

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS NATURAIS E EXATAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS:
BIOQUÍMICA TOXICOLÓGICA

Daniele Leão de Freitas

**INFLUÊNCIA DA ESTIMULAÇÃO TÁTIL NEONATAL ASSOCIADA À
ADMINISTRAÇÃO DE ANTIDEPRESSIVO, SOBRE PARÂMETROS
COMPORTAMENTAIS E BIOQUÍMICOS EM RATOS JOVENS**

Santa Maria, RS
2017

Daniele Leão de Freitas

**INFLUÊNCIA DA ESTIMULAÇÃO TÁTIL NEONATAL ASSOCIADA À
ADMINISTRAÇÃO DE ANTIDEPRESSIVO, SOBRE PARÂMETROS
COMPORTAMENTAIS E BIOQUÍMICOS EM RATOS JOVENS**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Ciências Biológicas: Bioquímica Toxicológica, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS) como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em **Ciências Biológicas: Bioquímica Toxicológica**.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Marilise Escobar Bürger

Santa Maria, RS
2017

Ficha catalográfica elaborada através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Central da UFSM, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Leão de Freitas, Daniele
INFLUÊNCIA DA ESTIMULAÇÃO TÁTIL NEONATAL ASSOCIADA À
ADMINISTRAÇÃO DE ANTIDEPRESSIVO, SOBRE PARÂMETROS
COMPORTAMENTAIS E BIOQUÍMICOS EM RATOS JOVENS / Daniele
Leão de Freitas.- 2017.
34 p.; 30 cm

Orientador: Marilise Escobar Bürger
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa
Maria, Centro de Ciências Naturais e Exatas, Programa de
Pós-Graduação em Bioquímica Toxicológica, RS, 2017

1. Manipulação Neonatal 2. Nado Forçado 3. Sertralina
4. Ansiedade 5. Depressão I. Escobar Bürger, Marilise
II. Título.

Daniele Leão de Freitas

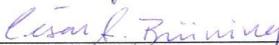
**INFLUÊNCIA DA ESTIMULAÇÃO TÁTIL NEONATAL ASSOCIADA À
ADMINISTRAÇÃO DE ANTIDEPRESSIVO, SOBRE PARÂMETROS
COMPORTAMENTAIS E BIOQUÍMICOS EM RATOS JOVENS**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Ciências Biológicas: Bioquímica Toxicológica, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS) como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas: Bioquímica Toxicológica.

Aprovado em 10 de Fevereiro de 2017:



Marilise Escobar Bürger, Dra. (UFSM)
(Presidente/Orientador)



César Augusto Brüning, Dr. (UFFS)



Camila Simonetti Pase, Dra. (UNIPAMPA)

Santa Maria, RS
2017

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus que permitiu que tudo isso acontecesse.

Aos grandes mestres da minha vida, Notoli e Goreti, pelo amor, pelo carinho, por acreditarem em mim, pelo incentivo, por me moverem sempre na direção dos meus sonhos. Amo Vocês!

Aos meus irmãos, Larissa e Danilo, e minha sobrinha Ana Carolina, pela paciência, amor, carinho e por sempre ouvirem minhas angústias e medos.

Ao Lucas, pelo amor, companheirismo, paciência, pela produção de serotonina proporcionada pelos doces (HAHAHAHA... acredite, isso foi muito importante) e por todos os seus “Dani, relaxa, no final da tudo certo!”.

À minha orientadora Prof^a Dr^a Marilise, pela oportunidade de me receber em seu laboratório, por todos os ensinamentos, paciência e atenção.

À Caren, pelas trocas realizadas, por toda paciência e atenção até mesmo com a distância.

Aos colegas e amigos do FARMATOX Camila, Fábio, Fabiola, Francieli, Geisa, Hecson, Higor, Karine, Katiane, Laura, Lívia, Luciana, Maikel, Priscila, Raquel, Verônica, Vinícia por toda a parceria, paciência, conhecimento compartilhado e por proporcionarem as melhores risadas.

Às agências de fomento que financiaram direta ou indiretamente esta pesquisa: FAPERGS, PROAP-UFSM, CNPq, bem como à CAPES pela bolsa de estudo concedida.

À Universidade Federal de Santa Maria, ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas: Bioquímica Toxicológica e seus professores e funcionários, pela possibilidade de realização deste curso.

A todos que estiveram comigo durante esta caminhada, o meu muito obrigada.

RESUMO

INFLUÊNCIA DA ESTIMULAÇÃO TÁTIL NEONATAL ASSOCIADA À ADMINISTRAÇÃO DE ANTIDEPRESSIVO, SOBRE PARÂMETROS COMPORTAMENTAIS E BIOQUÍMICOS EM RATOS JOVENS

AUTORA: DANIELE LEÃO DE FREITAS
ORIENTADORA: PROF^a. DR^a. MARILISE ESCOBAR BURGER

Eventos ocorridos em estágios iniciais do desenvolvimento, tanto em humanos quanto em animais, influenciam o desenvolvimento do cérebro e podem ter consequências em longo prazo na idade adulta. Assim, o presente estudo foi realizado para avaliar a influência da estimulação tátil neonatal (ET), associada à administração de uma dose subterapêutica de sertralina (SERT), sobre parâmetros comportamentais relacionados a depressão em ratos. A influência da associação ET-SERT sobre o eixo hipotálamo-pituitária-adrenal, assim como sobre o desenvolvimento de comportamentos de ansiedade foram também avaliados. Filhotes machos de ratos *Wistar* foram diariamente submetidos à ET durante 10 min, desde o dia pós-natal (DPN) 8 até o DPN14. No DPN50, os animais foram previamente expostos ao nado forçado. Após 24h, receberam a administração de SERT e, decorridos 30 minutos, foram novamente avaliados mediante o estresse do nado forçado. No DPN 51, os animais também foram avaliados no labirinto em cruz elevado (LCE). Os animais foram eutanasiados 24h após os testes comportamentais, seguindo-se as avaliações bioquímicas. A ET *per se* reduziu comportamentos de depressão, tendo em vista a observação do maior tempo de nado e menor tempo de imobilidade no teste do nado forçado. No teste do LCE, a ET diminuiu comportamentos relacionados à ansiedade, como observado pelo maior tempo nos braços abertos e pelo menor índice de ansiedade. Além disso, animais expostos à ET apresentaram menores níveis plasmáticos de corticosterona e cortisol. Todos estes resultados foram potencializados quando a ET foi associada a uma dose subterapêutica de SERT. Considerando estes dados, é possível propor que a ET neonatal é capaz de exercer influências benéficas sobre parâmetros de depressão, favorecendo a capacidade para lidar com situações estressantes na vida adulta.

Palavras-chave: Manipulação neonatal. Nado forçado. Sertralina. Ansiedade. Estresse.

ABSTRACT

INFLUENCE OF NEONATAL TACTILE STIMULATION ASSOCIATED WITH ANTIDEPRESSANT ADMINISTRATION ON BEHAVIORAL AND BIOCHEMICAL PARAMETERS IN YOUNG RATS

AUTHOR: DANIELE LEÃO DE FREITAS

MENTHOR: PROF^a. DR^a. MARILISE ESCOBAR BURGER

Early life events, in both humans and animals, may influence on brain development, leading to long-term consequences on adult behavior. Thus, this study was carried out in order to assess the influence of neonatal tactile stimulation (TS), when associated to sub-therapeutic administration of sertraline (SERT) in rats, on behavioral parameters related to depression-like. We also evaluated the influence of the TS-SERT association on the hypothalamic-pituitary-adrenal axis, as well as on the development of anxiety-like symptoms, assessed in different behavioral. Male rat pups were daily submitted to 10 min TS, from postnatal day (PND) 8 to PND 14. On DPN50, rats were first exposed to forced swimming test (FST). Then, after 24h, it was conducted the SERT administration and, 30 minutes later, animals were submitted to new evaluation on FST. On DPN51, rats were evaluated on the elevated plus maze (EPM). The animals were euthanized 24h after the behavioral tasks, followed by biochemical assessments. TS *per se* decreased depression behaviors, since there was an increase on swimming time and a decrease on immobility time in FST. On the EPM task, TS diminished behaviors related to anxiety, as shown in the increase of time on open arms and decrease on anxiety rates. In addition, TS also decreased corticosterone and cortisol plasma levels. All these results were enhanced when TS was associated to a sub-therapeutic dose of SERT. From these results, we suggest that neonatal handling TS may accomplish beneficial influence on parameters of depression, promoting the ability to cope with stressful situations in adulthood.

Keywords: Neonatal handling. Forced swimming test. Sertraline. Anxiety. Stress.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

DESENVOLVIMENTO

Figura 1-Estrutura química da sertralina: cis-(1S,4S)-4-(3,4diclorofenil)-1,2,3,4-tetraidro-N-metil-1-naftaleno-aminocloridrato.....	16
Figura 2-Representação do labirinto em cruz elevado.....	18
Figura 3-Representação dos principais comportamentos que podem ser desenvolvidos quando ratos são expostos ao teste do nado forçado.....	19

LISTA DE TABELA

APÊNDICE A

Tabela 1- Efeitos da manipulação neonatal e sertralina sobre o peso das adrenais (PA), peso corporal (PC) e sobre a relação peso adrenal/peso corporal dos ratos.....	34
---	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

5-HT	Serotonina
ACTH	Hormônio Adrenocorticotrófico
CRH	Hormônio Liberador de Corticotrofina
ET	Estimulação Tátil
HPA	Eixo Hipotálamo-pituitária-adrenal
ISRS	Inibidores Seletivos da Recaptação de Serotonina
LCE	Labirinto em Cruz Elevado
MN	Manipulação Neonatal
NA	Noradrenalina
OMS	Organização Mundial de Saúde
SERT	Sertralina
SNC	Sistema Nervoso Central

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 DESENVOLVIMENTO	14
2.1 ANSIEDADE	14
2.2 DEPRESSÃO	14
2.2.1 ANTIDEPRESSIVOS	16
2.3 TESTE COMPORTAMENTAL PARA ESTIMAR COMPORTAMENTO DE ANSIEDADE	18
2.4 TESTE COMPORTAMENTAL PARA ESTIMAR COMPORTAMENTOS DE DEPRESSÃO	19
2.5 MANIPULAÇÃO NEONATAL.....	20
2.5.1 Estimulação tátil	21
3 OBJETIVOS	23
3.1 OBJETIVO GERAL.....	23
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	23
4 PRODUÇÃO CIENTÍFICA	24
5 CONCLUSÕES	26
REFERÊNCIAS	27
APÊNDICE A - RESULTADOS ADICIONAIS	35

APRESENTAÇÃO

Esta dissertação está estruturada em seções dispostas em: Introdução, Desenvolvimento, Objetivos, Produção Científica, Conclusões e Referências.

No item **INTRODUÇÃO** e **DESENVOLVIMENTO** encontram-se considerações iniciais sobre o tema desenvolvido nesta dissertação. Os itens Materiais e Métodos, Resultados, Discussão e Referências encontram-se inseridos no próprio artigo na seção **PRODUÇÃO CIENTÍFICA** e representam a íntegra deste estudo.

As **REFERÊNCIAS** referem-se somente às citações apresentadas no item **INTRODUÇÃO, DESENVOLVIMENTO**.

O **APÊNDICE A** refere-se aos resultados adicionais produzidos por esta dissertação.

1 INTRODUÇÃO

De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS), estima-se que uma a cada quatro pessoas no mundo irá apresentar uma condição de saúde mental ao longo da vida. As estimativas são preocupantes principalmente quanto aos transtornos psiquiátricos, como a depressão. De acordo com um levantamento da OMS, a depressão afeta mais de 340 milhões de pessoas em todo o mundo, caracterizando-se como um grave problema de saúde pública (WHO, 2011).

A depressão é um dos transtornos mentais cujo desenvolvimento envolve fatores genéticos, biológicos, químicos, psicológicos, sociais, ambientais (AMERICAN PSYCHOLOGICAL ASSOCIATION, 2013). Segundo a OMS, a depressão é caracterizada como uma desordem mental que apresenta sintomas como humor deprimido, perda de interesse ou prazer, sentimento de culpa, baixa autoestima, distúrbios do sono ou apetite, baixa energia e baixa capacidade de compreensão (WHO, 2011).

Experiências traumáticas no início da vida podem aumentar o risco para o desenvolvimento de psicopatologias durante a infância e a idade adulta, incluindo depressão e ansiedade (MONTALVO-ORTIZ et al., 2016). Durante o desenvolvimento neonatal ocorrem adaptações do recém-nascido à vida extrauterina e este período é determinante para o sistema nervoso central (MEERLO et al., 1999; RAINEKI et al., 2012).

Nesse sentido, modelos animais de manuseio neonatal (MN) vêm sendo estudados para explicar estas alterações, entre eles a estimulação tátil (ET) neonatal. A ET neonatal é bem descrita como uma intervenção externa capaz de reproduzir os movimentos de cuidado materno, estando associada a uma diminuição comportamental e endócrina quanto à resposta ao estresse na vida adulta desses filhotes (FRANCIS et al., 1996; SILVEIRA et al., 2005). Animais que foram submetidos à ET no período neonatal apresentaram uma redução do comportamento de ansiedade (IMANAKA et al., 2008), bem como uma menor elevação e retorno mais rápido aos níveis basais de corticosterona no plasma (DENENBERG E SMITH, 1963; PLOTSKY E EMEANEY, 1993).

Tendo em vista os efeitos positivos da ET neonatal, observados em estudos anteriores do nosso grupo, como diminuição do comportamento de ansiedade, redução da preferência por drogas psicoestimulantes, alteração da resposta ao estresse e drogas benzodiazepínicas, o presente estudo propõe investigar o efeito da ET neonatal sobre parâmetros de depressão e ansiedade em ratos adultos jovens.

2 DESENVOLVIMENTO

2.1 ANSIEDADE

A ansiedade é definida como um grande mal-estar físico e psíquico e se manifesta através de um estado aflitivo, em que há falta de tranquilidade e impaciência. Podendo ser compreendida como estado emocional que, dependendo de sua intensidade, pode ser útil ou tornar-se patológico, prejudicando o funcionamento psíquico e somático (BENUTE, 2009; RODRIGUES, 2001).

A ideia de ansiedade como transtorno psiquiátrico está evoluindo rapidamente e caracteriza-se pelo conceito de sintomas centrais, ou nucleares, de medo e preocupação excessivos. Os transtornos de ansiedade apresentam considerável sobreposição de sintomas com a depressão, particularmente transtorno do sono, problemas de concentração, fadiga e dificuldades psicomotoras (STAHL, 2014).

Além disso, os transtornos de ansiedade também estão associados à extensa comorbidade, não apenas com a depressão, mas também uns com os outros, visto que muitos pacientes demonstram ter, com o passar do tempo, um segundo ou, até mesmo, um terceiro transtorno de ansiedade concomitante. Sendo assim, os transtornos de ansiedade são frequentemente comórbidos com muitas outras condições, como uso abusivo de substâncias, transtorno de déficit de atenção e hiperatividade, transtorno bipolar, transtornos dolorosos, transtorno do sono e outros (STAHL, 2014).

Todos esses transtornos parecem manter as características centrais de algum tipo de ansiedade ou medo associados a algum tipo de preocupação. No entanto, sua história natural ao longo do tempo revela que eles se transformam uns nos outros e evoluem para a expressão de uma síndrome completa de sintomas de transtornos de ansiedade. Em seguida, retornam a níveis subsindrômicos de sintomas, para reaparecer outra vez como o transtorno de ansiedade original, como um transtorno de ansiedade diferente ou como depressão (STAHL, 2014).

2.2 DEPRESSÃO

Depressão é uma grave e onerosa doença psiquiátrica (MULA, 2013) caracterizada por sentimentos de tristeza, culpa, inutilidade e desesperança (JIA et al., 2010; PETERSEN et al., 2001), os quais se transformam, frequentemente, em condições clínicas crônicas afetando 10-30% das mulheres e 7-15% dos homens (KESSLER et al., 2005). Atualmente, é a quarta

principal causa de morbidade no mundo e se tornará a segunda em 2020, consagrando-se, por conseguinte, na doença mais incapacitante de acordo com a OMS (KESSLER et al., 2003; 2011). Há dois tipos distintos de síndrome depressiva: 1) a depressão unipolar, na qual as oscilações de humor são sempre na mesma direção. Esta associa-se claramente a eventos estressantes da vida e é acompanhada por sintomas de ansiedade e agitação; e 2) o distúrbio afetivo bipolar, no qual a depressão se alterna com a mania, cujos principais sintomas caracterizam-se por entusiasmo e autoconfiança excessiva, acompanhados por ações impulsivas, combinando-se estes sinais frequentemente com irritabilidade, impaciência e agressividade (RANG, 2007).

Visto que a etiologia da depressão ainda não é totalmente esclarecida, muitas hipóteses têm sido propostas na tentativa de explicar a origem das desordens depressivas (ELHWUEGI, 2004). Tais como hiperatividade do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HPA), determinantes psicológicos, traços de personalidade e desenvolvimento, emocionalidade negativa e falta de autoestima, justificando abordagens psicoterápicas para tratamento (FUCHS e WANNMACHER, 2010). Há ainda a hipótese neurotrófica, onde evidências indicam que a depressão está associada a uma perda do suporte neurotrófico, desempenhado por fatores de crescimento dos nervos, como o fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF, na sigla em inglês), na regulação da plasticidade neural, resiliência e neurogênese (KATZUNG, 2014).

O tratamento medicamentoso direciona-se fundamentalmente a hipótese de uma deficiência na atividade monoaminérgica cerebral. Tal hipótese foi proposta por Schildkraut, em 1965, o qual considera que esta doença pode ser consequência de uma redução dos níveis de monoaminas (serotonina: explicaria ansiedade, obsessões e compulsões; noradrenalina: relacionar-se-ia a perda de energia, atenção e interesse pela vida) na fenda sináptica. Em razão disso, o tratamento da depressão envolve o aumento do tônus monoaminérgico no cérebro (ELHWUEGI, 2004).

Pacientes com depressão podem apresentar alterações nas habilidades cognitivas como psicomotricidade, aprendizagem e memória, bem como dificuldades nas funções que envolvam o córtex pré-frontal, responsável por tarefas de atenção e intenção (THOMPSON et al., 2003). Estudos com animais analisaram as regiões do hipocampo e córtex frontal do cérebro e associaram estas áreas cerebrais a muitas dessas alterações cognitivas, as quais foram também observadas em pacientes com depressão (RENOIR et al., 2012). Além disso, evidências indicam que o mau funcionamento de receptores glicocorticoides pode estar envolvido na hiperatividade do HPA, um dos principais responsáveis pelas alterações

bioquímicas na depressão (PARIANTE E MILLER, 2001; VAN ROSSUM E LAMBERTS, 2006). Este eixo exerce um papel fundamental na resposta aos estímulos externos e internos, incluindo os estressores psicológicos (CHECKLEY, 1996). A submissão a ambientes estressores induz a liberação do hormônio liberador de corticotrofina (CRH) e vasopressina pelo hipotálamo, os quais ativam a produção do hormônio adrenocorticotrófico (ACTH) pela hipófise, o qual estimula a secreção de glicocorticoides pelo córtex da adrenal na corrente sanguínea (NEMEROFF, 1996).

O tratamento com antidepressivos pode melhorar deficiências cognitivas e o humor dos pacientes depressivos (AIRAKSINEN et al., 2004). Porém, atualmente fármacos antidepressivos clássicos não são 100% eficazes para todos os tratamentos de distúrbios depressivos (SANTOS et al., 2006). Devido ao longo período de latência, observa-se, em muitos casos, que apenas metade dos pacientes alcançam remissão sustentada com o tratamento otimizado (MANN, 2005). Isto é preocupante devido ao risco inerente de suicídio associado à depressão. Cerca de 10-15% das pessoas com depressão grave tentam suicídio em algum momento (CHEN E DILSAVER, 1996). Segundo dados da OMS, o Brasil é o oitavo país em número de suicídios. Em 2012, foram registradas 11.821 mortes, sendo 9.198 homens e 2.623 mulheres (taxa de 6,0 para cada grupo de 100 mil habitantes). Entre 2000 e 2012, houve um aumento de 10,4% na quantidade de mortes, 17,8% entre mulheres e 8,2% entre os homens.

2.2.1 Antidepressivos

No final da década de 1950 os antidepressivos foram introduzidos na terapia da depressão, trazendo um avanço importante no arsenal terapêutico, sendo comprovado o seu efeito de melhora do humor nos indivíduos acometidos (GORENSTEIN; SCAVONE, 2007).

Até os anos de 1980 existiam duas classes de antidepressivos, os tricíclicos e os inibidores de monoaminoxidase. Através de mecanismos distintos, ambas as classes aumentam a disponibilidade dos neurotransmissores noradrenalina (NA) e serotonina (5-HT) no sistema nervoso central (SNC). Porém, embora eficazes, essas classes de antidepressivos causam efeitos adversos indesejáveis principalmente pela inespecificidade de suas ações farmacológicas, o que motiva e estimula a busca por novas opções medicamentosas (GORENSTEIN; SCAVONE, 2007). Assim, como uma nova opção de tratamento, surgem os inibidores seletivos da recaptção de serotonina (ISRS). Esses fármacos agem inibindo

seletivamente a recaptação de 5-HT, potencializando, dessa forma, a neurotransmissão serotoninérgica (MULA, 2013).

No cérebro a 5-HT é sintetizada a partir do aminoácido triptofano, através da enzima triptofanhidroxilase (LEPAGE et al., 2005). Depois da biossíntese ela é estocada em vesículas, ocorrendo exclusivamente em neurônios localizados no núcleo da rafe, de onde partem projeções para todo o SNC (WONG et al., 2005). O sistema de neurotransmissão serotoninérgica é constituído por 15 receptores, com 7 classes distintas (5-HT₁₋₇) (HOYER et al., 2002; NICHOLS e NICHOLS, 2008). Os receptores de 5-HT são expressos em vários núcleos do tronco cerebral superior a áreas corticais como a amígdala, o hipocampo e córtex, estruturas envolvidas na regulação do humor e do comportamento emocional (THOMPSON E LUMMIS, 2007), proporcionando o possível papel dos receptores de 5-HT na regulação da atividade comportamental e na fisiopatologia da depressão (ZANGH, 2014). Atualmente, os ISRS destaca-se como sendo o tratamento de primeira escolha para a depressão (MULA, 2013) devido à sua maior seletividade e perfil reduzido de efeitos adversos (NADALVICENS et al., 2009). Em 1998, foi publicado um documento pela Academia Americana de Psiquiatria Infantil e Adolescente apoiando utilização de ISRS como tratamento de primeira linha para depressão em crianças e adolescentes (SKAER et al., 2009).

O cloridrato de sertralina (SERT) é um antidepressivo amplamente prescrito, pertencente à classe dos ISRS (KHAN et al., 2005; YOUNG et al., 2009), cujo principal mecanismo de ação se dá através da inibição dos transportadores de serotonina 5-HT (BELMAKER et al., 2008), levando ao aumento da concentração do neurotransmissor na fenda sináptica e, finalmente, à maior atividade neuronal pós-sináptica (BELMAKER, 2008). A SERT é um enantiômero *S-cis* de um tetraidro naftaleno dissustituído (FERRARINI et al., 2010).

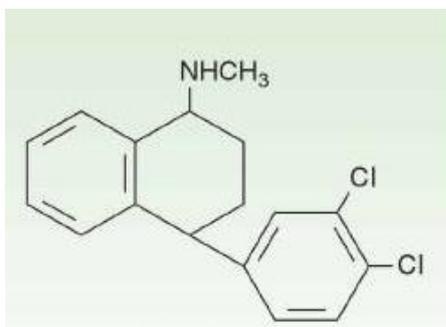


Figura 1. Estrutura química da sertralina: *cis*-(1*S*,4*S*)-4-(3,4-diclorofenil)-1,2,3,4-tetraidro-*N*-metil-1-naftaleno-aminocloridrato (KATZUNG, 2014).

Considera-se a SERT como o mais potente e seletivo entre os ISRS, apresentando vantagens farmacocinéticas, tais como meia-vida de 26 horas, estabilização dos níveis plasmáticos em sete dias e ausência de inibição clinicamente significativa de enzimas hepáticas, o que confere à SERT uma maior segurança clínica na interação com outros fármacos que usam essa mesma via metabólica – é metabolizada no fígado em desmetilsertralina, a qual é inativa (HIRANO et al., 2005).

2.3 TESTE COMPORTAMENTAL PARA ESTIMAR COMPORTAMENTO DE ANSIEDADE

Um dos modelos mais largamente utilizados na pesquisa da ansiedade em ratos é o Labirinto em Cruz Elevado (LCE), que é baseado em respostas incondicionadas a ambientes potencialmente perigosos. Derivou do trabalho de Montgomery (1955) e a premissa básica é que ambientes novos evocam curiosidade e medo, criando desta forma, um típico conflito de aproximação/esquiva.

Os comportamentos avaliados são: o tempo gasto (em segundos) nos braços abertos e fechados, número de entradas nos braços abertos e fechados, exploração total (entradas em todos os braços) e frequência de mergulho nos braços abertos. O tempo nos braços abertos e fechados do labirinto é usado como medida de redução e aumento do nível da ansiedade, respectivamente (HLAVACOVA; BAKOS; JEZOVA, 2010). Medidas etológicas incluem a frequência de mergulhos de cabeça (movimento exploratório de cabeça / ombros sobre os lados dos braços abertos e para baixo em direção ao chão), que está relacionado com o medo reduzido, de forma consistente com um resultado ansiolítico (HLAVACOVA; BAKOS; JEZOVA, 2010). A atividade total no labirinto (entradas totais de braço) e o número de entradas de braços abertos e fechados são utilizados como índice de ansiedade (COHEN et al, 2007; 2008; MAZOR et al, 2007).

Índice de ansiedade é calculado como se segue:

Índice de ansiedade: 1

$$- \left[\frac{\left(\frac{\text{Tempo gasto nos braços fechados}}{\text{Total de tempo no labirinto}} \right) + \left(\frac{\text{Número de entradas nos braços abertos}}{\text{Total de entradas no labirinto}} \right)}{2} \right]$$

Valores de índice de ansiedade variam de 0 a 1, onde um aumento no índice expressa o aumento de comportamentos de ansiedade (COHEN et.al, 2007;. 2008;. MAZOR et. al, 2007).



Figura 2. Representação do Labirinto em Cruz Elevado (PIRES et al., 2012) A: Braços abertos, B: Braços fechados.

2.4 TESTE COMPORTAMENTAL PARA ESTIMAR COMPORTAMENTOS DE DEPRESSÃO

Modelos animais de depressão são ferramentas indispensáveis na pesquisa que visa identificar novos compostos com possíveis ações antidepressivas, utilizados com o objetivo de fornecer novos conhecimentos sobre as bases neurobiológicas da depressão (CRYAN et al., 2002).

Dentre os modelos animais da depressão destacam-se: o teste da sacarose, realizado para avaliar comportamento de anedonia (KOMPAGNE et al., 2008), teste da suspensão da calda, utilizado para avaliar a eficácia antidepressiva de tratamentos com drogas (CHERMAT et al., 1986).

O teste de nado forçado é o modelo animal de alto rendimento e facilidade (SLATTERY E CRYAN, 2012) utilizado para avaliar o comportamento do tipo depressivo (CRYAN et al., 2005), descrito pela primeira vez por Porsolt e colaboradores (1977). O teste é realizado em duas sessões sequenciais: a primeira sessão, o pré-teste, é o estressor utilizado para induzir um estado de desespero comportamental (BORSINI et al., 1997; CASTAGNE et al., 2009; PORSOLT et al., 1978). Durante a segunda sessão, o teste, avaliam-se comportamentos de escalada, de natação e de imobilidade. O comportamento de escalada consiste de movimentos ascendentes das patas da frente ao longo da câmara de mergulho

enquanto que movimentos (geralmente horizontal) ao longo da câmara de mergulho são definidos como o comportamento de natação. Quando nenhuma atividade adicional é observada, exceto o necessário para que o animal mantenha a cabeça acima da água, considera-se a imobilidade (CRYAN et al., 2005).

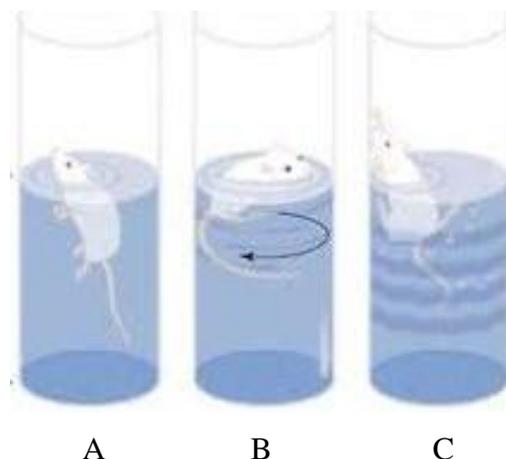


Figura 3. Representação dos principais comportamentos que podem ser desenvolvidos quando ratos são expostos ao teste do nado forçado (adaptado de SPERLAGHLAB). A: Comportamento de imobilidade, B: Comportamento de nado, C: Comportamento de escalada.

O tratamento com drogas antidepressivas gera diminuição do tempo de imobilidade e aumenta o tempo de comportamento ativo durante a sessão de teste do nado forçado (CRYAN et al., 2005), o que também foi observado após a administração de SERT (KAYGISIZ et al., 2014; MIKAIL et al., 2012).

2.5 MANIPULAÇÃO NEONATAL

Eventos ocorridos em estágios iniciais da vida, particularmente a interação mãe-bebê, exercem influências sobre o desenvolvimento do cérebro com consequências durante a vida adulta (KAUFMAN et al., 2000; MORILAK et al., 2005; STAMATAKIS et al., 2009). Além disso, tais eventos podem influenciar de maneira profunda e duradoura as funções cognitivas e emocionais, bem como modular a susceptibilidade ao desenvolvimento de distúrbios psiquiátricos (LOMAN E GUNNAR, 2010; LUCASSEN et al., 2013; SINGH-TAYLOR et al., 2015). Experiências negativas durante o período de desenvolvimento cerebral são muitas vezes associadas com aumento da vulnerabilidade ao estresse e comprometimento da saúde física, mental e social durante a vida adulta (BALE et al., 2010;

RAINEKI et al., 2012). Por outro lado, experiências positivas estão associadas a uma melhor adaptação aos desafios durante esse período (BALDINI et al., 2013).

A manipulação neonatal (MN) foi um dos primeiros modelos animais utilizados para investigar os efeitos das experiências do início da vida (RAINEKI et al., 2014). É um paradigma experimental em que os filhotes são brevemente separados da mãe e expostos a um novo ambiente (LEVINE, 1957). Este procedimento é utilizado muitas vezes com a finalidade de evitar possíveis efeitos adversos na vida adulta (KALINICHEV et al., 2002), pois é conhecido por afetar a função do eixo HPA (KATSOULI et al., 2014), aumentando o número de receptores de glicocorticoides no hipocampo e córtex pré-frontal (DE KLOET et al., 1999; MEANEY et al., 1989;), diminuindo, assim, os níveis plasmáticos de corticosterona (PANAGIOTAROPOULOS T et al., 2004). A corticosterona é produzida em resposta ao estímulo do córtex adrenal pelo ACTH e pelo seu precursor, a aldosterona, sendo que elevados níveis de glicocorticoides circulantes são considerados um indicativo de estresse (HEIDERSTADT et al., 2000).

Estudos mostraram que animais submetidos à MN possuem melhor desempenho nas tarefas de memória espacial (WONG E JUDD, 1973), sendo um procedimento capaz de alterar a aprendizagem de modo que a capacidade do organismo adulto para responder, enfrentar e adaptar-se a estímulos de estresse, é aumentada (STAMATAKIS et al., 2009). A MN também mostrou-se capaz de causar alterações comportamentais (CHAMPAGNE et al., 2009), diminuir a ansiedade (KIOSTERAKIS et al., 2009; NÚÑEZ et al., 1995; SEVERINO et al., 2004), alterar a morfologia dendrítica no córtex pré-frontal e amígdala (RICHARDS et al., 2012), além de modificar a função neuroendócrina (CHAMPAGNE et al., 2009).

2.5.1 Estimulação tátil

A ET neonatal é uma forma eficiente de manipulação neonatal, assemelhando-se ao comportamento materno de lambar e acariciar os filhotes (SCHANBERG; FIELD, 1980) a qual tem efeitos comprovados sobre o desenvolvimento do cérebro (RICHARDS et al., 2012). A ET apresentou-se eficaz ao diminuir sinais cognitivos, sociais e emocionais associados a um modelo animal de autismo (RAZA et al., 2015) e, ao modular a resposta a novos objetos e comportamentos sociais alterados (MUHAMMAD et al., 2011).

A ET neonatal aumenta a neurogênese pós-natal, previne a perda neuronal no hipocampo associada ao estresse e envelhecimento, além de melhorar a função cognitiva

(SAPOLSKY, 1993; PHAM et al. 1997). Sugere-se que os efeitos da ET neonatal podem ser explicados pelo fato de que as vias neurais da pele para o SNC amadurecem mais cedo do que outros sistemas sensoriais (MONTAGU, 1953). Ainda, afastar os filhotes da mãe e da sua ninhada por um breve período de tempo, propicia um maior cuidado materno quando o animal retorna ao ninho (BRANCHI et al., 2001). Estudos mostram benefícios da ET neonatal sobre a atividade locomotora e exploratória dos animais, diminuição dos comportamentos de ansiedade (IMANAKA et al., 2008), bem como redução na preferência por droga psicoestimulante (ANTONIAZZI et al., 2014 a, b) e alteração da capacidade de resposta ao estresse e a drogas benzodiazepínicas (BOUFLEUR et al., 2012, 2013).

Além disso, a ET neonatal pode afetar positivamente a neuroanatomia do cérebro, modificando seus componentes celulares por alterações morfológicas e morfométricas progressivas (HORIQUINI E LACHAT, 2016). Quando aplicada durante as três primeiras semanas de vida, a ET neonatal diminuiu a reatividade ao estresse na idade adulta e os medos a novos ambientes (PLOSTSKY e MEANEY, 1993).

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a influência da estimulação neonatal (ET) associada à administração de SERT, sobre parâmetros comportamentais e bioquímicos relacionados à ansiedade e à depressão em ratos jovens.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Investigar os efeitos da ET associada ou não à SERT sobre parâmetros de ansiedade e depressão em ratos jovens;
- Verificar a influência da ET associada ou não à SERT sobre eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HPA) em ratos jovens.

4 PRODUÇÃO CIENTÍFICA

Os resultados inseridos nesta dissertação apresentam-se sob a forma de um artigo científico, o qual se encontra aqui estruturado. Os itens Materiais e Métodos, Resultados, Discussão e Referências encontram-se no próprio artigo, o qual está disposto da mesma forma que foi publicado.

**NEONATAL TACTILE STIMULATION DECREASES DEPRESSION-LIKE
AND ANXIETY-LIKE BEHAVIORS AND POTENTIATES SERTRALINE ACTION
IN YOUNG RATS**

Daniele Freitas, Caren T.D. Antoniazzi, Hecson J. Segat, Vinícia Garzella Metz,
Luciana Taschetto Vey, Raquel C.S Barcelos, Thiago Duarte,
Marta M.M.F. Duarte, Marilise Escobar Burger

Periódico: **International Journal of Developmental Neuroscience**

Status: **Publicado**

DOI: 10.1016/j.ijdevneu.2015.09.010

5 CONCLUSÕES

Os resultados obtidos no presente estudo mostram, pela primeira vez, que a ET neonatal é capaz de facilitar a atividade de fármacos antidepressivos como a SERT, a qual demonstrou efetividade em uma dose subterapêutica. Além disso, marcadores hormonais relacionados ao estresse, como corticosterona e cortisol, foram reduzidos pela ET neonatal e tais respostas foram potencializadas quando a ET neonatal foi associada com uma dose subterapêutica de SERT. Portanto, ET neonatal pode ser considerada um procedimento inovador e promissor na prevenção da ansiedade e depressão, favorecendo a atividade farmacológica de fármacos antidepressivos.

REFERÊNCIAS

- AIRAKSINEN, E. et al. Cognitive functions in depressive disorders: evidence from a population-based study. **Psychological Medicine**, vol.34, p.83-91, Janeiro. 2004.
- AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION. Diagnostic and statistical manual of mental disorders. 5th ed. Arlington, VA: **American Psychiatric Publishing**, 2013.
- ANTONIAZZI, C.T.D. et al. Influence of neonatal tactile stimulation on amphetamine preference in young rats: Parameters of addiction and oxidative stress. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 124, p.341-349, Setembro.2014.
- ANTONIAZZI, C.T.D. et al. Tactile stimulation and neonatal isolation affect behavior and oxidative status linked to cocaine administration in young rats. **Behavioural Processes**, v. 103, p. 297–305, Março.2014.
- BALDINI, S. et al. Enriched early life experiences reduces adult anxiety-like behavior in rats: A role for insulin-like growth factor 1. **Journal of Neuroscience**, v.33, p.11715–11723. Julho. 2013.
- BALE, T.L. et al. Early life programming of neurodevelopmental disorders. **Biological Psychiatry**, v.68 (4), p.314–9, Agosto. 2010.
- BELMAKER, R.H. et al. Major depressive disorder. **The New England Journal of Medicine**, vol 358, p. 55-68, Janeiro.2008.
- BENUTE, L. et al. Abortamento espontâneo e provocado: ansiedade, depressão e culpa. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v.55(3), p.322-7, Janeiro. 2009.
- BORSINI, F. et al. Discovery of antidepressant activity by forced swimming test may depend on pre-exposure of rats to a stressful situation. **Psychopharmacology (Berl)**, v.97, p.183–188, 1997.
- BOUFLEUR, N. et al. Neonatal handling prevents anxiety-like symptoms in rats exposed to chronic mild stress: behavioral and oxidative parameters. **Stress**, v. 16, p. 321–330, Maio.2013.
- BOUFLEUR, N. et al. Neonatal tactile stimulation changes anxiety-like behavior and improves responsiveness of rats to diazepam. **Brain Research**, v. 1474, p. 50–59, Setembro 2012.
- BRANCHI, I., SANTUCCI, D., ALLEVA, E. Ultrasonic vocalisation emitted by infant rodents: a tool for assessment of neurobehavioural development. **Behavioural Brain Research**, v.125, p.49-56, Novembro.2001.
- CASTAGNE, V., PORSOLT, R. D., MOSER, P. Use of latency to immobility improves detection of antidepressant-like activity in the behavioral despair test in the mouse. **European Journal of Pharmacology**, v.616, p.128–33, Agosto.2009.
- CHAMPAGNE, D. L., DE KLOET, E. R., JOELS, M. Fundamental aspects of the impact of glucocorticoids on the (immature) brain. **Seminars in Fetal & Neonatal Medicine**, v.14, p.136–142, Junho. 2009.

CHECKLEY, S. The neuroendocrinology of depression and chronic stress. **British Medical Bulletin**, v.52 (3), p.597-617, Julho.1996.

CHEN, Y.W., DILSAVER, S.C. Lifetime rates of suicide attempts among subjects with bipolar and unipolar disorders relative to subjects with other Axis I disorders. **Biological Psychiatry**, v.39, p.896–899, Maio.1996.

CHERMAT, R, et al. Adaptation of the tail suspension test to the rat. *Journal of Pharmacology*, v.17, p.348–50, Setembro.1986.

COHE, H. et al. Long-lasting behavioral effects of juvenile trauma in an animal model of PTSD associated with a failure of the autonomic nervous system to recover. **European Neuropsychopharmacology**,v.17, p.464–477, Junho.2007.

COHEN, H. et al. The impact of environment factors in determining post-exposure responses in isogenic strains of mice: can genetic predisposition explain phenotypic vulnerability?.**International Journal of Neuropsychopharmacology**, v11, p. 331–349,2008.

CRYAN, J.F., MARKOU, A., LUCKI, I. Assessing antidepressant activity in rodents: recent developments and future needs.**Trends in Pharmacological Sciences**, v.23, p.238–245, Maio.2002.

CRYAN, J.F.,PAGE, M.E., LUCKI, I. Differential behavioral effects of the antidepressants reboxetine, fluoxetine, and moclobemide in a modified forced swim test following chronic treatment. **Psychopharmacology**, v. 182, p. 335–344. Novembro. 2005.

DE KLOET, E.R., OITZL, M.S., JOELS, M. Stress and cognition: are corticosteroids good or bad guys? **Trends Neurosciences**, v.22 (10) , p.422–426, Outubro. 1999.

DENENBERG, V.H., SMITH, S. A. Effects of infantile stimulation and age upon behavior. **Journal of Comparative and Physiological Psychology**, v.56, p.307-312.Abril.1963.

ELHWUEGI, A.S. Central monoamines and their role in major depression.**Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry**, vol.28, p. 435-451, Maio.2004.

FERRARINI, A. et al. Development and validation of a HPLC method for the determination of sertraline and three non-chiral related impurities. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v.53(2), p.122-9, Outubro.2010.

FRANCIS, D.D. et al. The role of early environmental events regulating neuroendocrine development.**Annals New York Academy of Sciences**, v.794, p.136-152, Setembro. 1996.

GORENSTEIN, C.; SCAVONE, C. Antidepressivos. In: DELUCIA, R. et al. **Farmacologia integrada**. 3º ed. Rio de Janeiro: Ed. Revinter, cap.26, p. 226 -245, 2007.

HEIDERSTADT, K. M. et al. The effect of chronic food and water restriction on open-field behaviour and serum corticosterone levels in rats. **Laboratory Animals**, p.34, v.20–28, Janeiro.2000.

HIRANO, K. et al. Relationship between brain serotonin transporter binding, plasma concentration and behavioural effect of selective serotonin reuptake inhibitors. **British Journal of Pharmacology**, v.144(5), p.695-702. Março.2005.

HLAVACOVA, N., BAKOS, J., JEZOVA, D. Eplerenone, a selective mineralocorticoid receptor blocker, exerts anxiolytic effects accompanied by changes in stress hormone release. **Journal of Psychopharmacology**, v. 24, p. 779–786, 2010.

HORQUINI-BARBOSA, E., LACHAT, J.J. Tactile stimulation during development alters the neuroanatomical organization of the optic nerve in normal rats. **Experimental Brain Research**, v.234 (6), p. 1737-46, Junho. 2016.

HOYER, D. et al. Molecular, pharmacological and functional diversity of 5-HT receptors. **Pharmacology Biochemistry Behavior**, v.71, p.533-54, Abril, 2002.

IMANAKA, A. et al. Neonatal tactile stimulation reverses the effect of neonatal isolation on open-field and anxiety-like behavior, and pain sensitivity in male and female adult Sprague-Dawley rats. **Behavioural Brain Research**, v.186, p.91–97, Janeiro.2008.

JIA, Z. et al. High-field magnetic resonance imaging of suicidality in patients with major depressive disorder. **The American Journal of Psychiatry**, vol.167, p.1381-1390, Novembro.2010.

KAYGISIZ, B., OZATIK, F.Y., EROL, K. Interaction of sertraline and nimodipine on some behavioural tests in rats. **Advances in Clinical and Experimental Medicine**.v.23, p.169-175, Março. 2014.

KALINICHEV, M. et al. Long-lasting changes in stress-induced corticosterone response and anxiety-like behaviors as a consequence of neonatal maternal separation in Long-Evans rats. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v.73, p.131–140, Agosto.2002.

KATSOULI, S. et al. Sexually Dimorphic Long-Term Effects of an Early Life Experience on AMPA Receptor Subunit Expression in Rat Brain. **Neuroscience**, v.257, p.49–64, Janeiro.2014.

KATZUNG, B.G., MASTERS, S.B., TREVOR, A. Farmacologia Básica e Clínica. 12ed. Dados eletrônicos, 2014. cap.30 p.526.

KAUFMAN, J., PLOTSKY, P.M., NEMEROFF, C.B., CHARNEY, D.S. Effects of early adverse experiences on brain structure and function: clinical implications. **Biological Psychiatry**, v.48, p.778–90, Outubro.2000.

KESSLER, R.C. et al. Development of lifetime comorbidity in the World Health Organization world mental health surveys. **Archives of General Psychiatry**, vol.68, p.90-100, Janeiro.2011.

KESSLER, R.C. et al. Life-time prevalence and age-of-onset distributions of DSM-IV disorders in the National Comorbidity Survey Replication. **Archives of General Psychiatry**, vol. 62, p. 593–602, Junho.2005.

KESSLER, R.C. et al. The epidemiology of major depressive disorder: results from the National Comorbidity Survey Replication (NCS-R). **The Journal of the American Medical Association**, vol. 289, p.3095–105, Junho.2003.

KHAN, A. et al. Sex differences in antidepressant response in recent antidepressant clinical trials. **Journal of Clinical Psychopharmacology**, v.25, p.318–324, Agosto.2005.

KIOSTERAKIS, G. et al. Long-Term Effects of Neonatal Handling on Mu-Opioid Receptor Levels in the Brain of the Offspring. **Developmental Psychobiology**, v.51(5), p.439-49, Julho.2009.

KOMPAGNE, H. et al. Chronic mild stress generates clear depressive but ambiguous anxiety-like behaviour in rats. **Behavioural Brain Research**, v. 193, p. 311-314, Novembro.2008.

LEPAGE, O. et al. Serotonin, but not melatonin, plays a role in shaping dominant-subordinate relationships and aggression in rainbow trout. **Hormones and Behavior**, v. 48, p.233-242, Agosto.2005.

LEVINE, S. Infantile experience and resistance to physiological stress. **Science**, v.126, p.405, Agosto.1957.

LIU, D. et al. Maternal care, hippocampal glucocorticoid receptors, and hypothalamic-pituitary-adrenal responses to stress. **Science**, v. 277, p. 1659-1662, Setembro.1997.

LOMAN, M. M., GUNNAR, M. R. Early experience and the development of stress reactivity and regulation in children. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v.34, p.867–876, Maio.2010.

LUCASSEN, P. J. et al. Perinatal programming of adult hippocampal structure and function emerging roles of stress, nutrition and epigenetics. **Trends in Neurosciences**, v.36, p.621–631, Novembro. 2013.

MANN, J.J. The medical management of depression. **New England Journal of Medicine**, v.353, p.1819-34, Outubro.2005.

MAZOR, A. et al. Gender-related qualitative differences in baseline and post-stress anxiety responses are not reflected in the incidence of criterion-based PTSD-like behaviour patterns. **The World Journal of Biological Psychiatry**, v.10, p.856–869, Julho.2007.

MEERLO, P. et al. The influence of postnatal handling in adult neuroendocrine and behavioral stress reactivity. **Journal of Neuroendocrinology**, v. 11 (12), p. 925-933, Dezembro.1999.

MIKAIL, H.G. Sertraline behavioral response associates closer and dose-dependently with cortical rather than hippocampal serotonergic activity in the rat forced swim stress. **Physiology & Behavior**, v.107, p.201–206, Setembro.2012.

MONTAGU, A. The sensory influences of the skin. **Texas reports on biology and medicine**, v.11, p.292-301.1953.

MONTALVO-ORTIZ, J.L. et al. The role of genes involved in stress, neural plasticity, and brain circuitry in depressive phenotypes: Convergent findings in a mouse model of neglect. **Behavioural Brain Research**, v.315, p.71–74, Dezembro. 2016.

MONTGOMERY, K.C. The relationship between fear induced by novel stimulation and exploratory behavior. **Journal of Comparative and Physiological Psychology**, v.48, p. 254–260, Agosto.1955.

MORILAK, D.A. et al. Role of brain norepinephrine in the behavioral response to stress. **Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry**, v. 29, p.1214 – 1224, Dezembro. 2005.

MUHAMMAD, A.; KOLB, B. Prenatal tactile stimulation attenuates drug-induced behavioral sensitization, modifies behavior, and alters brain architecture. **Brain Research**, v.1400, p.53-65, Julho.2011.

MULA, M. Treatment of anxiety disorders in epilepsy: an evidence-based approach. **Epilepsia**, vol.1, p.13-18, Março.2013.

NADAL-VICENS,M., JAY H. CHYUNG, J.H., TURNER, T.J. Principios de Farmacologia - a Base Fisiopatológica da Farmacoterapêutica: **Farmacologia da Neurotransmissão Serotoninérgica e Adrenérgica Central**. Editora Guanabara Koogans.a, 2009.

NEMEROFF, C.B. The corticotropin-releasing factor (crf hypothesis of depression: new findings and new directions. **Molecular psychiatry**, v. 1(4), p. 336, Setembro.1996.

NICHOLS, D.E., NICHOLS, C.D. Serotonin receptors. *Chemical Reviews*, v.108, p.1614-41, Maio. 2008.

NÚÑEZ, J. F.et al. Postnatal handling reduces emotionality ratings and accelerates twoway active avoidance in female rats. **Physiol&Behaviour**, v.57, p.831–835, Maio.1995.

PANAGIOTAROPOULOS, T. et al. Effect of neonatal handling and sex on basal and chronic stress-induced corticosterone and leptin secretion. **Neuroendocrinology**, v.79(2), p.109-118, Fevereiro.2004.

PARIANTE, C.M.,MILLER, A.H. Glucocorticoid receptors in major depression: relevance to pathophysiology and treatment. **Biological Psychiatry**, vol.49, p.391-404, Março.2001.

PETERSEN, T. et al. Treatment resistant depression and axis I co-morbidity.**Psychol Med**, v.31, p.1223–9. Outubro.2001.

PHAM, T.M. et al. Effects of neonatal stimulation on later cognitive function and hippocampal nerve growth factor. **Behavioural Brain Research**, v.86, p.113-20, Junho.1997

PIRES. G.N.; TUFIK, S.; ANDERSEN, M.L. Relação entre privação de sono e ansiedade na pesquisa básica. **Einstein**, v.10(4),p.519-23, Agosto. 2012.

PLOTSKY, P.M., MEANEY, M.J. Early postnatal experience alters hypothalamic corticotropin-releasing factor (CRF) RNAm, median eminence CRF content and stress induce release in adult rats. **Molecular Brain Research**, v.18 (3), p.195-200, Maio.1993.

PORSOLT, R.D., BERTIN, A., JALFRE, M. “Behavioural despair” in rats and mice: strain differences and the effects of imipramine. **European Journal of Pharmacology**, v.51, p.291–4, Outubro.1978.

PORSOLT, R.D., LEPICHON, M., JALFRE, M. Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments. **Nature**, v.266, p.730–2, Abril.1977.

RAINEKI, C. et al. Effects of early-life abuse differ across development: Infant social behavior deficits are followed by adolescent depressive-like behaviors mediated by the amygdala. **Journal of Neuroscience**, v.32, p.7758–7765, Maio.2012.

RAINEKI, C., LUCION, A.B., WEINBERG, J. Neonatal Handling: An Overview of the Positive and Negative Effects. **Developmental Psychobiology**, v.56(8), p.1613–1625, Dezembro, 2014.

RANG, H. P., DALLE, M., RITTER, J. M., FLOWER, R.J. In.: **Farmacologia**.6 ed. Elsevier, 2007.cap. 39, p.557-558.

RAZA, S. et al. Tactile stimulation improves neuroanatomical pathology but not behavior in rats prenatally exposed to valproic acid. **Behavioural Brain Research**, v. 282, p.25–36, Abril.2015.

RENOIR, T. et al. Drug withdrawal-induced depression: Serotonergic and plasticity changes in animal models. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, v. 36.p. 696–726, Janeiro. 2012.

RICHARDS, S. et al. Tactile stimulation during development alters behaviour and neuroanatomical organization of normal rats. **Behavioural Brain Research**, v.231, p.86– 91, Maio.2012.

RODRIGUES, C.L. Aspectos neuropsicológicos dos transtornos de ansiedade na infância e adolescência: um estudo comparativo entre as fases de pré e pós-tratamento medicamentoso. **Master'sthesis**, Univerisidade São Paulo, SP, Brasil. 2011.

SANTOS, A.M. et al. Depressão resistente a tratamento: uma revisão das estratégias farmacológicas de potencialização de antidepressivos. **Jornal Brasileiro de Psiquiatria**,v.55 (3), p. 232-242, Setembro.2006.

SAPOLSKY, R. M. Stress, the Aging Brain, and the Mechanisms of Neuron Death. **Yale Journal of Biology and Medicine**, v.66(2), p109–110, Abril.1993.

SCHANBERG. S., FIELD, T. Sensory deprivation stress and supplemental stimulation in the rat pup and preterm neonate. **Child Development**, v.58, p.1431–47, Dezembro.1980.

SEVERINO, G. S. et al. Effects of neonatal handling on the behavior and prolactin stress response in male and female rats at various ages and estrous. **Biochemistry & Behavior**, v.73, p.233–245, Maio.2004.

SILVEIRA, P.P. et al. The effect of neonatal handling on adult feeding behavior is not an anxiety-like behavior. **International Journal of Developmental Neuroscience**, v.23, p.91-99, Fevereiro.2005.

SINGH-TAYLOR, A. et al. Synaptic rewiring of stress-sensitive neurons by early-life experience: a mechanism for resilience? **Neurobiology of Stress**, v.1, p.109–115, Janeiro. 2015.

SKAER, T.L., SCLAR, D.A., ANDROBISON, L. M. Trend sin prescriptions for antidepressant pharmacotherapy among US children and adolescents diagnosed with depression, 1990 through 2001: an assessment of accordance with treatment recommendations from the Americana cademy of child and adolescent psychiatry. **Clinical Therapeutics**, v.31, p.1478–1487, Junho2009.

SLATTERY, D.A.; CRYAN, J.F. Using the rat forced swim test to assess antidepressant-like activity in rodents. **Nature Protocols**, v.7, p.1009-1014, Maio. 2012.

STAHL, S. M. **Psicofarmacologia: bases neurocientíficas e aplicações práticas** / Stephen M. Stahl; tradução Patricia Lydie Voeux; revisão técnica Irismar Reis de Oliveira. – 4. ed. – Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2014.

STAMATAKIS, A. et al. Selective Effects of Neonatal Handling on Rat Brain *N*-Methyl-d Aspartate Receptors. **Neuroscience**, v.164, p.1457–1467, Dezembro.2009.

THOMPSON, A.J., LUMMIS, S. C.R. The 5-HT₃ receptor as a therapeutic target. **Expert Opinion on Therapeutic Targets**, v.11, p.527–540, Abril. 2007.

THOMPSON, E.V. et al. Neuropsychological deficits among patients with late-onset minor and major depression. **Archives of Clinical Neuropsychology**, v.18, p. 529–549, Julho.2003.

VAN ROSSUM E.F., LAMBERTS, S.W. Glucocorticoid resistance syndrome: a diagnostic and therapeutic approach. **Best Practice & Research: Clinical**, v.20(4), p.611-26, Dezembro. 2006

WONG, D.T. et al. Case history: the discovery of fluoxetine hydrochloride (Prozac). **Nature Reviews Drug Discovery**, v.4, p.764-74, Setembro. 2005.

WONG, R., JUDD, M. Infantile handling and successive spatial reversal learning in rats. **Behavioral Biology**, v.8, p.391–397, Março.1973.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. The world health report - **Mental Health: New Understanding**, New Hope, Geneva, 2001.

YOUNG, E. A. et al. Sex differences in response to citalopram: a STAR*D report. **Journal of Psychiatric Research**, v.43, p.503–511, Fevereiro.2009.

APÊNDICE A - RESULTADOS ADICIONAIS

1 PESO ADRENAL (PA), PESO CORPORAL (PC), RELAÇÃO PA/PC

A análise de variância de duas vias revelou um efeito principal da manipulação neonatal [$F(1,24) = 2,65, P < 0,05$], do fármaco [$F(1,24) = 3,83, P < 0,05$] e da interação entre o manuseio e o fármaco [$F(1,24)=3.02; P<0.05$] sobre a relação PA/PC.

Enquanto os animais expostos à ET apresentaram diminuição da relação PA / PC *per se*, a administração de SERT reduziu este parâmetro morfológico nos animais não manuseados, uma vez que no grupo ET, esta relação foi semelhante ao seu respectivo controle (Tabela 1).

Tabela 1 - Efeitos da manipulação neonatal e sertralina sobre o peso das adrenais (PA), peso corporal (PC) e relação peso adrenal/peso corporal dos ratos.

Grupos	Peso das Adrenais (PA) (g)	Peso Corporal (PC) (g)	Relação PA/PC (10^{-3})
UH-C	0,06±0,00	262,57±18,05	0,29 ± 0,01
TS-C	0,06±0,00	250,28±11,61	0,27±0,01 ⁺
UH-SERT	0,07±0,00	251,00±12,34	0,27±0,01*
TS-SERT	0,06±0,00	243,14±8,88	0,27±0,01

Abreviações: UH, unhandled (Não manuseado); TS, tactile stimulation (Estimulação tátil); SERT, Sertraline (Sertralina); C, Control (Controle). Os dados foram expressos como média±SEM. (n=7). ⁺indica diferença significativa do grupo UH no mesmo tratamento ($P<0.05$); *indica diferença significativa do controle no mesmo manuseio ($P<0.05$).

O aumento do peso adrenal e níveis elevados de glicocorticóides circulantes podem ser considerados marcadores de estresse (HEIDERSTADT et al., 2000). Em contrapartida, as manipulações durante o início da vida podem afetar a função adrenocortical em ratos adultos (DASKALAKIS et al., 2009).