



Unifesspa - 21 a 25 de Setembro de 2015

I Seminário de Projetos Integrados
I Jornada de Extensão
I Seminário de Iniciação Científica
I Encontro de Pós-Graduação

SENSIBILIZAÇÃO DEPENDENTE DE TEMPO EM ZEBRAFISH (*Danio rerio*) COMO MODELO DE TRANSTORNO DE ESTRESSE PÓS-TRAUMÁTICO: VALIDADE DE FACE

Laís do Socorro dos Santos Rodrigues¹ - UEPA/Marabá

Suellen de Nazaré dos Santos Silva² - UEPA/Marabá

Rhayra Xavier do Carmo Silva³ - UEPA/Marabá

Monica Gomes Lima⁴ - UEPA/Marabá

Caio Maximino de Oliveira⁵ - Unifesspa

Agência Financiadora: PIBIC/PROFIT

Eixo Temático/Área de Conhecimento: Psicobiologia

1. INTRODUÇÃO

A sensibilização dependente de tempo é um fenômeno no qual a exposição a um estressor intenso e inescapável aumenta a responsividade a estressores heterotípicos após um período de incubação (ARBOR et al., 1997), e é observado em humanos (STAM, 2007a) e animais de laboratório (STAM, 2007b). Característico do fenômeno é a resposta de longo prazo a exposição breve a estressores, produzindo alterações fisiológicas e comportamentais que persistem ou aumentam com o tempo (STAM; BRUIJNZEEL; WIEGANT, 2000; YEHUDA; ANTELMAN, 1993). Esse fenômeno é relevante para a modelagem de transtornos relacionados ao trauma e a estressores (MATAR; ZOHAR; COHEN, 2013), como o transtorno de estresse pós-traumático (TEPT), uma debilitante consequência da exposição a eventos traumáticos que produz rememoração intrusiva do evento, evitação de memórias angustiantes e/ou pistas externas dos eventos traumáticos, cognição e humor negativos, e alterações marcadas na excitabilidade e reatividade associadas com o evento (CÂMARA FILHO; SOUGEY, 2001). Assim, modelos comportamentais de TEPT que replicam alterações em múltiplos modelos neurocomportamentais, de maneira dependente da intensidade do estressor, e com persistência das alterações, apresentam alto valor de face (GOSWAMI et al., 2013). Além disso, considerando que apenas ~30% dos indivíduos expostos a eventos traumáticos desenvolve TEPT (GREEN, 1994), modelos comportamentais para esse transtorno devem produzir variabilidade inter-individual, com parcelas semelhantes dos animais testados apresentando sintomas (MATAR; ZOHAR; COHEN, 2013).

O zebrafish (*Danio rerio* Hamilton 1822) tem emergido como um modelo útil para o estudo de funções genéticas, neurofarmacológicas e comportamentais (KALUEFF; ECHEVARRIA; STEWART, 2014). A sua utilização possibilita uma série de vantagens, tais como o baixo custo de aquisição e manutenção, facilidade de manuseio e acomodação, curto tempo de vida e facilidade de reprodução em laboratório. Essa espécie apresenta um comportamento de defesa típico após contato com uma substância de alarme (SA) co-específica liberada durante a lesão de células epiteliais especializadas (JESUTHASAN;

¹ Graduanda do Curso de Bacharelado em Biomedicina (CCBS/UEPA-Marabá). Bolsista PIBIC/FAPESPA. E-mail: laisrodriguesbiomedic@gmail.com

² Graduanda do Curso de Bacharelado em Biomedicina (CCBS/UEPA-Marabá). Bolsista PIBIC/FAPESPA. E-mail: suellenazare@yahoo.com.br

³ Graduanda do Curso de Bacharelado em Biomedicina (CCBS/UEPA-Marabá). Bolsista do Programa de Monitoria da UEPA. E-mail: rhayra.xavier@gmail.com

⁴ Doutora em Neurociências e Biologia Celular pela UFPA. Professora Assistente da Universidade do Estado do Pará (CCBS/UEPA-Marabá). E-mail: monica.lima@uepa.br

⁵ Doutor em Neurociências e Biologia Celular pela UFPA. Professor Adjunto da Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará (FACISB/IESB/Unifesspa). E-mail: cmaximino@unifesspa.edu.br



Unifesspa - 21 a 25 de Setembro de 2015

I Seminário de Projetos Integrados
I Jornada de Extensão
I Seminário de Iniciação Científica
I Encontro de Pós-Graduação

MATHURU, 2008) . O presente trabalho teve como objetivo avaliar a sensibilização dependente de tempo 24 h após exposição à SA em zebrafish adultos e avaliar parâmetros desse modelo que possam elevar seu valor de face.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

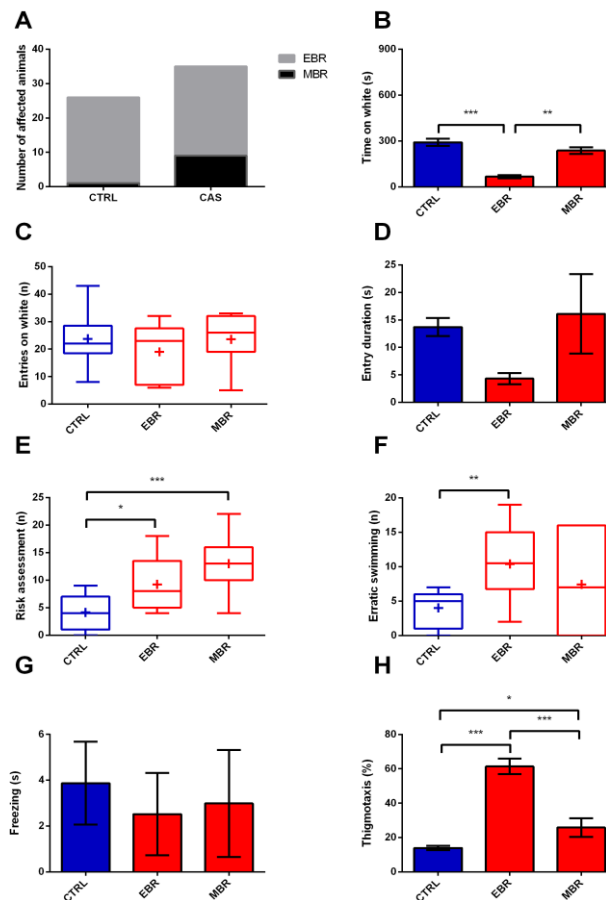
60 animais do fenótipo *longfin* foram adquiridos em lojas de aquarismo locais e alojados em aquários coletivos por pelo menos 2 semanas antes do início dos experimentos. As condições de alojamento seguiram padrões estabelecidos para a espécie (LAWRENCE, 2007) . Os animais foram expostos em grupos de 6 a água destilada ou SA, extraída conforme protocolo estabelecido previamente (MAXIMINO et al., 2014) . Após 6 min de exposição, os animais foram transferidos para aquários coletivos contendo água pura, onde foram mantidos por 24 h antes do início dos experimentos. Após esse período de incubação, os animais foram avaliados no teste de preferência claro/escuro por 15 min (MAXIMINO et al., 2010) , e as seguintes variáveis foram registradas: tempo no compartimento branco; número e duração das entradas no compartimento branco; frequência de avaliação de risco e nado errático; duração de congelamento e tigmotaxia. Os animais foram classificados como apresentando Resposta Comportamental Extrema (RCE) se permaneceram < 90 s no compartimento branco e apresentaram >50% de tigmotaxia no compartimento branco; se permaneciam > 300 s no compartimento branco e apresentavam < 30% de tigmotaxia, foram classificados como apresentando Resposta Comportamental Mínima (RCM). A prevalência de animais afetados foi analisada por testes exatos de Fisher, e as diferenças no comportamento de animais não-expostos, RCE, e RCM foram analisadas por ANOVAs de uma via.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

25,74% dos animais expostos à SA alcançaram o critério para RCE, e 20% alcançaram o critério para RCM 24 h após a exposição; em animais não-expostos, somente 4% alcançaram o critério para RCE, e 96% alcançaram o critério para RCM ($p = 0,034$). Animais classificados como RCE passaram menos tempo no compartimento branco do que animais não-expostos e animais RCM ($F_{2, 38} = 17.53$, $p < 0.0001$; Figura 1A). O número de entradas no branco (Figura 1B) não diferiu significativamente entre os grupos ($H_{gl = 38} = 0.7635$, NS), mas a duração das entradas foi menor em animais RCE do que nos outros grupos (Figura 1C; $F_{2, 38} = 3.546$, $p = 0.039$). A avaliação de risco foi maior tanto em RCE quanto em RCM em relação a animais não-expostos (Figura 1D; $H_{gl = 38} = 16.66$, $p = 0.0002$), e a tigmotaxia foi maior em animais RCE do que nos outros grupos (Figure 1E; $F_{2, 38} = 76.66$, $p < 0.0001$). O nado errático (Figura 1F) foi maior em animais RCE do que animais não-expostos, mas não do que em animais RCM ($H_{gl = 38} = 10.28$, $p = 0.0059$); não houveram diferenças no congelamento entre os grupos ($F_{2, 38} = 0.1$, NS).

Unifesspa - 21 a 25 de Setembro de 2015

I Seminário de Projetos Integrados
I Jornada de Extensão
I Seminário de Iniciação Científica
I Encontro de Pós-Graduação



4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados indicam que a exposição à SA é capaz de produzir alterações comportamentais robustas em zebrafish, com padrões de diferenças inter-individuais que sugerem bom valor de face para a modelagem do TEPT. Estudos futuros deverão identificar bases moleculares e fisiológicas dessas diferenças, explorando mecanismos potenciais de tratamento comportamental e farmacológico para pacientes com TEPT.

REFERÊNCIAS

- ARBOR, A. et al. Stress-restress: Effects on ACTH and fast feedback. *Psychoneuroendocrinology*, v. 22, p. 443–453, 1997.
- CÂMARA FILHO, J. W. S.; SOUGEY, E. B. Transtorno de estresse pós-traumático: Formulação diagnóstica e questões sobre comorbidade. *Revista Brasileira de Psiquiatria*, v. 23, p. 221–228, 2001.
- GOSWAMI, S. et al. Animal models of post-traumatic stress disorder: Face validity. *Frontiers in Neuroscience*, v. 7, p. Article 89, 2013.
- GREEN, B. L. Psychosocial research in traumatic stress: An update. *Journal of Traumatic Stress*, v. 7, p. 341–362, 1994.



Unifesspa - 21 a 25 de Setembro de 2015

I Seminário de Projetos Integrados
I Jornada de Extensão
I Seminário de Iniciação Científica
I Encontro de Pós-Graduação

- JESUTHASAN, S. J.; MATHURU, A. S. The alarm response in zebrafish: Innate fear in a vertebrate genetic model. **Journal of Neurogenetics**, v. 22, p. 211–229, 2008.
- KALUEFF, A. V; ECHEVARRIA, D. J.; STEWART, A. M. Gaining translational momentum: More zebrafish models for neuroscience research. **Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry**, v. 55, p. 1–6, 1 mar. 2014.
- LAWRENCE, C. The husbandry of zebrafish (*Danio rerio*): A review. **Aquaculture**, v. 269, p. 1–20, 2007.
- MATAR, M. A.; ZOHAR, J.; COHEN, H. Translationally relevant modeling of PTSD in rodents. **Cell and Tissue Research**, v. 354, p. 127–139, 2013.
- MAXIMINO, C. et al. Scototaxis as anxiety-like behavior in fish. **Nature Protocols**, v. 5, p. 209–216, 2010.
- MAXIMINO, C. et al. Fluoxetine and WAY 100,635 dissociate increases in scototaxis and analgesia induced by conspecific alarm substance in zebrafish (*Danio rerio* Hamilton 1822). **Pharmacology, Biochemistry, and Behavior**, v. 124C, p. 425–433, 2014.
- STAM, R. PTSD and stress sensitisation: A tale of brain and body. Part 1: Human studies. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 31, p. 530–557, 2007a.
- STAM, R. PTSD and stress sensitisation: A tale of brain and body. Part 2: Animal models. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 31, p. 558–584, 2007b.
- STAM, R.; BRUIJNZEEL, A. W.; WIEGANT, V. M. Long-lasting stress sensitisation. **European Journal of Pharmacology**, v. 405, p. 217–224, 2000.
- YEHUDA, R.; ANTELMAN, S. M. Criteria for rationally evaluating animal models of posttraumatic stress disorder. **Biological Psychiatry**, v. 33, p. 479–486, 1993.