



EFEITO DO ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL NO TESTE COMPORTAMENTAL Y-MAZE EM MODELO NEURODESENVOLVIMENTAL DE ESQUIZOFRENIA EM CAMUNDONGOS

Greicy Coelho de Souza¹, Danielle Macedo Gaspar¹

Universidade Federal do Ceará¹

greicy_coelho@hotmail.com

Resumo

A esquizofrenia consiste em um transtorno psiquiátrico crônico caracterizado por sintomas como psicose, alucinações, delírios e pensamentos anormais (LARSON; WALKER; COMPTON, 2010). Estudos sugerem que quanto mais cedo forem tratados, melhor prognóstico (CHRISTOPH U. CORRELL, MARTA HAUSER; CORNBLATT., 2010). A fisiopatologia permanece obscura. Estudos encontraram muitas evidências sugerindo que esse transtorno mental tem origem neurodesenvolvimental (PRASADA, et al., 2011; ZUCKERMAN; WEINER, 2005). A hipótese que a associação de agravos no período neurodesenvolvimental com fatores ambientais modulem a patogênese e progressão da doença devido a etiologia de numerosos transtornos mentais sejam frequentemente multifatorial e envolve interações complexas entre experiência de vida e herança genética (SANCHEZ; LADD; PLOTSKY, 2001). Foi utilizado o modelo animal “*two-hits model*” e o teste comportamental aplicado foi o *Y-maze* com objetivo de medir memória de trabalho e a disposição dos roedores para explorar novos ambientes. O programa de computador usado foi o *Graph Pad InStat 3.0* de acordo com one way ANOVA seguido pelo teste *post hoc* Tukey. O critério de significância utilizado foi de $p \leq 0,05$. Ao final do estudo, observamos diferenças estatísticas significativas entre os grupos submetidos ou não ao enriquecimento ambiental, demonstrando que um ambiente sugestivamente saudável promova a prevenção sendo sinérgico no tratamento das esquizofrênia.

Palavras-chave: Esquizofrenia. Modelo neurodesenvolvimental. POLY I:C. Enriquecimento ambiental.

Introdução

Um transtorno mental complexo de expressão fenotípica variável e etiologia multifatorial mal compreendida. É assim como a Esquizofrenia é compreendida no amplo consenso no âmbito acadêmico e clínico. Uma participação genética bastante considerável, mas provavelmente



heterogênea entre fatores ambientais que interagem com a suscetibilidade genética. Comumente, ocorrem desvios precoces nos padrões do neurodesenvolvimento precedendo o aparecimento dos sintomas psicóticos clássicos (JABLENSKY et al., 1992).

Possui prevalência em 1% da população mundial, principalmente na população jovem adulta com idade entre 20 e 35 anos, iniciando precocemente na adolescência. Por ser um severo transtorno mental que acompanha o paciente por toda a vida, geralmente evoluem com significativo sofrimento, limitando seu potencial funcional, conduzindo a uma incapacidade social e laboral em mais de 50% dos casos, tornando-se assim uma das 10 doenças mais caras do mundo (KESSLER et al., 2005; MURRAY; LOPEZ, 1996).

O reconhecimento precoce e a prevenção da esquizofrenia são áreas de pesquisa de grande interesse, porque os estudos mostram diferentes graus de progresso, desde os estados prodrômicos até a esquizofrenia manifesta, dependendo dos critérios utilizados para detectar e avaliar indivíduos de alto risco para desenvolver a doença (GAEBEL, 2011).

O enriquecimento ambiental (EA) é um termo utilizado quando no ambiente é agregado recursos para estimulação física e/ou social maior de animais de laboratório do que receberiam em condições normais de habitação (ROSENZWEIG; BENNETT, 1996).

O objetivo da pesquisa é sugerir possíveis efeitos benéficos preventivos e/ou terapêuticos de intervenções não-farmacológicas como enriquecimento ambiental em modelo neurodesenvolvimental de esquizofrenia em camundongos a partir do teste comportamental *Y-Maze*.

Materiais e Métodos

Animais

Foram utilizados na procriação camundongos fêmeas e machos adultos (30-40g), provenientes do Biotério Central da Universidade Federal do Ceará (UFC), ambientados em grupos de 8 animais em caixas de propileno 26 ± 2 °C, a ciclo claro/escuro de 12 h, recebendo ração padrão e água “*ad libitum*”.

Os experimentos foram conduzidos de acordo com a Comissão de Ética em Pesquisa Animal da Universidade Federal do Ceará - CEPA, salientando que todos os esforços foram feitos para minimizar o sofrimento dos animais. A presente pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética e



Pesquisa Animal (CEPA) da UFC, com protocolo nº 136/14.

Modelo de esquizofrenia induzida por estimulação imune pré-natal e estresse na adolescência (modelo dos dois desafios – “two-hits model”)

O ácido poliriboinosínico:poliribocitídilico (Poly I:C. [Polyinosinic:polycytidylic acid]) foi administrado nos filhotes no 5 dia de nascido. Este período equivale ao último trimestre da gestação humana, que corresponde a um período de grande sensibilidade para o desenvolvimento de esquizofrenia e autismo após infecção materna (BROWN *et al.*, 2004). O volume de injeção será de 2 ml/kg. No 21º dia após o nascimento os filhotes serão desmamados e mantidos 4-6 por uma caixa em polipropileno autoclavável com dimensões 50x60x22 cm.

O modelo de esquizofrenia que foi utilizado foi baseado em trabalho recentemente publicado aplicando o modelo dos dois desafios relacionado à etiologia da esquizofrenia em humanos (GIOVANOLI *et al.*, 2013). Para tanto além do desafio imune pré-natal os animais foram submetidos a eventos estressantes na adolescência. O estresse foi aplicado entre os dias 35 a 45 após o nascimento com intervalo de 1 dia. Os estressores aplicados foram: dia 1 – choque elétrico nos pés (0,3 mA) com duração de 1 s; dia 3 – estresse por contenção durante 45 min; dia 5 – privação de água por 16 h; dia 7 – duas seções de nado forçado com 1 min cada; dia 9 – mudança repetida de caixas (figura 1).

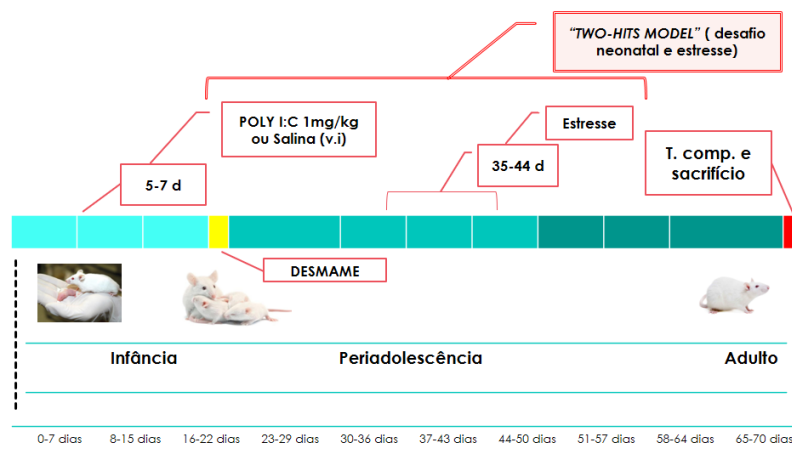


Figura 1. Linha da vida do animal.

Os animais foram submetidos ao teste comportamental *Y-Maze*. O teste tem como objetivo medir



a disposição dos roedores para explorar novos ambientes. Os roedores geralmente preferem investigar um novo braço do labirinto em vez de retornar para um que foi visitado anteriormente. Deste modo, a memória de trabalho do animal também é avaliada. Um animal por vez será colocado no labirinto, será colocado na extremidade de um braço (30 cm de comprimento e 6 cm de largura por 20 cm de altura) e poderá mover-se livremente através dos braços durante uma sessão de 8 min. A série de entradas nos braços será registrado visualmente. O sucesso da alternância dos braços será definida como a entrada dos animais em braços sucessivamente diferentes, exemplo: 123, 321, 132, contabilizado a partir do primeiro braço de entrada e sempre em sequência de três. A porcentagem de alternância correta será calculada da seguinte forma: $[(\text{total de alternâncias} / \text{total de entradas nos braços} - 2) * 100]$, como previamente descrito (DALL'LGNA et al, 2007).

Resultados e Discussão

Os sintomas cognitivos da esquizofrenia podem ser avaliados pela a determinação da porcentagem do desempenho da memória de trabalho e disposição dos roedores para explorar novos ambientes. Os dados mostraram que os animais submetidos a estratégia não farmacológica do Enriquecimento Ambiental apresentaram um aumento significativo no teste *Y Maze*.

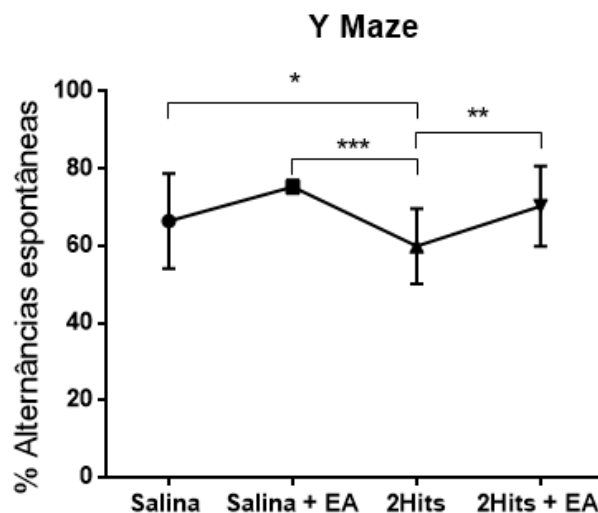


Figura 2. Efeito do EA nos grupos controle e prevenção e/ou tratamento submetidos ao teste de Labirinto em Y. Cada barra representa \pm erro padrão da média (n=8-10 por grupo) do percentual de $p \leq 0.05$ de acordo com 1 way ANOVA seguido pelo teste *post hoc* Tukey.



Os animais do grupo controle Salina ($70,38 \pm 3,583$) apresentaram porcentagem de acertos nas alternâncias de braços do Labirinto em Y dentro dos parâmetros normais esperados e relatados na literatura. O grupo controle positivo - *2Hits* ($58,09 \pm 2,986$) quando comparado com o grupo salina apresentou redução significativa da memória de trabalho, como esperado, pois o grupo *2hits* sofreu os insultos, mas não foi submetido ao EA. O grupo Salina + EA ($75,30 \pm 0,5588$) quando comparado com o grupo *2Hits* apresentou diferença significativa maior entre todas as comparações, demonstrando que o EA tem efeito positivo sobre a performance cognitiva. Quando estabelecida a comparação entre o grupo *2hits*+AE ($70,85 \pm 3,039$) e o grupo *2Hits*, mais uma vez, o EA no grupo *2hits*+AE mostrou aumento significativo na memória de trabalho. As outras comparações não demonstraram diferenças significativas.

Uma das deficiências cognitivas mais estudadas e reprodutíveis na esquizofrenia é uma deficiência na memória de trabalho (RAKIC; SELEMON, 2017). A memória de trabalho requer a capacidade de formar rapidamente traços de memória de eventos únicos e a capacidade de distinguir informações atualmente válidas de informações antigas e já inválidas (ZENG et al., 2001). Dificuldades em algumas tarefas de memória de trabalho também podem ser devidas a uma menor flexibilidade comportamental (CRIDER, 2017). A flexibilidade comportamental reduzida também estão entre as características de deficiências cognitivas de pacientes esquizofrênicos, portanto, essas tarefas de "memória de trabalho" em roedores são bastante úteis na avaliação da deficiência cognitiva relevante para a esquizofrenia (POWELL; MIYAKAWA, 2014).

Conclusão

Concluimos que o Enriquecimento Ambiental nos grupos submetidos a essa estratégia, alcançaram melhores resultados quanto ao desempenho cognitivo, memória de trabalho e interesse pela exploração dos braços do labirinto em Y. Observamos diferenças estatísticas significativas dos grupos submetidos ao enriquecimento ambiental em comparação aos que não foram submetidos ao enriquecimento ambiental, demonstrando que um ambiente sugestivamente saudável possivelmente promova a prevenção ao aparecimento de transtornos mentais e com potencialmente sinérgico no tratamento da esquizofrenia.



Agradecimentos



Referências

- CHRISTOPH U. CORRELL, MARTA HAUSER, A. M. A. AND B. A.; CORNBLATT. Research in People with the Psychosis Risk Syndrome: A Review of the Current Evidence and Future Directions. **Child Psychol Psychiatry**, v. 51, n. 4, p. 390–431, 2010.
- CRIDER, A. Perseveration in Schizophrenia. n. September, p. 63–74, 2017.
- GAEBEL, W. **Schizophrenia: Current Science and Clinical Practice**. [s.l.: s.n.].
- JABLENSKY, A. et al. Schizophrenia - Manifestations, Incidence and Course in Different Cultures - a World-Health-Organization 10-Country Study. **Psychological Medicine**, p. 1–97, 1992.
- KESSLER, R. C. et al. Lifetime Prevalence and Age-of-Onset Distributions of DSM-IV Disorders in the National Comorbidity Survey Replication. **Archives of General Psychiatry**, v. 62, n. 6, p. 593, 2005.
- KONASALE M. PRASADA, RICHARD SANDERSB, JOHN SWEENEYC, DEBRA MONTROSEA, VAIBHAV DIWADKARA, DIANA DWORAKOWSKIA, JEAN MIEWALDA, M. K. Neurological abnormalities among offspring of persons with schizophrenia: Relation to premorbid psychopathology. **Schizophr Res.**, v. 108, p. 163–169, 2011.
- MURRAY, C. J. L.; LOPEZ, A. D. Evidence-based health policy--lessons from the global burden of disease study. **Science**, v. 274, n. 5288, p. 740–743, 1996.
- POWELL, C. M.; MIYAKAWA, T. Uniquely Human Disorder? v. 59, n. 12, p. 1198–1207, 2014.
- RAKIC, S. Q.; SELEMON, L. D. Functional and Anatomical Aspects of Prefrontal Pathology in Schizophrenia. n. September, p. 437–458, 2017.
- ROSENZWEIG, M. R.; BENNETT, E. L. Psychobiology of plasticity: Effects of training and experience on brain and behavior. **Behavioural Brain Research**, v. 78, n. 1, p. 57–65, 1996.
- ZENG, H. et al. Forebrain-Specific Calcineurin Knockout Selectively Impairs Bidirectional Synaptic Plasticity and Working / Episodic-like Memory. v. 107, p. 617–629, 2001.
- ZUCKERMAN, L.; WEINER, I. JOURNAL OF Maternal immune activation leads to behavioral and pharmacological changes in the adult offspring. v. 39, p. 311–323, 2005.