da temperatura corporal da ninhada. Ainda neste sentido, o comportamento apresentado pela mãe de lambar o filhote auxilia na realização das necessidades fisiológicas dos mesmos (Patin *et al.*, 2002).

No presente estudo pode-se observar que a limitação da construção do ninho (LCN) reduziu alguns parâmetros do comportamento materno (Fig.2 e 3). Sendo possível observar então que a LCN diminuiu o parâmetro maternal de lambar o filhote (Fig.2 D e 3.D).

Este parâmetro maternal tem o objetivo de limpar a cria, as progenitoras lambem a sua prole com o intuito de limpar a área anogenital e estimular a defecação e micção dos filhotes, assim como favorecer a prole masculina a respeito da diferenciação sexual no cérebro (Döhler, 1991). Corroborando com este resultado encontrado em nosso estudo, estudos realizados por Ivy *et al* (2008), o qual utilizou um modelo animal semelhante de estresse perinatal em ratas colocadas em gaiolas com o fundo de arame com material para construção do ninho de algodão e que também expos à LCN do PND 2 ao DPP 9, observaram que a exposição à LCN reduziu significativamente o parâmetro de lambar/limpar os filhotes pelas mães.

Ainda sobre a redução dos parâmetros maternos, também foi possível verificar em nosso estudo que houve um aumento na latência para as progenitoras do grupo LCN pegar o primeiro filhote e leva-lo ao ninho em relação às progenitoras do grupo controle, assim como ocorreu um aumento no tempo de construção do ninho pelas progenitoras do grupo LCN quando comparadas ao grupo controle.

Durante o período da lactação, as mães apresentam comportamento de cuidar dos filhotes e manifestam-no pela busca dos mesmos quando estes se afastam do ninho, pela estimulação da micção por meio da lambida anogenital, pelo posicionamento sobre os filhotes para provê-los de nutrição e calor, pela construção

do ninho e por defesa contra intrusos (Albert; Walsh, 1995; Grota; Ader, 1969; Stern; Johnson, 1990).

No estudo de Vilela (2011) avaliou-se a influência da dexametasona (DEXA), que é um glicocorticoide exógeno, nas respostas neuroendócrinas e comportamentais durante a lactação de ratas wistar adultas. A análise do comportamento materno motivacional feita de forma semelhante ao nosso estudo, mostrou que o tratamento com dexametasona em ratas lactantes prejudicou a construção do ninho, pois as ratas demoraram mais tempo para agrupar os filhotes e não montaram o ninho completo. A administração de dexametasona também aumentou a latência para a rata pegar o primeiro filhote e leva-lo ao ninho. O estudo ainda avaliou o efeito da DEXA sobre as concentrações plasmáticas de ocitocina e prolactina, que são hormônios envolvidos no comportamento materno, e observou-se que a DEXA foi capaz de reduzir os níveis de ocitocina e prolactina o que sugeriu que a diminuição na secreção destes influenciou na interrupção do comportamento materno induzida pela administração de DEXA. Portanto o estudo concluiu que a administração de DEXA foi capaz de impactar na redução do comportamento materno motivacional, correlacionando então que a redução dos hormônios prolactina e ocitocina podem afetar o CM de ratas lactantes, o que nos faz levantar a hipótese de que em nosso estudo, apesar de não avaliar as concentrações plasmáticas dos hormônios citados, também tenha ocorrido o mesmo, visto que os achados do estudo de Vilela (2011) concorda com os resultados obtidos em nosso estudo sobre a redução do comportamento materno em relação ao aumento na latência de pegar o primeiro filhote e leva-lo ao ninho e aumento do tempo de construção do ninho.

Verificamos também em nosso estudo que a LCN foi capaz de aumentar o parâmetro não maternal tempo de *sefl grooming*. Pois observou-se que houve um aumento no tempo *sefl grooming*, pelas progenitoras do grupo LCN quando comparadas ao grupo Controle.

O parâmetro *self grooming* em animais é um dos comportamentos mais frequentemente observados em roedores e apresentam padrões de organização sequencial cefalocaudal característico. É um comportamento inato envolvido na manutenção da higiene e outros processos fisiologicamente importantes, incluindo a termorregulação, comunicação social e excitação. Seres humanos também apresentam este comportamento de forma similar a outros animais, porém seu

excesso é associado a condições patológicas como estresse e em alguns transtornos psiquiátricos (Kalueff, *et al.* 2015; Natarajan, *et al.* 1992; Spruijt, *et al.* 1988).

No estudo desenvolvido por Lima (2020), onde foram avaliadas as consequências da LCN durante todo o período de lactação de ratas (desde a infância aos 31 dias de idade), assim como a avaliação de parâmetros de comportamento materno, desenvolvimento físico e comportamental da prole masculina, verificou-se que as fêmeas lactantes apresentaram aumento tanto na frequência como no tempo total de *auto-grooming*.

Portanto podemos concluir que o modelo animal de estresse perinatal LCN foi capaz de gerar estresse no período pós-natal nas progenitoras do grupo LCN em relação ao grupo controle, reforçando então a hipótese de que o estresse neste período é prejudicial em relação ao comportamento materno.

8.1.3 Avaliação do Campo aberto

O teste de campo aberto foi realizado no PND 5 com as progenitoras do grupo LCN e grupo controle. Os parâmetros avaliados foram distância percorrida no centro do aparato, distância percorrida na periferia, distância total percorrida, relação entre a distância percorrida no centro e total e tempo total de imobilidade. Esse teste é comumente utilizado para avaliar comportamento tipo ansioso e a locomoção dos animais. O comportamento tipo ansioso é avaliado por meio dos parâmetros distância percorrida e tempo de permanência no centro do aparato, enquanto que a avaliação da locomoção dos animais é realizada analisando-se parâmetros como distância percorrida total e tempo de imobilidade (Toumi *et al.*, 2016).

Neste trabalho observou-se que não houve diferença nos parâmetros avaliados no grupo de mães LCN quando comparadas ao grupo Controle, demonstrando que a LCN não afetou a atividade locomotora das progenitoras. Assim como não foi observado então, o comportamento tipo ansioso nas progenitoras do grupo LCN.

Gallo *et al.*, 2019, em seus estudos no qual utilizou o protocolo de submeter camundongos a um modelo semelhante de LCN, porém com gaiolas de piso de arame e o material para construção do ninho de algodão, observou que a cama limitada não afetou a atividade locomotora dos animais. Assim como no estudo de Goodwill *et al.*, 2019, que também utilizou a mesma metodologia de LCN que Gallo *et al.*, 2019, e também realizou o teste de campo aberto, porém em camundongos adolescentes, o

estudo verificou que o ambiente estressor também não alterou a locomoção dos animais (Gallo *et al.*, 2019, Goodwill *et al.*, 2019).

8.1.4 Avaliação do nado forçado

O teste do nado forçado foi desenvolvido por Porsolt em 1978 como uma variação do teste do desamparo aprendido e atualmente é o mais utilizado para avaliar o efeito antidepressivo de medicamentos em animais (Almeida *et al.*, 2011; Engin; Treit; Dickson, 2009). Este teste se baseia no comportamento de desespero do animal para sair de uma situação sem escapatória; assim, num primeiro momento, os animais nadam para tentar escapar do recipiente em que são colocados, mas ao longo do teste há o desenvolvimento de imobilidade, em que os animais realizam apenas os movimentos necessários para manter a cabeça fora d'água (Almeida *et al.*, 2011). Esse comportamento de imobilidade reflete a desistência do animal de escapar da situação em que se encontra e buscar a sobrevivência (Cryan; Markou; Lucki, 2002; Lucki, 1997). A latência para a primeira imobilidade é um parâmetro complementar ao tempo de imobilidade; animais com comportamento tipo-depressivo apresentam menor latência para imobilidade (Almeida *et al.*, 2011). Medicamentos antidepressivos são capazes de reverter o comportamento tipo-depressivo, através da diminuição do tempo de imobilidade e aumento da latência para a primeira imobilidade (Almeida *et al.*, 2011; Powell; Fernandes; Schalkwyk, 2012).

Em nosso estudo pode-se observar um aumento no tempo e frequência de imobilidade no teste do nado forçado pelas progenitoras do grupo LCN quando comparadas às do grupo controle. Os resultados obtidos demonstraram então que o ambiente estressor motivado pela LCN foi capaz de desenvolver comportamentos tipo-depressivo nas progenitoras expostas a este ambiente.

Bourke, *et al.* (2012), em seus estudos verificou que a exposição à agressão materna repetida induziu a um comportamento do tipo depressivo e aumentou o sobressalto em ratas adultas, o estudo também avaliou o comportamento tipo depressivo por meio do teste de nado forçado, e em seus resultados pode-se verificar que o grupo de ratas expostas ao estresse por meio da agressão materna permaneceram mais tempo imóveis quando comparados ao grupo controle.

Diversos estudos mostraram a relação do comportamento tipo depressivo no teste de nado forçado e dos níveis de corticosterona em roedores (Carini; Murgatroyd;

Nephew, 2013; Maguire; Mody, 2016). A corticosterona é um hormônio glicocorticoide produzido e secretado pelo córtex da glândula adrenal em roedores, que possui papel importante na cascata de eventos endócrinos ativados em resposta ao estresse (Sterner; Kalynchuk, 2010). Ao ser liberada na corrente sanguínea, a corticosterona age em diferentes tecidos, a fim de limitar as funções não essenciais do organismo e redirecionar energia para lidar com o agente estressor. No cérebro, esse hormônio controla a ativação do eixo HPA por meio do feedback negativo no hipotálamo (Herman; Cullinan, 1997).

Neste sentido, os resultados encontrados em nosso estudo sobre o comportamento tipo depressivo encontrado por meio do teste de nado forçado, nos leva a hipótese de que o aumento expressivo de tempo e frequência de imobilidade demonstrado pelas mães do grupo LCN tenha sido motivado pelos níveis elevados de corticosterona, o que nos faz avaliar a necessidade futura de novos estudos utilizando a metodologia LCN juntamente com a avaliação de dosagem de corticosterona, visto que o estresse causado pelo ambiente estressor da LCN foi capaz de desenvolver comportamentos tipo-depressivos nas progenitoras LCN.

O que demonstra que o estresse vivido no período perinatal é capaz de induzir comportamentos tipo depressivos maternos, e visto o alto número atualmente de casos de depressão pós-parto em mães humanas e os prejuízos que a DPP pode trazer à mãe e a prole, reforça-se a necessidade de maiores cuidados e amparo para mães no período perinatal, como possibilitar o oferecimento de suporte psicológico a essas mães, melhorando substancialmente a sua qualidade de vida e daqueles que com ela convivem.

8.1.5 Expressão da proteína GFAP no córtex e hipocampo pela técnica de *Western Blotting*

Os astrócitos compreendem a população mais abundante da glia no cérebro de mamíferos e são fundamentais para a boa funcionalidade do SNC, uma vez que participam de eventos como migração neuronal, proteção contra o estresse oxidativo, composição da barreira hematoencefálica, transmissões sinápticas e resposta imune com secreção de citocinas pró-inflamatórias (Volterra; Meldolesi, 2005). A ativação dos astrócitos está associada à expressão de uma proteína, chamada de Proteína

Glial Fibrilar Ácida (GFAP). A GFAP é a principal subunidade proteica dos filamentos intermediários gliais, sendo a principal estrutura dos astrócitos maduros (Li *et al.*, 2019; Menard, Hodes e Russo, 2016). A GFAP constitui o principal biomarcador de astrócitos, e é um tipo de filamento intermediário que compõe o citoesqueleto da célula astrocitária (Rodnight *et al.*, 1997).

A GFAP se altera devido a interferências no desenvolvimento ou no sistema nervoso central. A expressão de GFAP é regulada sob a influência de fatores neuronais e expressão de citocinas e/ou mediadores inflamatórios (Li *et al.*, 2019; Menard, Hodes e Russo, 2016).

A capacidade de respostas dos astrócitos ao sistema nervoso comprometido (lesão, inflamação, drogas de abuso, doença neuropsiquiátrica) varia de astrocitopatia a astrogliose, incluindo expressão gênica e tamanho celular reduzidos, aumento da expressão de GFAP, tamanho celular e liberação moléculas pró- inflamatórias. Um grande número de pesquisas na literatura indica adaptações e alterações de células gliais, como, os astrócitos quando relacionadas as doenças e transtornos neuropsiquiátricos (Kim *et al.*, 2017; Pekny *et al.*, 2016; Sofroniew; Vinters, 2010).

De acordo com a literatura, as áreas cerebrais responsáveis pelas respostas ao medo e pela memória são o córtex pré-frontal e regiões do hipocampo (Lehner *et al.*, 2015; Milad *et al.*, 2006).

No presente estudo ao final do experimento no PND 9 as mães foram eutanasiadas para retiradas das estruturas encefálicas hipocampo e córtex e foi realizada a quantificação da expressão da proteína GFAP por meio da técnica de *Western Blotting*. E observou-se um aumento acentuado da expressão da proteína GFAP no córtex pré-frontal das progenitoras LCN quando comparadas as progenitoras do grupo controle, ou seja, foi observado então astrogliose no córtex pré frontal nas mães do grupo LCN. Em relação a expressão da proteína GFAP no hipocampo verificou-se que não houve diferença nos parâmetros avaliados no grupo de mães LCN quando comparadas ao grupo Controle, demonstrando que a LCN não afetou a expressão desta proteína no hipocampo das progenitoras expostas ao ambiente estressor.

Ribeiro (2020) em seu estudo verificou que a síndrome metabólica ou diabetes acentua os sintomas semelhantes ao transtorno do estresse pós-traumático (TEPT) e a ativação glial, no estudo que utilizou ratos machos adultos, os grupos de animais

foram expostos ou não ao choque inescapável e isolamento social para mimetizar o TEPT, assim como foi induzida nos animais a síndrome metabólica com o consumo de frutose e diabetes com o consumo de aloxana, e por meio da técnica de *western blotting* avaliou-se a expressão da proteína GFAP no Córtex pré-frontal, e observou-se que o grupo exposto ao choque e com síndrome metabólica apresentou um aumento mais acentuado da porcentagem da expressão da proteína GFAP no Córtex pré-frontal quando comparado como grupo controle. Concordando então com os resultados obtidos em nosso estudo, onde o estresse causado nas progenitoras por meio do ambiente estressor LCN acarretou no aumento da expressão da proteína GFAP no córtex pré-frontal.

As alterações no córtex pré-frontal em quadros depressivos estão relacionadas à atenção, à psicomotricidade, capacidade executiva e de tomada de decisão, além de alterações na anatomia como a redução dessa região também estaria implicada na fisiopatologia da depressão (Lorenzetti, *et al.*, 2009; Maletic, *et al.*, 2009; Zandio, *et al.*, 2002). Outros estudos após a indução do estresse crônico (lesão cerebral leve e repetida em camundongos, exposição ao choque em ratos, etc.) demonstram um aumento de GFAP em áreas cerebrais como córtex pré-frontal na avaliação imunohistoquímica (Broussard *et al.*, 2018; Jones *et al.*, 2018; Kamnaksh *et al.*, 2011).

Portanto na somatória de nossos resultados em relação aos achados no teste de nado forçado e na quantificação da expressão da proteína GFAP, observou-se que as progenitoras do grupo LCN apresentaram maior tempo e frequência de imobilidade, assim como um aumento acentuado na expressão da proteína GFAP no córtex pré-frontal destas progenitoras. O que podemos concluir que por meio da exposição ao estresse gerado pelo ambiente estressor LCN desencadeou nas progenitoras parâmetros tipo depressivos maternos e conseqüentemente astrogliose no córtex pré-frontal.

8.2 DISCUSSÃO SOBRE O GANHO DE PESO CORPORAL E TESTE DE DESENVOLVIMENTO INICIAL E REFLEXOLÓGICO DA PROLE

8.2.1 Avaliação do ganho de peso corporal da prole

As chances de adoecer e de mortalidade são maiores, em crianças com estado nutricional (EM) inadequado nos primeiros meses de vida. Fatores de risco para o EM inadequado, incluem os aspectos psicossociais maternos, como a ansiedade, a depressão pós-parto (DPP), a ausência de suporte social (Martins, 2004).

Rahman *et al*, 2004 em seu estudo com humanos, com o objetivo de investigar a depressão materna como um fator de risco para desnutrição em crianças, avaliaram uma coorte de 160 bebês de mães deprimidas e 160 bebês de mães que não apresentavam sintomas de depressão, concluindo que filhos de mães deprimidas apresentaram um retardo do crescimento significativamente maior do que o grupo controle. A depressão em mães de crianças com crescimento deficitário durante os 4 meses e aos dois primeiros anos de vida foi significativamente maior do que em mães de crianças, na mesma idade, que ganharam peso adequado (O' Brien *et al.*,2004).

Em nosso estudo com o intuito de verificar se o estresse desenvolvido pelo ambiente estressor da LCN foi capaz de impactar no ganho de peso da prole, acompanhou-se o peso da prole de ambos os grupos durante todo o período experimental. Sendo que os filhotes foram pesados em ninhada a cada 2 dias até o PND9. E pode-se verificar que os filhotes machos de mães do grupo LCN apresentou uma redução no ganho de peso em relação aos filhotes machos de mães do grupo controle, sendo observada essa redução entre os PND 7 a PND 9. Os filhotes fêmeas de ambos os grupos não apresentaram diferença em relação ao ganho de peso.

Estudos realizados por Goodwill *et al.*, (2019), o qual utilizou um modelo animal semelhante de estresse perinatal, em ratos colocados em gaiolas com o fundo de arame e o material para construção do ninho de algodão, observou que os filhotes machos e fêmeas submetidos ao estresse precoce apresentaram 17,4% de peso a menos do que o grupo controle (Goodwill, *et al.*, 2019). Porém o acompanhamento do ganho de peso no estudo ocorreu no período do PND 12 ao PND 60, diferentemente do que foi feito em nosso estudo, em que o acompanhamento do ganho de peso ocorreu desde o PND 1 ao PND 9, ou seja, um período reduzido em relação ao estudo de Goodwill *et al.*, (2019), podendo então, levantarmos a hipótese de que o período

reduzido de acompanhamento de ganho de peso em nosso estudo pode ter causado impacto nos resultados de ganho de peso dos filhotes fêmeas de ambos os grupos.

No estudo de Vilela (2011) que avaliou a influência da dexametasona (DEXA) nas respostas neuroendócrinas e comportamentais durante a lactação de ratas wistar adultas. Verificou o efeito da DEXA sobre as concentrações plasmáticas de ocitocina e prolactina, que são hormônios envolvidos no comportamento materno, e observou-se que a DEXA foi capaz de reduzir os níveis de ocitocina e prolactina o que sugeriu que a diminuição na secreção destes influenciou na interrupção do comportamento materno. E o tratamento com a dexametasona, assim como em nosso estudo, também promoveu uma diminuição no ganho de peso da ninhada, o que de acordo com o estudo, é devido ao fato de que a ejeção de leite ocorre apenas durante os picos plasmáticos de ocitocina, a diminuição dos níveis de ocitocina durante a lactação em ratas tratadas com dexametasona pode resultar em menor transferência de leite para os filhotes, representando assim um menor ganho de peso da ninhada.

Portanto podemos levantar a hipótese que de acordo com os resultados encontrados em nosso estudo, onde observamos que o comportamento materno foi reduzido, os níveis de ocitocina e prolactina também podem ter sido reduzidos interferindo então na amamentação por parte dos filhotes machos de mães LCN o que conseqüentemente reduziu o ganho de peso destes filhotes.

8.2.2 Avaliação do teste de Desenvolvimento Inicial e reflexológico

Para a avaliação do desenvolvimento físico dos animais foram observados os dias de ocorrência dos seguintes parâmetros: desdobraimento das orelhas, abertura dos olhos, erupção dos dentes incisivos e nascimento de pelos. Essas observações foram realizadas, diretamente, em cada filhote, um macho e uma fêmea de cada ninhada, durante a lactação. E para avaliação do desenvolvimento dos reflexos, os parâmetros observados foram: dia de ocorrência do reflexo de preensão palmar, do reflexo de endireitamento de postura, do reflexo de geotaxia negativa e do dia de andar adulto (Veronesi *et al.*, 2017).

Os resultados encontrados em nosso estudo sobre o desenvolvimento inicial e reflexológico da prole, foi que os filhotes machos do grupo LCN apresentou atraso para apresentar o reflexo geotaxia negativa e houve atraso no dia de apresentar o

endireitamento da postura nos filhotes fêmeas do grupo LCN quando comparados à prole do grupo controle. Para os demais parâmetros, os grupos não diferiram entre si.

O parâmetro geotaxia negativa é um reflexo que requer coordenação motora precisa, diferentemente dos outros reflexos avaliados. No presente trabalho foi observado que apenas os filhotes machos de progenitoras expostas ao ambiente estressor LCN foram retardatários na realização da tarefa, indicando, assim, que os machos, mas não as fêmeas, apresentaram prejuízos em relação a coordenação motora fina (Patin *et al.*, 2002).

O estudo de Sá (2021), que investigou os possíveis prejuízos na cognição da prole decorrentes do Transtorno de Estresse Pós-traumático (TEPT) gestacional, utilizando-se ratas *Wistar* prenhas, as quais foram induzidas ao TEPT por choque na pata, seguido de isolamento social, verificou que o grupo choque apresentou maior tempo para realização do reflexo de geotaxia negativa. Corroborando então com o nosso estudo em relação a hipótese de que as progenitoras expostas ao estresse perinatal podem impactar no atraso do desenvolvimento inicial reflexológico da prole.

O reflexo de endireitamento, conhecido como reflexo de endireitamento labiríntico, é um reflexo que corrige a orientação do corpo quando não está na sua posição vertical normal. O sistema vestibular é responsável pela detecção quando o corpo não está ereto e faz com que a cabeça volte a se posicionar à medida que o resto do corpo o segue. O reflexo usa uma combinação de entradas do sistema visual, entradas vestibulares e entradas somatossensoriais para fazer ajustes posturais quando o corpo se desloca de sua posição vertical normal (Secher *et al.*, 2006).

Em nosso estudo podemos observar que houve um atraso no dia de desenvolver o parâmetro endireitamento da postura pelos filhotes fêmeas do grupo LCN. De acordo com Secher *et al.* (2006) o teste de desenvolvimento do reflexo endireitamento da postura é importante para avaliar a capacidade sensorio-motora-cerebelar e o atraso aqui observado pelos filhotes fêmeas do grupo LCN, pode indicar então uma maturação mais lenta desse órgão.

Portanto podemos verificar em nosso estudo que a redução no comportamento materno e o desenvolvimento de parâmetros tipo depressivos maternos por parte das mães do grupo LCN impactou em um atraso no desenvolvimento inicial reflexológico da prole de mães expostas ao ambiente estressor LCN.

9 CONCLUSÃO

Conclui-se, portanto que a limitação na construção do ninho (LCN) foi capaz de induzir efeitos sobre o desenvolvimento de parâmetros tipo-depressivos maternos e na redução nos cuidados maternos, acompanhados por astrogliose no córtex pré-frontal, assim como impactos no desenvolvimento inicial reflexológico da prole.

A somatória de nossos resultados, sugere então que a LCN foi capaz de reduzir o comportamento materno em mães submetidas a este ambiente estressor, assim parâmetros tipo depressivos materno e conseqüentemente astrogliose no cortex pré-frontal, os quais trouxeram impactos no ganho de peso e desenvolvimento inicial da prole.

REFERÊNCIAS

- ALBERT, D. J.; JONIK, R. H.; WALSH, M. L. Hormone-dependent aggression in male and female rats: experiential, hormonal, and neural foundations. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, British Columbia, Canadá, v. 16, n. 2, p. 177-192, 1992.
- ALMEIDA, R.N.; NÓBREGA, F.F.F.; BRAGA, J.E.F.; OLIVEIRA, L.E.G.; SÁ, R.C.S. Modelos animais para o estudo de drogas antidepressivas. In: CARLINI, E.A.; MENDES, F.R. **Protocolos em psicofarmacologia comportamental**. São Paulo: Editora Fap-Unifesp, p.267-291, 2011.
- ALMOND, Palo. Postnatal depression: a global public health perspective. **Perspectives in public health**, Southampton, v. 129, n. 5, p. 221-227, 2009.
- AMUGONGO, Sarah K.; HLUSKO, Leslea J. Impact of maternal prenatal stress on growth of the offspring. **Aging and disease**, Berkeley-USA, v. 5, n. 1, p. 1, 2014.
- ANAND, K. J. S.; SCALZO, Frank M. Can adverse neonatal experiences alter brain development and subsequent behavior? **Neonatology**, USA, v. 77, n. 2, p. 69-82, 2000.
- APFELBACH, Raimund *et al.* The effects of predator odors in mammalian prey species: a review of field and laboratory studies. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, Germany, v. 29, n. 8, p. 1123-1144, 2005.
- BARBA-MÜLLER, Erika *et al.* Brain plasticity in pregnancy and the postpartum period: links to maternal caregiving and mental health. **Archives of women's mental health**, Barcelona, Spain, v. 22, p. 289-299, 2019.
- BOURKE, Chase H.; NEIGH, Gretchen N. Exposure to repeated maternal aggression induces depressive-like behavior and increases startle in adult female rats. **Behavioural brain research**, Atlanta, GA, United States, v. 227, n. 1, p. 270-275, 2012.
- BRIDGES, Robert S. Long-term alterations in neural and endocrine processes induced by motherhood in mammals. **Hormones and Behavior**, North Grafton, MA, USA, v. 77, p. 193-203, 2016.
- BROUSSARD, John I. *et al.* Repeated mild traumatic brain injury produces neuroinflammation, anxiety-like behaviour and impaired spatial memory in mice. **Brain injury**, Houston, TX, USA, v. 32, n. 1, p. 113-122, 2018.
- BRUNNER, M. A. C. *et al.* Prevalência da depressão pós-parto entre mulheres assistidas no ambulatório de pós-natal do Instituto Fernandes Figueira-Fiocruz. Tese de Doutorado. **Instituto Fernandes Figueira**. Rio de Janeiro, RJ, Brasil, 2011.
- BURT, VIVIEN K. *et al.* Mood disorders in women: Focus on reproductive psychiatry in the 21st century. **Journal of Population Therapeutics and Clinical Pharmacology**, California, Los Angeles, v. 16, n. 1, 2009.

CARINI, L.M.; MURGATROYD, C.A.; NEPHEW, B.C. Using chronic social stress to model postpartum depression in lactating rodents. **Journal of Visualized Experiments**, Cambridge, MA, v.76, n.e50324, 2013.

CLIFFE, Susan *et al.* Maternal deaths in New South Wales, Australia: a data linkage project. **Australian and New Zealand journal of obstetrics and gynaecology**, Sydney, Australia, v. 48, n. 3, p. 255-260, 2008.

CORWIN, Elizabeth J.; PAJER, Kathleen. The psychoneuroimmunology of postpartum depression. **Journal of women's health**, Atlanta, Geórgia, v. 17, n. 9, p. 1529-1534, 2008.

COX, JOHN, AND JENI HOLDEN. Perinatal mental health: A guide to the Edinburgh Postnatal Depression Scale (EPDS). **Royal College of Psychiatrists**, Washington, DC, 2003.

CRYAN, J.F.; MARKOU, A.; LUCKI, I. Assessing antidepressant activity in rodents: recent developments and future needs. **Trends in Pharmacological Sciences**, Switzerland, v23, n.5, p.238-245, 2002.

DAYAN, J. Clinical approach and epidemiological aspects of mood and anxiety disorders during pregnancy and postpartum. Review and synthesis. **Journal de Gynecologie, Obstetrique et Biologie de la Reproduction**, France, v. 36, n. 6, p. 549-561, 2007.

DE BELLIS, M.D.; KESHAVAN, M.S.; CLARK, D.B.; GIEDD, J.N.; BORING, A.M.; FRUSTACI, K.; RYAN, N.D. Developmental Traumatology. Part II: Brain development. **Biological psychiatry**, Pennsylvania, USA, v.45, n.10, p.1235-1236, 1999.

DEL CERRO, M. C. R., PEREZ-LASO, C., ORTEGA, E., MARTÍN, J. L. R., GOMEZ, F., PEREZ-IZQUIERDO, M. A., & SEGOVIA, S. Maternal care counteracts behavioral effects of prenatal environmental stress in female rats. **Behavioural brain research**, Madrid, Spain, v. 208, n. 2, p. 593-602, 2010.

DOHLER, K. D. The pre-and postnatal influence of hormones and neurotransmitters on sexual differentiation of the mammalian hypothalamus. **International Review Cytoogylogy**, Germany, v. 131, p. 1-57, 1991.

DOHLER, M., & MANOW, P. (1991). Korporatisierung als gesundheitspolitische Strategie (nº 91/9). **Documento de Discussão MPIfG**. Germany, 1991.

DUMAN, Ronald S. *et al.* Synaptic plasticity and depression: new insights from stress and rapid-acting antidepressants. **Nature medicine**, Connecticut, USA, v. 22, n. 3, p. 238-249, 2016.

ENGIN, E.; TREIT, D.; DICKSON, C.T. Anxiolytic- and antidepressant-like properties of ketamine in behavioral and neurophysiological animal models. **Neuroscience**, Alberta, Canada, v.161, n.2, p.359-369, 2009.

FLEMING, A. S.; ROSENBLATT, J. S. Olfactory regulation of maternal behavior in rats: I. Effects of olfactory bulb removal in experienced and inexperienced lactating and

cycling females. **Journal of Comparative. Physiological. Psychology**, Washington, DC, v. 86, p. 221-232, 1974.

FLEMING, A. S.; WALSH, C. Neuropsychology of maternal behavior in the rat: c-fos expression during mother-litter interactions. **Psychoneuroendocrinology**, Washington, DC, v. 19, p. 429-443, 1994.

FRIEDMAN, S.H.; RESNICK, P.J. Postpartum depression: an update. **Women's Health**, Estados Unidos, v.5, n.3, p.287–295, 2009.

GALLO, Meghan *et al.* Limited bedding and nesting induces maternal behavior resembling both hypervigilance and abuse. **Frontiers in Behavioral Neuroscience**, Providence, RI, United States, v. 13, p. 167, 2019.

GAVIN, Norma I. *et al.* Perinatal depression: a systematic review of prevalence and incidence. **Obstetrics & Gynecology**, Chapel Hill, North Carolina, v. 106, n. 5 Part 1, p. 1071-1083, 2005.

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

GOVINDARAJ S, SHANMUGANATHAN A, RAJAN R. Maternal psychological stress-induced developmental disability, neonatal mortality and stillbirth in the offspring of Wistar albino rats. **PLoS One**, Chennai, India, Vol 12, n° 2, e0171089, 2017.

GRAMMIE, S. C.; NELSON, R. J. cFOS and pCREB activation and maternal aggression in mice. **Brain Research**, Baltimore, USA, v. 898, p. 232-241, 2005.

GROTA, Lee J.; ADER, Robert. Continuous recording of maternal behaviour in *Rattus norvegicus*. **Animal behaviour**, Rochester, N.Y., USA, v. 17, n. 4, p. 722-729, 1969.

GOMES, F. C. A.; TORTELLI, V.P.; DINIZ, L. Glia: dos velhos conceitos às novas funções de hoje e as que ainda virão. **Estudos avançados**, Rio de Janeiro-Brasil, v. 27, p. 61-84, 2013.

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

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

HERMAN, J.P.; CULLINAN, W.E. Neurocircuitry of stress: central control of the hypothalamo–pituitary–adrenocortical axis. **Trends in Neurosciences**, Lexington, KY, USA, v.20, n.2, p.78–84, 1997.

HILLERER, K.M., JACOBS, V.R., FISCHER, T., AIGNER, L. The maternal brain: an organ with peripartal plasticity. **Neural plasticity**, Salzburg, Austria, v. 2014, 2014.

HILLERER, K.M., NEUMANN, I.D., SLATTERY, D.A. From stress to postpartum mood and anxiety disorders: how chronic peripartum stress can impair maternal adaptations. **Neuroendocrinology**, Salzburg, Austria, v. 95, n. 1, p. 22-38, 2012.

HOLST, C.B. et.al. Astroglialogenesis in human fetal brain: complex spatiotemporal immunoreactivity patterns of GFAP, S100, AQP 4 and YKL-40. **Journal of Anatomy**, Copenhagen, Denmark, v. 235, n. 3, p. 590-615, 2019.

INSEL, T. R & YOUNG, L. J. The neurobiology of attachment. **Nature Reviews Neuroscience**, Georgia, USA, v. 2, n. 2, p. 129-136, 2001.

IVY AS, BRUNSON KL, SANDMAN C, BARAM TZ. Dysfunctional nurturing behavior in rat dams with limited access to nesting material: a clinically relevant model for early-life stress. **Neuroscience**, Irvine, CA, USA, v. 154, n. 3, p. 1132-1142, 2008.

JONES, J. P. *et al.* Art therapy interventions for active duty military service members with post-traumatic stress disorder and traumatic brain injury. **International Journal of Art Therapy Formerly Inscape**, USA, v. 23, n. 2, 2018.

KAMNAKSH, A. *et al.* Factors affecting blast traumatic brain injury. **J Neurotrauma**, Bethesda, Maryland, v. 28, n. 10, p. 2145-2153, Oct. 2011.

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**, Pullman, WA, USA, v. 54, n. 4, p. 337-347, 2013.

KIM, S. K.; NABEKURA, J.; KOIZUMI, S. Astrocyte-mediated synapse remodeling in the pathological brain. **Glia**, Seoul, Korea, v. 65, n. 11, p. 1719-1727, Nov. 2017.

KINSLEY CH, BARDI M, KARELINA K, RIMA B, CHRISTON L, FRIEDENBERG J, *et al.* KINSLEY, Craig Howard *et al.* Motherhood induces and maintains behavioral and neural plasticity across the lifespan in the rat. **Archives of sexual behavior**, Richmond, VA, USA, v. 37, p. 43-56, 2008.

KINSLEY, C. H., MADONIA, L., GIFFORD, G. W., TURESKI, K., GRIFFIN, G. R., LOWRY, C., & LAMBERT, K. G. Motherhood improves learning and memory. **Nature**, Richmond, VA, USA, v. 402, n. 6758, p. 137-138, 1999.

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

KREUTZBERG, G. W. Microglia: a sensor for pathological events in the CNS. **Trends in neurosciences**, Germany, v. 19, n. 8, p. 312-318, Aug. 1996.

LEHNER, M. *et al.* Chronic restraint increases apoptosis in the hippocampus of rats with high responsiveness to fear stimuli. **Neuroscience Letters**, Warsaw, Poland, v. 586, p. 55-59, Jan. 2015.

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

LIU, W.; GE, T.; LENG, Y. *et al.* The role of neural plasticity in depression: from hippocampus to prefrontal cortex. **Neural plasticity**, Changchun, China, v. 2017, 2017.

LORENZETTI, V.; ALLENB, N.B.; FORNITOA, A.; YÜCEL, M. Structural brain abnormalities in major depressive disorder: a selective review of recent MRI studies. **Journal of affective disorders**, Melbourne, VIC, Australia, v. 117, n. 1-2, p. 1-17, 2009.

LUCKI, I. The forced swimming test as a model for core and component behavioral effects of antidepressant drugs. **Behavioral Pharmacology**, Philadelphia, PA, USA, v.8, n.6-7, p.523–532, 1997.

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

MAGUIRE, J.; MODY, I. Behavioral deficits in juveniles mediated by maternal stress hormones in mice. **Neural Plasticity**, Boston, MA, USA, v.16, p.1-13, 2016.

MALETIC V, RAISON CL. Neurobiology of depression, fibromyalgia and neuropathic pain. **Front Biosci**, Columbia, SC, v. 14, p. 5291-338, 2009

MANIAM, JAYANTHI; MORRIS, MARGARET J. Long-term postpartum anxiety and depression-like behavior in mother rats subjected to maternal separation are ameliorated by palatable high fat diet. **Behavioural brain research**, Australia, v. 208, n. 1, p. 72-79, 2010.

MANN, P. E. Finasteride delays the onset of maternal behavior in primigravid rats. **Physiology Behavior**. Grafton, MA, USA, v. 88, p. 333-338, 2006.

MARAIS, LELANIE *et al.* Maternal separation of rat pups increases the risk of developing depressive-like behavior after subsequent chronic stress by altering corticosterone and neurotrophin levels in the hippocampus. **Neuroscience research**, Tygerberg, South Africa, v. 61, n. 1, pág. 106-112, 2008.

MARCUS, SHEILA M. *et al.* Depression during pregnancy: rates, risks and consequences. **Journal of Population Therapeutics and Clinical Pharmacology**, Michigan, USA, v. 16, n. 1, 2009.

MARTINS, M.F.D. *et al.* Qualidade do ambiente e fatores associados: um estudo em crianças de Pelotas, Rio Grande do Sul, Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 20, n.3, 2004.

MATTSON, B. J. *et al.* Comparison of two positive reinforcing stimuli: pups and cocaine throughout the postpartum period. **Behavioral Neuroscience**, Washington, DC v. 115, p. 683-694, 2001.

MCEWEN, B. S. Protective and damaging effects of stress mediators. **New England journal of medicine**, New York, NY, v. 338, n. 3, p. 171-179, 2000.

MCEWEN, Bruce S.; WINGFIELD, J. C. The concept of allostasis in biology and biomedicine. **Hormones and behavior**, New York, NY, v. 43, n. 1, p. 2-15, 2003.

MELTZER-BRODY, S. New insights into perinatal depression: pathogenesis and treatment during pregnancy and postpartum. **Dialogues in clinical neuroscience**, Chapel Hill, North Carolina, USA, v. 13, n. 1, p. 89, 2011.

MENARD, C.; HODES, G.E.; RUSSO, S.J. Pathogenesis of depression: insights from human and rodent studies. **Neuroscience**, New York, NY, USA, v.3; n.321, p.138–162, 2016.

MESQUITA, B. *et al.* The cultural regulation of emotions. **Handbook of emotion regulation**, USA, v. 486, p. 503, 2007.

MILAD, Mohammed R. *et al.* Fear extinction in rats: implications for human brain Imaging and anxiety disorders. **Biological Psychology**, Charlestown, MA, USA, v. 73, n. 1, p. 61-71. July 2006.

MORICEAU, S. & SULLIVAN, R. M. Neurobiology of infant attachment. **Developmental Psychobiology: The Journal of the International Society for Developmental Psychobiology**, Oklahoma Norman, OK, v. 47, n. 3, p. 230-242, 2005.

MOUSSAOUI N, LARAUCHE M, BIRAUD M, MOLET J, MILLION M, MAYER E, *et al.* Limited nesting stress alters maternal behavior and in vivo intestinal permeability in male wistar pup rats. **PLoS one**, Los Angeles, California, United States of America, v. 11, n. 5, p. e0155037, 2016.

MUNCK A, GUYRE PM, HOLBROOK NJ. Physiological functions of glucocorticoids in stress and their relation to pharmacological actions. **Endocrine reviews**, New Hampshire, v. 5, n. 1, p. 25-44, 1984.

NAERT, GAËLLE; RIVEST, SERGE. CC chemokine receptor 2 deficiency aggravates cognitive impairments and amyloid pathology in a transgenic mouse model of Alzheimer's disease. **Journal of Neuroscience**, Québec, QC, Canada, v. 31, n. 16, p. 6208-6220, 2011.

NGUYEN, A.J., HOYER, E., RAJHANS, P., KIM, S. A tumultuous transition to motherhood: Altered brain and hormonal responses in mothers with postpartum depression. **Journal of neuroendocrinology**, Houston, TX, USA, v. 31, n. 9, p. e12794, 2019.

NOLDUS, L. P. J. J.; J. SPINK, A. J.; TEGELENBOSCH, R. A. J. EthoVision: A versatile video tracking system for automation of behavioral experiments. **Behavior Research Methods, Instruments, & Computers**, Netherlands, v. 33, n. 3, p. 398-414, 2001.

NUMAN, M. A neural circuitry analysis of maternal behavior in the rat. **Acta Paediatrica Supplement**, Massachusetts, USA, v. 397, p. 19-28, 1994.

NUMAN, M. Maternal behavior: In: Knobil, E.; Neill, J. D., eds. **The physiology of reproduction**, Massachusetts, USA, 2 ed. New York: Raven Press. Cap 37, p. 221-302, 1994.

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

NUNES AJ, SALES MCV. Violência contra crianças no cenário brasileiro. **Ciencia & saude coletiva**, Piauí, Brasil, v. 21, p. 871-880, 2016.

O'BRIEN, L.M.; HEYCOCK, E.G.; HANNA, M.; JONES, P.W.; COX, J.L. Post-natal depression and faltering growth: a community study. **Pediatrics**, Louisville, KY, v. 113, p. 1242-1247, 2004.

OATES M. Suicide: the leading cause of maternal death. **The British Journal of Psychiatry**, Cambridge, v. 183, n. 4, p. 279-281, 2003.

OBERHEIM NA, GOLDMAN SA, NEDERGAARD M. Heterogeneity of astrocytic form and function. **Astrocytes: Methods and protocols**, Rochester, NY, USA, p. 23-45, 2012.

OLAZÁBAL, D. E., PEREIRA, M., AGRATI, D., FERREIRA, A., FLEMING, A. S., GONZÁLEZ-MARISCAL, G. & URIARTE, N. Flexibility and adaptation of the neural substrate that supports maternal behavior in mammals. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, Montevideo, Uruguay, v. 37, n. 8, p. 1875-1892, 2013.

ORSO R, CREUTZBERG KC, WEARICK-SILVA LE, WENDT VIOLA T, TRACTENBERG SG, BENETTI F, *et al.* How Early Life Stress Impact Maternal Care: A Systematic Review of Rodent Studies. **Frontiers in Behavioral Neuroscience**, Milan, Italy, v. 13, p. 197, 2019.

PADOVAN, C. M.; GUIMARÃES, F. S.; Antidepressant-like effects of NMDA-receptor antagonist injected into the dorsal hippocampus of rats. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, Ribeirão Preto, SP, Brasil, v. 77, n. 1, p. 15-19, 2004.

PATIN V, LORDI B, VINCENT A, THOUMAS JL, VAUDRY H, CASTON J. Effects of prenatal stress on maternal behavior in the rat. **Brain Res Dev Brain Res**. Mont-Saint-Aignan Cedex, France, Vol 139, nº 1, pg 1-8, 2002.

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

PAUK, J.; KHUN, C. M.; FIELD. T. M. & SHAMBERG, S.M. Positive effects of tactile PAWLUSKI, J.L.; LONSTEIN, J.S.; FLEMING, A.S. The neurobiology of postpartum anxiety and depression. **Trends in Neurosciences**, France, v.40, n.2, p.106-120, 2017.

PAYNE, J.L.; MAGUIRE, J. Pathophysiological mechanisms implicated in postpartum depression. **Frontiers in Neuroendocrinology**, Baltimore, USA, v.52, p.165-180, 2019.

PEKNY, Milos *et al.* Astrocytes: a central element in neurological diseases. **Acta neuropathologica**, Berlim, Alemanha, v. 131, p. 323-345, 2016.

POPOOLA DO, CAMERON NM. Maternal care-related differences in males and females rats' sensitivity to ethanol and the associations between the GABAergic system and steroids in males. **Developmental psychobiology**. Binghamton, New York, Vol 60, nº4, 380-394, 2018.

POWELL, T.R.; FERNANDES, C.; SCHALKWYK, L.C. Depression-related behavioral tests. **Current Protocols in Mouse Biology**, London, United Kingdom, v.2, n.2, p.119-127, 2012.

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

RAHMAN, A.; LOVEL, R.; BUNN, J.; IQBAL, Z.; HARRINGTON, R. Mothers' mental health and infant growth: a case-control study from Rawalpindi, Pakistan. **Child: Care, Health and Development**, Manchester, UK, v. 30, p.21-27, 2004.

RANSOM, B. R.; KETTENMANN, H. Electrical coupling, without dye coupling, between mammalian astrocytes and oligodendrocytes in cell culture. **Glia**, Federal Republic of Germany, v. 3, n. 4, p. 258-66, 1990.

RATES SM, DE MELO EM, MASCARENHAS MD, MALTA DC. Violence against children: an analysis of mandatory reporting of violence, Brazil 2011. **Ciência & Saúde Coletiva**, Belo Horizonte, MG, Brasil, v. 20, p. 655-665, 2015.

REMICK, Ronald A. Diagnosis and management of depression in primary care: a clinical update and review. **Cmaj**, Vancouver, BC, v. 167, n. 11, p. 1253-1260, 2002.

RIBEIRO ACAF *et. al.* Metabolic syndrome accentuates post-traumatic stress disorder-like symptoms and glial activation. **Behavioural Brain Research**, Alfenas, MG, Brasil, v.384, p.112557, 2020.

RINCÓN-CORTÉS, M.; SULLIVAN, R. M. Emergence of social behavior deficit, blunted corticolimbic activity and adult depression-like behavior in a rodent model of maternal maltreatment. **Translational psychiatry**, New York, NY, USA, v. 6, n. 10, p. e930-e930, 2016.

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

RODNIGHT, R. *et al.* Control of the phosphorylation of the astrocyte marker glial fibrillary acidic protein (GFAP) in the immature rat hippocampus by glutamate and calcium ions: possible key factor in astrocytic plasticity. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, Porto Alegre, RS, Brasil, v. 30, p. 325-338, 1997.

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 Biociências aplicadas à saúde) - **Universidade Federal de Alfenas**, Alfenas, MG, 2021.

SCHULKIN, J. Corticotropin-releasing hormone signals adversity in both the placenta and the brain: regulation by glucocorticoids and allostatic overload. **Journal of Endocrinology**, Washington DC, USA, v. 161, n. 3, p. 349-356, 1999.

SEADY, M. P. Efeito da Curcumina e Piperina, Compostos Presente no Curry, em Cultura primária de astrócitos de ratos Wistar em condições normais ou inflamatórias. Dissertação (Mestrado em Bioquímica) - Programa De Pós-Graduação Em Ciências Biológicas - **Universidade Federal Do Rio Grande Do Sul**. Porto Alegre, 2018.

SECHER T, NOVITSKAIA V, BEREZIN V, BOCK E, GLENTHOJ B, KLEMENTIEV B. A neural cell adhesion molecule-derived fibroblast growth factor receptor agonist, the FGL-peptide, promotes early postnatal sensorimotor development and enhances social memory retention. **Neuroscience**, Copenhagen, DK, Denmark, v.141, n. 3, p. 1289-1299, 2006.

SELYE, Hans. Stress and psychiatry. **American Journal of Psychiatry**, Washington, DC, v. 113, n. 5, p. 423-427, 1956.

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

STERN, JUDITH M., SUSAN K. JOHNSON. Ventral somatosensory determinants of nursing behavior in Norway rats. I. Effects of variations in the quality and quantity of pup stimuli. **Physiology & behavior**, New Brunswick, USA, v. 47, n. 5, p. 993-1011, 1990.

STERNER, E.Y.; KALYNCHUK, L.E. Behavioral and neurobiological consequences of prolonged glucocorticoid exposure in rats: Relevance to depression. **Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry**, Saskatoon, SK, Canadá, v.34, n.5, p.777–790, 2010.

SOFRONIEW, Michael V.; VINTERS, Harry V. Astrocytes: biology and pathology. **Acta neuropathologica**, Los Angeles, CA, USA, v. 119, p. 7-35, 2010.

SULLIVAN, R. M. Developing a sense of safety. The neurobiology of neonatal. **Annals of the New York Academy of Sciences**, New York, USA, v. 1008, n. 1, p. 122-131, 2003.

TAN, Siang Yong; YIP, Angela. Hans Selye (1907–1982): Founder of the stress theory. **Singapore medical journal**, Honolulu, USA, v. 59, n. 4, p. 170, 2018.

TEODOROV, Elizabeth; FELICIO, Luciano Freitas; BERNARDI, Maria Martha. Maternal behavior. In: **Rodent Model as Tools in Ethical Biomedical Research**. Cham: Springer International Publishing, Santo André, São Paulo, Brasil, p. 253-270, 2016.

TEODOROV, E.; FELÍCIO, L. F.; BERNARDI, M. M. Maternal behavior. In: ANDERSEN, M.; TUFICK, S. (ed.). Animal models as ethical tools in biomedical research. **CLR Balieiro Editores**. São Paulo, Brasil, v. I, p. 149-162. 2010.

TILLER JWG. Depression and anxiety." **The Medical Journal of Australia**, Austrália, v. 1, n. 4, 2013.

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

VALLE, F. P. Effects of strain, sex, and illumination on open-field behavior of rats. **The American Journal of Psychology**, Illinois, v.83, p.103-111, 1970.

VERONESI VB, BATISTA TH, RIBEIRO AC, GIUSTI-PAIVA A, VILELA FC. Maternal dipyrone treatment during lactation in mice reduces maternal behavior and increases anxiety-like behavior in offspring. **International Journal of Developmental Neuroscience**, Alfenas, Minas Gerais, Brasil, v. 58, p. 74-81, 2017.

VILELA, F. C. Endocannabinóides modulam os efeitos inibitórios dos glicocorticóides sobre as respostas neuroendócrinas e comportamentais durante a lactação. 2011. 134 f. Tese (Doutorado Multicêntrico em Ciências Fisiológicas) - **Universidade Federal de Alfenas**, Alfenas, MG, 2011.

VILELA, FABIANA C.; GIUSTI-PAIVA, Alexandre. Cannabinoid receptor agonist disrupts behavioral and neuroendocrine responses during lactation. **Behavioural brain research**, Alfenas, Minas Gerais, Brasil, v. 263, p. 190-197, 2014.

VOLTERRA, A.; MELDOLESI, J. Astrocytes, from brain glue to communication elements: the revolution continues. **Nature Reviews Neuroscience**, Lausanne, Switzerland, v. 6, n. 8, p. 626-640, 2005.

WEAVER ICG, CERVONI N, CHAMPAGNE FA, D'ALESSIO AC, SHARMA S, SECKL JR, *et al.* Epigenetic programming by maternal behavior. **Nature neuroscience**, Montréal, Québec, Canadá, v. 7, n. 8, p. 847-854, 2004.

WILCOXON, JENNIFER SLONE. Behavioral inhibition and impaired spatial learning and memory in hypothyroid mice lacking thyroid hormone receptor α . **Behavioural brain research**, Chicago, USA, v. 177, n. 1, pág. 109-116, 2007.

XIA, B.; CHEN, C.; ZHANG, H.; XUE, W.; TANG, J.; TAO, W.; WU, R.; REN, L.; WANG, W.; CHEN, G. Chronic stress prior to pregnancy potentiated long-lasting postpartum depressive-like behavior, regulated by Akt-mTOR signaling in the hippocampus. **Scientific Report**, Nanjing, China, v.6, p.1-12, 2016.

ZANDIO, M.; FERRÍN, M.; CUESTA, M.J. Neurobiología de la depresión. In: **Anales del sistema sanitario de Navarra**. Pamplona, Navarra, Espanha, v. 25, p. 43-62, 2002.

YAN C-G, RINCÓN-CORTÉS M, RAINEKI C, SARRO E, COLCOMBE S, GUILFOYLE DN, *et al.* Aberrant development of intrinsic brain activity in a rat model of caregiver maltreatment of offspring. **Translational psychiatry**, New York, NY, USA, v. 7, n. 1, p. e1005-e1005, 2017.

YANKELEVITCH-YAHAV, R. *et al.* The Forced Swim Test as a Model of Depressive-like Behavior. **JoVE (Journal of Visualized Experiments)**, Tel Aviv-Yafo, Israel, v. 97, p. e52587, 2015.

YAO Y, ROBINSON AM, ZUCCHI FC, ROBBINS JC, BABENKO O, KOVALCHUK O, KOVALCHUK I, OLSON DM, METZ GA. Ancestral exposure to stress epigenetically programs preterm birth risk and adverse maternal and newborn outcomes. **BMC medicine**, Lethbridge, Canadá, v. 12, p. 1-12, 2014.

ANEXO

Comissão de Ética no Uso de Animais - CEUA/UNIFAL-MG

Certificado

Certificamos que a proposta intitulada **INFLUÊNCIA DA LIMITAÇÃO NA CONSTRUÇÃO DO NINHO NO COMPORTAMENTO E EM PARÂMETROS TIPO-DEPRESSIVOS MATERNS**, registrada com o nº **0006/2022**, sob a responsabilidade de **Alexandre Giusti Paiva**, que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de **pesquisa científica**, com vigência de **20/05/2022 a 30/04/2024**, encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA-UNIFAL) DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALFENAS.

Espécie/linhagem/raça	Total de animais	Total de machos	Total de fêmeas	Origem
Rato / Wistar	36	12	24	Biotério central

Alfenas, 24 de Maio de 2022

Prof(a). Dr(a). Pollyanna Francielli de Oliveira
Coordenador(a) do CEUA/UNIFAL - MG

Para verificar autenticidade acesse: <http://sistemas.unifal-mg.edu.br/app/ceua/autenticidadecertificado/> e digite a chave: 8d86a176c678f79d08a3dde89e81f34d

A
A