

ESTUDO DO COMPORTAMENTO DE CAMUNDONGOS WISTER DECORRENTE DA INFLUÊNCIA DO ESTRESSE SONORO E LUMINOSO

VASQUES- ARAÚJO, T.; PRIANTI – JUNIOR, A. C. G.

Graduandos em Ciências Biológicas da Universidade do Vale do Paraíba (UNIVAP) – Laboratório de Ciências Biológicas. Estrada Municipal do Limoeiro, 250, Jd.Dora, CEP: 12300-000 – Jacareí – SP.

Resumo - O trabalho constitui na observação do comportamento exploratório em campo aberto, sendo que cada animal foi observado por 10 minutos (duas vezes de cinco minutos). As análises realizadas na observação dos cinco minutos do real comportamento foram: locomoção periférica, locomoção central, levantar, tempo de imobilidade, tempo de limpeza e defecação. O experimento foi dividido em três etapas a primeira semana caracterizaram-se por uma fase de adaptação onde os animais receberam um ciclo de 12 horas claro/ escuro, na segunda semana os animais receberam estresse sonoro durante todo o dia e na terceira semana os camundongos foram mantidos em luminosidade constante durante 24 horas. Todos os animais apresentaram um maior comportamento exploratório nos primeiros 5 minutos e diminuindo no segundo 5 minutos. O tratamento que obteve maior significância foi no estresse luminoso observado através do parâmetro de defecação (2,57 fezes por animal), pelos resultados do campo aberto pode se observar que os animais apresentaram um maior estresse durante o período de estresse lumino.

Palavras-chave: Campo aberto, Estresse luminoso, Estresse sonoro.

Área do Conhecimento: Fisiologia

Introdução

O estudo do comportamento animal é extremamente importante para se obter o conhecimento sobre a diversidade de seus costumes (MORROW - TESCH et al, 1998). O uso de animais de laboratório em pesquisa, em particular os camundongos servem de modelos simplificados do comportamento humano. (FAGUNDES & TAHA, 2004; CARVALHO & LOPES, 2006). Com isso os camundongos tornaram-se fundamentais em estudos etológicos e permitem que os novos fármacos sejam avaliados antes de serem testados em seres humanos.

O campo aberto foi desenvolvido por Hall (1934) para o estudo da emocionalidade em ratos, normalmente o procedimento consiste em confrontar o animal com a novidade do ambiente e observar comportamentos como os movimentos locomotores que são os deslocamentos entre um ponto a outro da arena, os movimentos de exploração ou não locomotores que são aqueles que o animal pode realizar sem a necessidade de deslocamento como, por exemplo, elevação vertical, cheirar o ambiente e autolimpeza. Em experimentos com roedores, estes comportamentos são essenciais para compreender o efeito de diferentes drogas psicoestimulantes e ansiolíticas. (PRUT & BELZUUNG, 2003; EILAM, 2003)

Os experimentos do campo aberto ocorrem em uma arena de formato variável, geralmente, circular ou retangular. No teste o pesquisador pré-determina o tempo em que o animal permanecerá

na arena, em seguida é verificada e registrada a região em que o animal se encontra. Após o término do tempo pré-definido, retira-se o animal. A execução do teste é feita sucessivamente com todos os animais do grupo do experimento. (MACHADO et al, 2006).

O objetivo deste trabalho é avaliar o comportamento dos camundongos em teste de campo aberto que foram submetidos a estresse sonoro e luminoso visto que a maioria dos biotérios possui exaustores e lâmpadas que podem ocasionalmente permanecer ligadas por 24 horas.

Metodologia

Este trabalho foi realizado no laboratório de biologia no campus Villa Branca na cidade de Jacareí – SP, como parte da disciplina de Etologia experimental.

O experimento foi submetido à aprovação do comitê de ética, sendo realizado após a mediante aprovação. (nº.: A 08/ CEP/ 2008)

Neste estudo foram utilizados cinco camundongos da espécie Wister, adultos, jovens, com peso médio entre 15 a 22 g. do sexo masculino adquiridos do biotério ANILAB. Os mesmos foram mantidos em caixas de polietileno forradas com maravalha (especial para laboratório) que foram trocadas diariamente. Os animais foram alimentados com ração padronizada Labina® e água “ad libitum” em

condições ambientais de temperatura, umidade e luminosidade controlados.

O trabalho constituiu de observações do comportamento exploratório em campo aberto, cada animal foi observado por 10 minutos (duas tomadas de cinco minutos). Os primeiros cinco minutos foram de adaptações e os minutos restantes foram para análise do real comportamento.

Os parâmetros analisados foram:

- Locomoção periférica: refere-se quando o animal passa para o outro quadrante com as quatro patas. No campo aberto esse movimento está relacionado à ansiedade e medo.

- Locomoção central: tem os mesmos parâmetros para locomoção periférica, mas acontece na região central. Esse movimento mostra o grau de ansiedade.

- Levantar: é quando o animal eleva os membros superiores e a cabeça, ficando apoiado somente pelos membros inferiores. Este parâmetro relaciona-se a calma.

- Tempo de imobilidade: mensurado em segundos, significa o tempo que o animal ficou imóvel, indicando a tranquilidade do animal.

- Tempo de limpeza: foi o tempo dispensado para limpeza feita quando o animal passa os membros superiores sobre a cabeça. Está relacionado à tranquilidade.

- Defecação: foi o número de vezes que o animal defecou. Este parâmetro indica que o animal apresenta medo ao ambiente novo.

Esse experimento foi dividido em três etapas, na primeira etapa, durante uma semana foi realizada a adaptação e controle com observações diárias em campo aberto sendo que os animais foram submetidos a um ciclo de 12 horas claro/ escuro.

Durante a segunda etapa os animais foram submetidos ao estresse sonoro de um exaustor (Exaustor axial E40 M 8P, 785 RPM, 07/04 AMP, 50/60 hz, 1/20Hp, 42m³/min, 5 min/H₂O, 115/200 v) emissão de ruídos de 58 dBs (conforme fabricante) por 24 horas durante uma semana. As observações foram realizadas diariamente no campo aberto no biotério do IP&D no campus Urbanova em São José dos Campos - SP.

Na ultima etapa, por uma semana os animais foram expostos ao estresse luminoso, ou seja, os animais foram privados do escuro durante esta semana.

Para análise estatística foram utilizadas médias ± SEM teste ANOVA e foram considerados significantes valores de p<0,05.

Resultados

Com os dados entre as duas tomadas de 5 minutos de observação tanto para o grupo controle quanto para os grupos submetidos ao estresse sonoro e luminoso, observou-se uma redução da ansiedade e do medo à exposição a um ambiente novo, no caso a arena do campo aberto, caracterizado pela redução da locomoção periférica (Figura 1) e da defecação (Figura 2), ao diminuir as unidades percorridas entre as duas tomadas de tempo, grupo controle houve uma redução de 57,02 unidades percorridas, no grupo de estresse sonoro 34,83 unidades a menos, e no grupo de estresse luminoso 25,56 unidades.

A adaptação ao ambiente não se traduziu num processo no quais os animais se mostraram mais tranquilos, pois não houve acréscimo significativo no tempo destinado à limpeza e em que permaneceu imóvel. Fatos observados para os grupos controle e submetidos ao estresse sonoro.

Os mesmos grupos também não apresentaram acréscimo significativo no movimento levantar e no movimento central.

Os animais submetidos ao estresse luminoso quando analisados nos parâmetros limpeza e movimento de levantar apresentou comportamento oposto aos outros dois grupos, mas não o suficiente para ser considerado significativo. Quando avaliado os parâmetros imobilidade e movimento central também não foi considerado significativo.

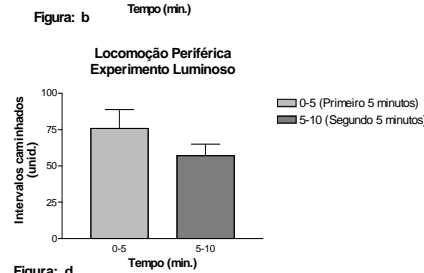
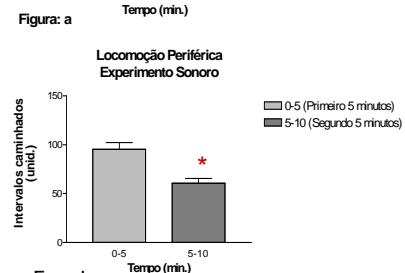
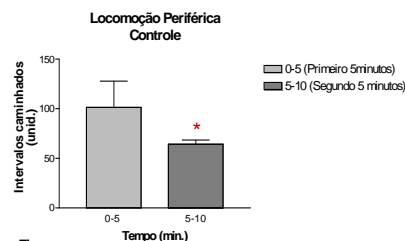


Figura 1: Relação de locomoção periférica em 10 minutos de observação: (A) controle.; (B) estresse sonoro; (C) estresse luminoso. Foram considerados significativos * $p < 0,05$.

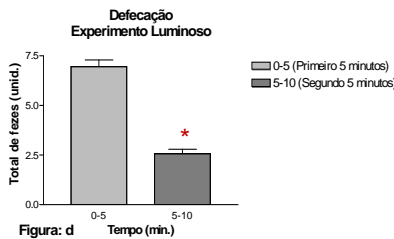
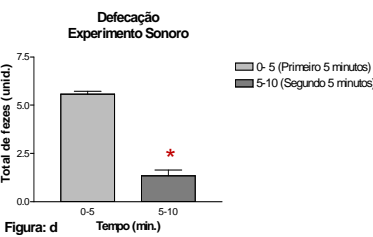
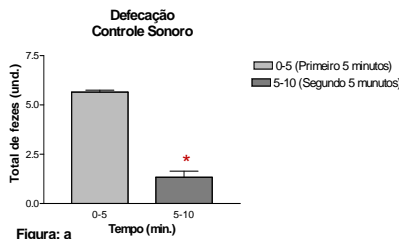


Figura 2: Relação de defecação em 10 minutos de observação: (A) controle; (B) estresse sonoro; (C) estresse luminoso. Foram considerados significativos * $p < 0,05$.

A figura 3 (A) mostra os primeiros 5 minutos em relação à defecação entre o estresse sonoro (5,6 unidades) e estresse luminoso (6,8 unidades) a figura 3 (B) apresenta os cinco minutos finais entre o estresse sonoro (1,2 unidades) e estresse luminoso (2,6 unidades), no entanto todos os parâmetros foram significativos $p < 0,05$.

Como pode ser observado na figura 3 e 4 (B) o estresse luminoso mostrou-se muito mais intenso em induzir o medo ao animal quando comparado ao grupo que sofreu estímulo sonoro.

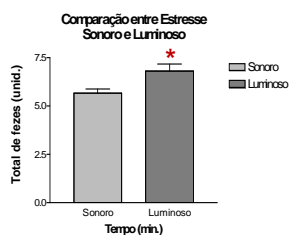


Figura a. Comparação entre o estresse sonoro e luminoso nos primeiros cinco minutos. (05min)

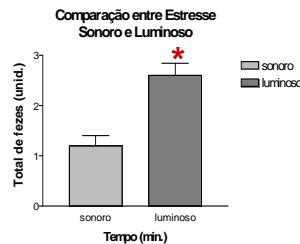


Figura b. Comparação entre o estresse sonoro e luminoso no segundo cinco minutos (5-10 min.)

Figura 3: Comparação entre o estresse sonoro e o estresse luminoso. Figura a: comparação nos primeiros 5 minutos (0-5 min.). Figura b: comparação nos segundos 5 minutos (5-10 min.).

Quando comparado os três grupos estudos no parâmetro para locomoção periférica nos cinco minutos finais houve uma redução quando comparado o controle (64,4 unidades), estresse sonoro (60,6 unidades) e estresse luminoso (47,4 unidades), não foram significativos $p < 0,05$. (Figura 4)

Para defecação o controle (1,2 unidades) obteve um valor igual ao estresse sonoro (1,2 unidades), e um aumento em relação ao estresse luminoso (2,6 unidades) sendo significativo apenas no estresse luminoso. (Figura 4)

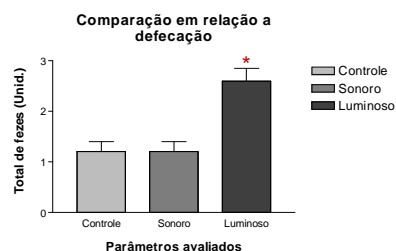


Figura 4: Comparação entre controle, estresse sonoro e estresse luminoso nos 5 minutos finais: (A) locomoção periférica; (B) defecação. Foram considerados significativos * $p < 0,05$.

Comparando os grupos controle, estresse luminoso e sonoro observou-se que os estímulos não foram suficientemente intensos para promover alteração comportamental, no caso agitação, porém em relação ao medo, o estímulo luminoso já foi capaz, com mostra a figura 4.

Discussão

Segundo RAMOS et al (1997), LISTER (1990), PRUT et al (2003), CAROLA et al (2002) os animais em estudo de campo aberto preferem o

deslocamento na periferia. Estes dados foram semelhantes aos obtidos nestes estudos para locomoção periférica (60,6 unidades), mostrando que os animais apresentaram um comportamento de ansiedade provavelmente devido à exploração de um ambiente novo.

FILE (2001) demonstrou que o novo, ou seja, a primeira exposição pode gerar imobilidade ou extrema locomoção periférica no aparelho.

Os dados obtidos estresse luminoso (2,6 unidades), vem a confirmar a afirmação de que o alto grau de defecação é devido à exposição ao novo ambiente provocando assim a ativação do sistema nervoso autônomo. (RODGERS et al, 1997; LISTER, 1990; PRUT et al 2003 e RAMOS et al 1998). CAROLA et al (2002) em estudos demonstrou uma correlação negativa (inversa) em que quanto mais o animal anda menos ele defeca. Outros autores discordam, já que vários trabalhos demonstram decréscimo tanto na ambulação quanto na defecação (RAMOS et al, 1997)

NASELLO et al (1998) em seus testes observou um aumento de atividades locomotoras quando se testaram os animais no campo aberto na ausência de luminosidade ou em situação de escuridão repentina.

Ruído variando de 55 a 95 dB em ratos produzem alterações nos comportamentos alimentares, reduzindo a duração e ingestão; aumentando velocidade de comer, latência e aumentando a defecação, exploração, limpeza e o tempo de descanso (KREBS et al, 1996). Postula-se que há uma redução do comportamento alimentar como forma adaptativa para enfrentar meios perigosos, aumentando o alerta do sistema simpático-adrenal

Conclusão

O presente trabalho mostrou que há diferença comportamental quando animais, são expostos a estresse luminoso por um período prolongado principalmente no que se refere à defecação.

Referências

- CAROLA, V.; D'OLIMPIO; BRUNAMONTI, E.; MANGIA, F.; RENZI, P. **Evaluation of the elevated plus-maze and open-field tests for the assessment of anxiety-related behavior in inbred mice.** Behavioral Brain Research; 134: 49-57, 2002
- CARVALHO, T. H. F.; LOPES, O.U. **O emprego de camundongo geneticamente modificado como modelo de estudo para doenças cardiovasculares.** In: X Simpósio Brasileiro de Fisiologia Cardiovascular, volume 39, pages 110-116. Ribeirão Preto, Brasil, 2006

- EILAM, D. **Open- field behavior withstands drastic changes in arena size.** Behavioural Brain Research, 142: 53-62, 2003

- FAGUNDES, D. J.; TAHA, M. O. **Modelo animal de doença: critérios de escolha e espécie de animais de uso corrente.** Acta Cirúrgica Brasileira, 19: 59-65, 2004

- FILE, S. E. **Factors controlling measures of anxiety and responses to novelty in the mouse.** Behavioural Brain Research 125; 151- 157, 2001

- LISTER, G. **Ethologically-based animal models of anxiety disorders.** Pharmac. Ther; 46: 321-340, 1990

- KREBS, H et al., 1996. Appetite, 26.

- MACAHDO, B. B.; SILVA, J. A; GONÇALVES, W. N.; PISTOR, H.; SOUZA, A. S. **Topolino: Software livre para automatização do experimento do Campo aberto.** Anais do XV Seminário de Computação, Blumenau, 20-22, 2006

- MORROW- TESCH, J. ; DAILEY, J. W.; JLANG, H. **A video data base system for studying animal behavior.** Journal of Animal Science, 76 (10), 1998

- NASELLO, A. G.; MACHADO, C.; BASTOS, J. F. & FELICIO, L. F. **Sudder darkness induces a high activity- low anxiety state in male and female rats.** Physiology & Behavior, 63, 451-454, 1998

- PRUT. L.; BELZUNG, C. **The open field as a paradigm to measure the effects of drugs on anxiety-like behaviors: a review.** European Journal of Pharmacology, 3-33, 2003

- RODGERS, R. J; CAO, B.J; DALVI, A; HOLMES, A. **Animal models of anxiety: an ethological perspective.** Brazilian Journal of Medical and Biological Research; 30: 289-304, 1997

- RAMOS, A.; BERTON, O., PIERRE, M.; CHAUOFF, F. **A multiple-test study of anxiety-related behaviors in six inbred rat strains.** Behavioral Brain Research; 85: 57-69, 1997.