

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FISIOLOGIA E FARMACOLOGIA

BRUNA LOPES RESENDE

EFEITOS COMPORTAMENTAIS DO ESTRESSE POR SEPARAÇÃO  
MATERNAL SÃO SEXO-DEPENDENTES E DISTINTOS NA PRÉ-  
PUBERDADE E NO INÍCIO DA VIDA ADULTA

BELO HORIZONTE

2024

BRUNA LOPES RESENDE

**Efeitos comportamentais do estresse por separação maternal são sexo-dependentes e distintos na pré-puberdade e no início da vida adulta**

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas: Fisiologia e Farmacologia, do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Fisiologia.

Orientador: Bruno Rezende de Souza

Belo Horizonte, fevereiro de 2024

043

Resende, Bruna Lopes.

Efeitos comportamentais do estresse por separação maternal são sexodependentes e distintos na pré-puberdade e no início da vida adulta [manuscrito] /Bruna Lopes Resende. – 2024.

78 f. : il. ; 29,5 cm.

Orientador: Profa. Dr. Bruno Rezende de Souza.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Fisiologia e Farmacologia.

1. Fisiologia. 2. Crescimento e Desenvolvimento. 3. Adolescente. 4. Criança. 5. Pesquisa Comportamental. 6. Estresse Psicológico. I. Bruno Rezende de Souza. II. Universidade Federal de Minas Gerais. Instituto de Ciências Biológicas. III. Título.

CDU: 612



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FISIOLOGIA E FARMACOLOGIA

**FOLHA DE APROVAÇÃO DA DISSERTAÇÃO DE MESTRADO Nº 583 DE BRUNA LOPES RESENDE**

**"Efeitos Comportamentais do Estresse por Separação Maternal São Sexo-dependentes  
e Distintos na Pré-puberdade e no Início da Vida Adulta"**

**BRUNA LOPES RESENDE**

Dissertação de Mestrado defendida e aprovada, no dia **05 de fevereiro de 2024**, pela Banca Examinadora constituída pelos seguintes professores:

**Prof. Dr. Marco Antônio Peliky Fontes** - ICB/Universidade Federal de Minas Gerais

**Prof. Dr. Antônio Carlos Pinheiro de Oliveira** - ICB/Universidade Federal de Minas Gerais

**Prof. Dr. Bruno Rezende de Souza** - ICB/Universidade Federal de Minas Gerais - Orientador

**Belo Horizonte, 05 de fevereiro de 2024**



Documento assinado eletronicamente por **Bruno Rezende de Souza, Professor do Magistério Superior**, em 26/02/2024, às 14:56, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020.



Documento assinado eletronicamente por **Marco Antonio Peliky Fontes, Professor do Magistério Superior**, em 27/02/2024, às 09:17, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020.



Documento assinado eletronicamente por **Antonio Carlos Pinheiro de Oliveira, Professor do Magistério Superior**, em 20/03/2024, às 15:04, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020.



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site [https://sei.ufmg.br/sei/controlador\\_externo.php?acao=documento\\_conferir&id\\_orgao\\_acesso\\_externo=0](https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0), informando o código verificador **3048233** e o código CRC **E249DCF0**.

## AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, Bruno, pela confiança, apoio e empenho em tornar o ambiente acolhedor. Obrigada pelas discussões, pelas ideias, pela empolgação, por se interessar por quase tudo e fazer tudo parecer interessante. Guardo com muito carinho a sensação de liberdade que você cultivou e que tornou todas as discussões muito naturais e leves.

Ao Caio e à Sofia, por tudo que está nessa dissertação. É um privilégio dividir esse projeto com vocês. Todas as amostras, dados e resultados são nossos, assim como foram nossos os dramas ao longo do caminho, os finais de semana, os experimentos e os cuidados.

À Laila, pela amizade, pelas discussões e pela parceria de laboratório durante anos. Esse projeto, assim como o meu trajeto de mestrado, é repleto de marcas da sua presença e das nossas conversas. À Muiara, por ter sido a primeira pessoa a me confiar qualquer experimento e pela paciência e carinho durante os meus primeiros anos de pesquisa.

Aos meus colegas de laboratório, pela coletividade, e por construírem este trabalho e tanto mais comigo. Eu não consigo expressar o quanto sou grata pela contribuição prática e teórica de vocês neste projeto. Em especial, agradeço à Ana Luiza, pelas conversas, apoio, e pela ajuda nos dias finais de escrita. À Anna Clara, pelo interesse em continuar este trabalho, pelo qual tenho tanto carinho. À Duda, pelas piadas e companhia, e pelos carinhos no cabelo. Ao João e Matheus, pelas péssimas piadas, pela diversão, pelo carinho e por tanta ajuda. E à Bia, o Maracia, a Nathália e a Heloísa por, de formas diferentes e em diferentes momentos, contribuírem para a construção deste projeto, e pela participação na minha trajetória.

Aos funcionários, principalmente o pessoal do biotério, da secretaria e da limpeza, por tornarem este trabalho possível. Em especial, ao Alexander, pela solicitude e por me guiar sempre que necessário nos processos relacionados ao mestrado. E às agências de fomento, Capes, CNPq e Fapemig, pelo financiamento do laboratório e pela minha bolsa.

Aos meus colegas da pós-graduação, por estarem do meu lado na trajetória acadêmica, pelas lutas conjuntas, pelas discordâncias e pelas construções. Especialmente, agradeço ao Íkaro pela ajuda nas análises, e aos companheiros da representação discente.

Aos professores do programa de pós-graduação em Fisiologia e Farmacologia. Em especial, ao André, ao Cleiton, ao Diogo, à Fátima e ao Thiago, pelo carinho, confiança, diversão e apoio no meu tempo de mestrado. Também aos professores Antônio Carlos e Marco Fontes, por aceitarem participar da minha banca e contribuir para o aprimoramento deste trabalho.

Aos meus mais que amigos, Couy, Guilherme, Luana e Raniele. Nem eu e nem este trabalho existiríamos sem vocês. Vocês estão presentes em todas as pontinhas de quem eu sou, e obrigada por estarem presentes também no meu mestrado. Aos demais amigos e pessoas queridas que ajudaram a trazer leveza ao meu período de mestrado.

À minha família, pelo apoio desde sempre, e pelo amor. Sobretudo à minha mãe, Ermínia, por ser inspiração; ao meu padrasto, Eduardo, por ser um super pai; à minha irmã, Carol, por ser leve e pelas demonstrações de orgulho; e à minha irmã, Laís, pela presença, apoio, e por dividir tanto do mundo comigo. Dedico, enfim, um espaço ao meu pai, *in memoriam*, por me inspirar curiosidade nos meus primeiros anos.

Ao Bruno, por todo o amor, pela coragem e por tudo que fez por mim e comigo. É um privilégio compartilhar os dias e construir a vida com você. Obrigada por ser sentido no absurdo de existir.

Enfim, a todos que vieram antes de mim e a todos que estão comigo,

Obrigada.

“Defendo a posição de que a ciência não é uma máquina objetiva e dirigida para a verdade, mas uma atividade quintessencialmente humana, afetada por paixões, esperanças e preconceitos culturais”

Stephen Jay Gould

## RESUMO

Interações complexas entre o organismo, seu ambiente e sua ontogênese formam a base para os padrões comportamentais observados na vida adulta, e tanto o comportamento cotidiano quanto distúrbios comportamentais observados ao longo da vida podem decorrer de processos desenvolvimentais. Essa perspectiva é consoante com dados que mostram que a maioria dos transtornos psiquiátricos aparece antes da vida adulta, com um aumento da incidência de transtornos de humor, de ansiedade, alimentares e esquizofrenia durante a adolescência. Dentre os fatores de risco para a emergência desses transtornos está a exposição ao estresse no início da vida. É neste período que processos como a neurogênese, sinaptogênese e a poda sináptica acontecem em maior intensidade, sendo a poda sináptica um dos processos mais relevantes para o refinamento da comunicação neuronal. A hipótese deste estudo é de que a interação do estresse no início da vida com processos neurodesenvolvimentais leva a diferentes estratégias comportamentais em camundongos adolescentes e adultos. Para testar nossa hipótese, camundongos machos e fêmeas foram submetidos ao estresse por separação maternal durante as duas primeiras semanas de vida e, a partir do dia pós-natal P28 ou P58, todos os animais passaram por uma bateria de testes comportamentais para avaliação de comportamento motor/exploratório e tipo-ansioso. Neste estudo, observamos que, durante a adolescência, camundongos machos expostos ao estresse por separação maternal apresentaram uma hiperlocomção no teste de campo aberto, além de um aumento na latência para a primeira entrada no compartimento escuro na caixa claro/escuro; enquanto fêmeas perderam a preferência por estímulos sociais característica da adolescência. No teste de análise de variância, o fator “exposição ao estresse” foi relacionado a menos tempo no compartimento escuro na caixa claro/escuro; a menos entradas no braço fechado, no centro e menos cruzamentos entre regiões no labirinto em cruz elevado. Ainda, o fator “sexo” em si é relacionado a uma diferença comportamental basal na caixa claro/escuro. Quando os mesmos testes foram realizados em animais adultos, a única alteração a permanecer foi a influência do fator “estresse” no labirinto em cruz elevado. No nosso trabalho, observamos uma mudança de resposta ao estresse na infância através da passagem da adolescência para a vida adulta e, com isso, enfatizamos a importância do estudo de diferentes fases desenvolvimentais e ressaltamos a importância de considerar experiências particulares a períodos formativos específicos ao discutir o bem-estar social e a saúde ao longo da vida.

Palavras-chave: desenvolvimento; adolescência; infância; estresse; comportamento.



## ABSTRACT

### **Behavioral effects of maternal separation stress are sex-specific and distinct in prepuberty and early adulthood**

Complex interactions among the organism, its environment, and its ontogenesis form the foundation for behavioral patterns observed in adulthood. Both everyday behavior and behavioral disorders can result from developmental processes. This perspective aligns with data indicating that most psychiatric disorders emerge before adulthood, with higher incidence of mood, anxiety, and eating disorders, as well as schizophrenia, during adolescence. Notably, early-life stress exposure is a risk factor for the onset of these disorders. During this period, processes such as neurogenesis, synaptogenesis, and synaptic pruning occur more intensely, with synaptic pruning being one of the most relevant means for refining neuronal communication. The hypothesis of this study is that early-life stress interacts with neurodevelopmental processes and leads to different behavioral outcomes in adolescent and adult mice. To test this hypothesis, male and female mice were subjected to maternal separation stress during the first two weeks of life. From postnatal day P28 or P58, all animals underwent a battery of behavioral tests for assessment of motor/exploratory and anxiety-like behaviors. In this study, we observed that during adolescence, male mice exposed to maternal separation exhibit hyperlocomotion in the open field test, along with an increased latency to first explore the dark compartment in the light/dark box; while females lost the preference for social stimuli characteristic to the adolescence. According to the analysis of variance, the “stress exposure” factor was associated with less time in the dark compartment in the light/dark box, fewer entries into the closed arms and center of the elevated plus maze, as well as fewer crossing between regions. Further, the “sex” factor itself was related to a basal behavioral difference in the light/dark box. When the same tests were performed in adult mice, the only remaining alteration was the influence of exposure to stress in the elevated plus maze. In our study, we observed a shift in early-life stress response from adolescence to adulthood, thus emphasizing the relevance of studying different developmental phases, and highlighting the significance of considering experiences that are particular to formative periods when discussing social well-being and health.

Keywords: development; adolescence; childhood; stress; behavior.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1. Padrão temporal de alguns processos desenvolvimentais.....	17
FIGURA 2. Representação simplificada dos eixos de resposta ao estresse.....	20
FIGURA 3. Relação hipotética entre o estresse no início da vida e a reatividade biológica.....	23
FIGURA 4. Representação do protocolo experimental.....	29
FIGURA 5. Efeitos do estresse por separação maternal em camundongos adolescentes no teste de Campo Aberto.....	33
FIGURA 6. Teste de Preferência Social em camundongos machos e fêmeas adolescentes que passaram por estresse na infância.....	33
FIGURA 7. Efeitos do estresse por separação maternal em camundongos adolescentes na Caixa Claro/Escuro.....	34
FIGURA 8. Efeitos do estresse por separação maternal em camundongos adolescentes no Labirinto em Cruz Elevado.....	36
FIGURA 9. Efeitos do estresse por separação maternal em camundongos adultos no teste de Campo Aberto.....	37
FIGURA 10. Preferência Social em camundongos machos e fêmeas adultos que passaram por estresse de separação maternal durante a infância.....	38
FIGURA 11. Efeitos do estresse por separação maternal em camundongos adultos na Caixa Claro/Escuro.....	38
FIGURA 12. Efeitos do estresse por separação maternal em camundongos adolescentes no Labirinto em Cruz Elevado.....	39

# SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>11</b>
1.1. A concepção teórica contemporânea da infância .....	11
1.2. Períodos críticos do desenvolvimento .....	13
1.3. Estresse .....	17
1.4. Estresse no início da vida e adaptabilidade .....	20
1.5. Neurodesenvolvimento e estresse .....	23
<b>2. JUSTIFICATIVA E HIPÓTESE .....</b>	<b>26</b>
<b>3. OBJETIVOS .....</b>	<b>26</b>
3.1. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	26
<b>4. MATERIAIS E MÉTODOS .....</b>	<b>27</b>
4.1. Animais Experimentais.....	27
4.2. Protocolo Experimental .....	28
4.3. Testes Comportamentais.....	29
4.3.1. Teste de Campo Aberto .....	29
4.3.2. Teste de Preferência Social .....	29
4.3.3. Caixa Claro/Escuro .....	30
4.3.4. Labirinto em Cruz Elevado.....	30
4.4. Eutanásia e Coleta de Amostras .....	31
4.5. Análises Estatísticas .....	31
<b>5. RESULTADOS.....</b>	<b>31</b>
5.1. O estresse por separação materna leva à hiperlocomoção em camundongos machos no início da adolescência.....	31
5.2. Camundongos fêmeas que passaram pelo estresse de separação materna apresentam ausência de preferência por estímulo social durante a adolescência .....	32
5.3. Camundongos machos adolescentes expostos ao estresse de separação materna possuem maior tempo de latência para a primeira entrada no escuro na Caixa Claro/Escuro	33
5.4. O fator “exposição ao estresse” influencia o comportamento de camundongos adolescentes no Labirinto em Cruz Elevado .....	34
5.5. Animais adultos não apresentam alterações no teste de Campo Aberto em resposta à Separação Materna .....	35
5.6. Animais adultos que passaram por separação materna possuem preferência por estímulo social no teste de Preferência Social.....	36
5.7. Camundongos machos e fêmeas adultos que passaram por estresse na infância não possuem alterações comportamentais na Caixa Claro/Escuro .....	37

5.8. O estresse na infância e o sexo foram fatores relevantes para o comportamento de camundongos adultos no Labirinto em Cruz Elevado .....	38
<b>6. DISCUSSÃO .....</b>	<b>39</b>
<b>7. CONCLUSÃO.....</b>	<b>50</b>
<b>8. REFERÊNCIAS.....</b>	<b>50</b>
<b>9. ANEXOS .....</b>	<b>76</b>

## 1. INTRODUÇÃO

### 1.1. A concepção teórica contemporânea da infância

*“The Child is the Father of Man”*

*(William Wordsworth, 1802)*

No curso da história, a “infância” foi inventada diversas vezes, em diferentes culturas, sociedades e tradições filosóficas (TESAR, 2016). Porém, a concepção ocidental contemporânea da infância como período crucial para o desenvolvimento fisiológico, psicológico e comportamental do indivíduo tem suas bases no Iluminismo dos séculos XVII e XVIII (ROBERTSON, 1974). Especialmente, os filósofos Thomas Hobbes (1588-1679), John Locke (1632-104) e Jean-Jacques Rousseau (1712-1778) tiveram imensa influência no campo de estudos da infância nos séculos seguintes, criando um campo virtual específico para o agente sociológico infantil.

Em seu estudo de 2016, Tesar resume a influência de Hobbes na percepção da criança como sendo essencialmente má, com a necessidade de ser controlada principalmente pela mãe. Divergentemente, Locke vê a criança como uma *tabula rasa*, um sujeito “vazio” que necessita ser moldado pela família e a sociedade para que possa se tornar um agente social. Rompendo com as tradições, Rousseau caracteriza a criança como um sujeito em seu estado mais natural, bom e inocente, precisando de cuidado para seu desenvolvimento saudável – especialmente, Rousseau substitui a criança de Locke, que é condicionada a ser controlada, por uma criança autêntica e possuidora de história própria (RYAN, 2008; TESAR, 2016). Em seus estudos, o autor Peter Coveney defende que, além de criar a “criança autêntica”, a grande inovação de Rousseau foi a importância dada à infância não como um caminho para a vida adulta, mas como um período autônomo por si só – ou seja, a criança sendo seu próprio sujeito, e não apenas um “futuro adulto” (COVENEY, 1967).

Dessa forma, foi criada a base para o que viria a ser a “criança romântica”. Na tradição romântica (principalmente nos séculos XVIII e XIX), emergia um crescente interesse na criança em relação à sua educação, à sua natureza e à sua individualidade (STROUP, 2004). Essa emergência se deve, em parte, a William Wordsworth (1770-1850), frequentemente referido como um “poeta da infância”. Wordsworth foi um dos primeiros a considerar as emoções e experiências das crianças como base de formação da identidade adulta. Em seu poema de 1802, *“My Heart Leaps Up”*, ele afirma *“the child is the father of man”* (WORDSWORTH, 1987), uma das frases mais conhecidas da literatura poética.

Essa concepção de infância se contrapõe à visão tradicional de que todas as crianças se desenvolvem de forma altamente similar – visão esta que dá menor importância às variações decorrentes da experiência individual (VELIKI; DUFFY, 2020).

A concepção romântica da infância é centrada na história de vida individual, na criança como criatura inocente e em contato com a natureza, e em seu desenvolvimento pessoal moldado pelo meio social. Desse modo, ao invés de utilizar marcos generalizados para o desenvolvimento infantil, autores românticos focavam em experiências pessoais e no desenvolvimento a partir destas (AUSTIN, 2003). Sob essa ótica, diversos autores passaram a centralizar a infância (própria ou alheia) em seu trabalho. Samuel Taylor Coleridge (1772-1864), por exemplo, trata sobre o tema a partir de uma poética de expressão emocional (STROUP, 2004). Thomas de Quincey (1785-1859), por outro lado, busca na própria infância a essência das suas emoções, e em seus traumas passados a causa dos pesadelos que o assombraram até a sua morte (VIGARELLO, 2016).

É a partir dessa base literária e teórica que surge, no final do século XIX, uma psicologia da infância inicial, que é centralizada nas sensações e emoções orgânicas (VIGARELLO, 2016). Em 1882, por exemplo, o fisiologista William Thierry Preyer (1841-1897) publica seu livro “*Die Seele des Kindes*” (A alma das crianças, em português), um livro clássico na psicologia desenvolvimental, no qual o autor documenta o desenvolvimento de sua própria filha. O livro é escrito em consonância com os estudos de Charles Darwin (1809-1882), observando a expressão das emoções como uma herança ancestral compartilhada com outros animais; em seu estudo, Preyer considera a hereditariedade e a atividade individual ao analisar o desenvolvimento infantil – e o faz a partir dos sentidos, das sensações e emoções, das manifestações de vontades e do desenvolvimento intelectual (PREYER, 1888).

Nesse momento, a perspectiva da infância como formadora do indivíduo (e de suas características que permanecem até a vida adulta) permeia estudos psicológicos, fisiológicos e psiquiátricos. Em 1872, Desiré Magloire Bourneville (1840-1909) apresenta um estudo de caso no qual associa “abalos” e “crises de contrações” a lembranças e eventos traumáticos do passado – sendo essa a primeira vez que uma representação psicológica “perdida”, ou esquecida, é associada de forma causal a um transtorno físico (VIGARELLO, 2016); é também nesse tempo que os ‘sintomas nervosos’ são relacionados às condições de vida do indivíduo. Em “*À l’ombre des jeunes filles en fleurs*” (o segundo volume da obra “Em busca do tempo perdido”), Marcel Proust (1871-1922) também retrata uma ideia do corpo como guardião de um passado esquecido,

possuindo então “lembranças” que não são representadas – sobre isso, o autor Georges Vigarello (1941-) discute uma ‘vida desaparecida’, experiências do passado (não representadas como imagem mental) fazendo parte do corpo e do indivíduo (VIGARELLO, 2016).

Ao longo do século XX, muitas das ideias anteriores foram desenvolvidas e representadas em diversos campos de estudo e na arte, e escritores da educação como Paulo Freire, John Dewey e, mais tarde, bell hooks, se apropriaram de muitos desses pensamentos para elaborar suas análises comparativas. O comum dos estudos da infância nos tempos contemporâneos é a concepção de que a experiência autêntica das crianças faz parte de seu desenvolvimento, em diferentes instâncias, agregando os conceitos de agência própria e engajamento à experiência infantil (RYAN, 2008). Myra Bluebond-Langner (1948-), em seu livro “*The private world of dying children*” (1978), discute que, para o desenvolvimento intelectual, de suas habilidades e de sua identidade, se impõe sempre necessária a colocação da experiência individual, autônoma e da história de vida das próprias crianças (BLUEBOND-LANGNER, 2020).

Os estudos da infância ganharam grande espaço de estudo nos últimos séculos. Jane Addams (1860-1935) afirma, em seu livro “*The spirit of Youth and the city streets*” (1909), que “o momento mais precioso do desenvolvimento humano é a asserção de que ele não é como nenhum outro ser humano, e tem uma contribuição individual a fazer no mundo” – ou seja, de que ele é um agente social (ADDAMS, 1909; tradução própria). Para Addams, a possibilidade de existir de forma socialmente ativa, interagindo com o mundo e promovendo neste mudanças materiais, é o que cria a possibilidade de progresso ao desestabilizar o *status quo* (RYAN, 2008) – por isso, a autora defende a concepção das crianças também como grupo social ativo, autônomo e composto de características próprias que devem ser valorizadas como tal.

## **1.2. Períodos críticos do desenvolvimento**

Padrões comportamentais na vida adulta são resultados de interações complexas entre o organismo, seu ambiente e sua ontogênese – portanto, comportamentos e transtornos comportamentais observados ao longo da vida podem decorrer de processos desenvolvimentais. De fato, os transtornos de ansiedade, depressão e até os comportamentos suicidas são frequentemente observados sob perspectivas neurodesenvolvimentais (ANSORGE; HEN; GINGRICH, 2007; LEONARDO; HEN, 2008; TURECKI *et al.*, 2012). Essa perspectiva está de acordo com dados que mostram que a maioria dos sintomas de transtornos psiquiátricos aparece antes mesmo da vida

adulta, com um aumento de incidência de transtornos de humor (incluindo os depressivos), de ansiedade, alimentares, e esquizofrenia durante a adolescência (DALSGAARD *et al.*, 2020; KESSLER *et al.*, 2007) – período durante o qual o suicídio é a quarta maior causa de morte (Global Health Estimates 2000-2019, Organização Mundial de Saúde).

Desde o nascimento e durante toda a vida, os organismos vivos estão em constante mudança – e é através dessas mudanças que o corpo se desenvolve e se adapta ao seu meio. O período pós-natal inicial é particularmente reconhecido pela capacidade de mudar, sendo o neurodesenvolvimento, em si, caracterizado por padrões complexos de interação e reorganização de sistemas (Figura 1) (YOUSIF; FATEMI; JOHNSTON, 2017).

A plasticidade característica do cérebro transparece, ao longo da vida, através das dinâmicas momentâneas de circuitos neurais e de modificações epigenéticas; entretanto, alguns processos em larga escala são restritos a períodos maturacionais específicos, chamados de períodos críticos do desenvolvimento (REH *et al.*, 2020). Processos como a neurogênese, sinaptogênese e a poda neural são fundamentais para a plasticidade fenotípica adaptativa que permite ao organismo se ajustar às condições ambientais específicas nas quais está inserido (MEREDITH, 2015).

Durante a infância, há um aumento de espessura cortical relacionado a processos de arborização dendrítica, crescimento axonal e sinaptogênese (INNOCENTI; PRICE, 2005; JOHNSTON *et al.*, 2009) – processos que acontecem de forma região-dependente, com regiões sensoriais alcançando seu pico de densidade sináptica antes de regiões associativas (HUTTENLOCHER; DABHOLKAR, 1997; LI, G. *et al.*, 2015). Essa variação temporal de sinaptogênese entre diferentes regiões é importante para a conectividade do cérebro mais tarde, na vida adulta (HUTTENLOCHER; DABHOLKAR, 1997). Ainda durante a infância, ocorre o início de um processo desenvolvimental de refinamento cortical (que se estende até a adolescência e o início da vida adulta) o qual, nesse período, é associado tanto à poda sináptica quanto à mielinização (NATU *et al.*, 2019; STILES; JERNIGAN, 2010). Esse padrão de desenvolvimento caracterizado por uma rápida ascensão seguida por declínio de densidade sináptica é considerado, a partir de modelos computacionais, um otimizador metabólico no cérebro (CHECHIK; MEILIJSON; RUPPIN, 1998).



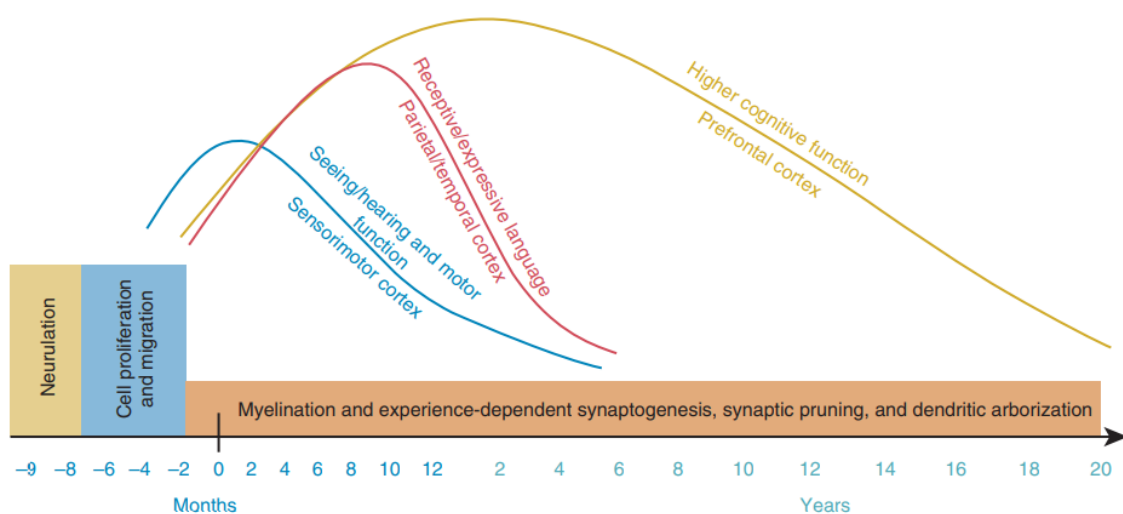
O próximo período crítico do desenvolvimento é a adolescência. A adolescência é marcada por alterações de comportamento social, comportamento de risco, aumento de busca por sensações e experiências novas e variadas, e contínuo desenvolvimento cognitivo (ANDREWS; AHMED; BLAKEMORE, 2021; SAWYER *et al.*, 2018; SPEAR, 2000). Esses comportamentos caracterizam um período transicional entre a infância e a vida adulta, e se sobrepõem com a puberdade, mudanças de proporções corporais e adaptações a componentes ambientais e sociais. Concomitantemente, há a ocorrência de processos maturacionais em regiões corticais e límbicas do cérebro, incluindo mudanças estruturais de volume de diferentes regiões, de balanço excitatório/inibitório, de arborização neural, de densidade e tipos celulares, de mielinização, entre outras (CASEY; JONES; HARE, 2008). A combinação de todas essas mudanças desenvolvimentais torna a adolescência um período muito sensível e com alta plasticidade, no qual há uma intensa responsividade ao ambiente no que diz respeito à maturação do cérebro (DUMONTHEIL, 2016; EBERT, 2015; FUHRMANN; KNOLL; BLAKEMORE, 2015; PFEIFER; ALLEN, 2021; PIEKARSKI *et al.*, 2017). Essa dinamicidade acontece, em grande parte, por um processo essencial para o refinamento dos circuitos neurais – a poda sináptica.

A poda sináptica, ou poda neural, é a eliminação fisiológica de sinapses, um processo fundamental para o desenvolvimento do cérebro (EBERT, 2015; SELEMON, 2013). Faust e colegas definem a poda sináptica como “um processo desenvolvimental no qual elementos que compõem estruturalmente uma sinapse (terminais pré-sinápticos e membranas pós-sinápticas) são eliminados, o que também pode incluir a remoção de pequenos segmentos axonais e ramificações dendríticas” (Faust *et al.*, 2021; tradução própria).

O processo de poda pode acontecer de diferentes formas. Por exemplo, a poda pode acontecer de maneira atividade-dependente, como no circuito das células ganglionares da retina e no núcleo geniculado lateral, assim como em circuitos internos cerebelares; nesses casos, há uma espécie de competição Hebbiana em que determinadas sinapses são eliminadas, e as sinapses de atividade mais síncrona dentro do circuito são mantidas (ANDJUS *et al.*, 2003; BURBRIDGE *et al.*, 2014; BUTTS; KANOLD; SHATZ, 2007; CANG *et al.*, 2005; KANO; WATANABE, 2019; KAWAMURA *et al.*, 2013; MIKUNI *et al.*, 2013; MUIR-ROBINSON; HWANG; FELLER, 2002; PENN *et al.*, 1998; WATANABE; KANO, 2011). A poda também pode acontecer de maneira experiência-dependente. Isso acontece no sistema somatossensorial (GUNNER *et al.*, 2019;

SADAKA *et al.*, 2003; WIMMER *et al.*, 2010), inclusive através de superestimulação (BIAN, W.-J. *et al.*, 2015). No sistema visual de roedores, a privação sensorial de um dos olhos leva à diminuição de arborização tálamo-cortical, assim como uma diminuição de espinhas dendríticas correspondentes ao olho indisponível, enquanto que o oposto é visto nas correspondentes ao olho aberto (HUH *et al.*, 2020; SUN, Y. J. *et al.*, 2019; TREMBLAY; LOWERY; MAJEWSKA, 2010; ZHOU *et al.*, 2020).

Os mecanismos através dos quais a poda sináptica acontece também são diversos. Alguns componentes conhecidos do sistema imune são importantes reguladores da poda, como o complexo principal de histocompatibilidade (MHC) (de forma ainda obscura), as pentraxinas e integrantes do sistema complemento (MCALLISTER, 2014; MORIMOTO; NAKAJIMA, 2019; STEPHAN; BARRES; STEVENS, 2012; XU *et al.*, 2003). A atividade mitocondrial também foi relacionada à poda sináptica, de forma que terminais sinápticos com maior densidade de mitocôndrias foram relacionados a sinapses mais fortes e estáveis (LEES; JOHNSON; ASHBY, 2020; SUN, T. *et al.*, 2013). Finalmente, a atividade de células da glia é fundamental para que a poda sináptica aconteça. Os astrócitos já foram descritos na poda sináptica hipocampal, do sistema retino-geniculado e *in vitro*, por exemplo (BYUN; CHUNG, 2018; CHUNG *et al.*, 2013; LEE, J.-H. *et al.*, 2021); inclusive, a interação dos astrócitos com as micróglias possibilita uma regulação da fagocitose sináptica (JAY *et al.*, 2019). Porém, no fim, a célula majoritariamente relacionada ao processo de poda sináptica desenvolvimental é a micróglio, uma célula responsiva a alterações locais e a estímulos ambientais, como, por exemplo, o estresse (FROST; SCHAFER, 2016; PAOLICELLI; GROSS, 2012; PAOLICELLI *et al.*, 2011b; SCHAFER *et al.*, 2012).



**Figura 1. Padrão humano de desenvolvimento de regiões cerebrais é temporalmente assíncrono.** O neurodesenvolvimento pós-natal é caracterizado por seus padrões complexos de interação e desenvolvimento de sistemas. Processos neurodesenvolvimentais continuam ocorrendo após o nascimento, possibilitando plasticidade fisiológica e comportamental ao organismo e, portanto, facilitando a adaptação a ambientes dinâmicos. (Fonte: Woodward & Hüppi, 2018)

### 1.3. Estresse

Em diferentes campos de estudos, assim como em diferentes períodos da história, é possível encontrar variadas definições para o termo “estresse”. Especialmente na área das ciências biológicas, o termo “estresse” é geralmente utilizado de forma qualitativa (diferente da natureza quantitativa atribuída nas ciências físicas), e é definido como o conjunto das respostas adaptativas do corpo a eventos adversos de várias naturezas, podendo ou não levar à manutenção da homeostase do organismo (KIM; KIM, 2023).

O primeiro pesquisador a utilizar o termo “estresse” em sentido biológico foi Hans Selye (1907-1982), que o definiu como uma “resposta inespecífica do corpo para qualquer demanda” (TAN; YIP, 2018). Selye definiu a resposta fisiológica à estímulos adversos como composta por três fases, sendo: (1) a reação de alarme; (2) o período de resistência; e (3) o estágio de exaustão – juntas, essas fases formariam a tríade da Síndrome de Adaptação Geral, ou a “síndrome do estresse”, ou seja, uma sequência de reações fisiológicas genéricas em resposta a situações adversas (SELYE, 1975). A teoria de Selye recebeu muita atenção e gerou grandes discussões e avanços na área de estudos em fisiologia. John W. Mason (1924-2014), por exemplo, foi um grande crítico da “síndrome do estresse” de Selye ao advogar por um papel mais significativo de fatores emocionais na resposta a eventos adversos (SELYE, 1975). Walter Cannon (1907-2005) também foi citado pelo próprio Selye como um cético sobre sua teoria do estresse:

Eu tive muitas conversas com Cannon, mas não consegui convencê-lo que a pituitária e o córtex adrenal possuem um papel na resposta ao estresse, ou de que a reação é trifásica e inespecífica. Ele – como Mason – considera a liberação estereotípica de epinefrina como primariamente resultante de excitação ou “estresse nervoso e tensão”, portanto claramente e corretamente a separando dos mecanismos homeostáticos necessários para manter a temperatura corporal, a pressão sanguínea, os níveis circulatórios de cálcio, a glicemia, etc. (Selye, 1975; tradução própria)

Walter Cannon foi um dos fisiologistas mais respeitados do século XX, e o primeiro pesquisador a trabalhar sistematicamente com a fisiologia das emoções (BROWN; FEE,

2002). Em 1915, Cannon havia descrito a resposta de “luta ou fuga”, hoje associada ao estresse agudo, como uma resposta rápida a ameaças externas ou internas; essa resposta seria promovida pelo sistema nervoso simpático e pela liberação de adrenalina, levando a alterações fisiológicas que maximizam a disponibilidade energética (CANNON, Walter B., 1915). Selye se inspirou nos estudos de Cannon pra desenvolver sua própria teoria, na qual já distinguia as respostas do organismo ao estresse agudo e ao estresse crônico – este último sendo o que levaria à “síndrome de adaptação geral” (frequentemente chamada de Síndrome de Selye).

Tanto as formulações de Selye quanto de Cannon se relacionam ao *milieu intérieur* de Claude Bernard (1813-1878) – conceito que Bernard utiliza para descrever o equilíbrio interno do organismo frente às mudanças no ambiente externo; de acordo com ele, essa estabilidade é uma condição necessária à vida (BERNARD, 1974). O próprio conceito vem como uma superação das ideias de forças vitais e de humores, focando em mecanismos de ajuste e em uma fisiologia regulatória (CROSS; ALBURY, 1987). Enquanto Cannon se relacionava às ideias de Bernard ao criar o conceito de “homeostase”, compreendida como uma constância dinâmica dentro de um sistema aberto, mantida por mecanismos regulatórios (CANNON, W B, 1932), Selye liga o eixo hipotálamo-pituitária-adrenal (HPA) à resposta do corpo para lidar com situações adversas (TAN; YIP, 2018).

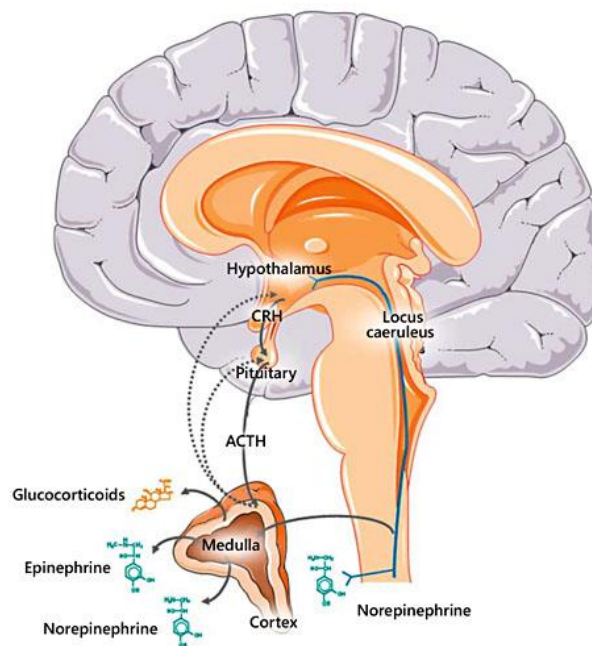
Atualmente, o estresse é usualmente definido como a resposta dinâmica do organismo a um desafio homeostático, estes que podem ser fatores externos (ambientais) ou internos (fisiológicos ou psicológicos) (CHROUSOS; GOLD, 1992). As respostas evocadas por estressores incluem alterações comportamentais (como, por exemplo, o ato de fuga) e fisiológicas, primariamente relacionadas à ação do sistema nervoso autônomo e do eixo HPA (MCEWEN, B. S., 2016).

O sistema nervoso autônomo é subdividido entre o sistema parassimpático e o sistema simpático, ambos importantes no controle involuntário de diversas funções fisiológicas, como a respiração, a digestão, a frequência cardíaca, entre outras. O sistema simpático é especialmente relevante na resposta de estresse, através da liberação de noradrenalina em várias regiões do corpo; uma delas é a medula da adrenal, que então libera adrenalina na corrente sanguínea, o que causa alguns indicadores comuns de estresse – por exemplo, o aumento da frequência cardíaca e respiratória frente a estímulos aversivos (KEMENY, 2003).

Outro sistema de resposta rápida ao estresse é o eixo HPA (Figura 2). A resposta do eixo HPA se inicia através da secreção do hormônio liberador de corticotrofina (CRH, de *corticotropin-releasing hormone*) e da vasopressina (AVP, de *arginine vasopressin*) pelo núcleo paraventricular do hipotálamo (PVN, de *paraventricular nucleus*) no sistema porta-hipofisário. Esse estímulo leva à síntese de pró-opiomelanocortina (POMC) na hipófise (ou pituitária) anterior, que pode ser convertida em corticotrofina (ACTH, de *adrenocorticotropic hormone*), além de outros peptídeos, como opioides e outras melanocortinas. O ACTH é liberado na circulação sistêmica, e é o estímulo desse hormônio no córtex da adrenal que leva à secreção de glicocorticoides (cortisol em humanos, ou corticosterona em roedores) (KLOET; JOËLS; HOLSBOER, 2005).

No cérebro, os glicocorticoides agem através de dois tipos de receptores: os receptores de mineralocorticoides (MR) e os receptores de glicocorticoides (GR). Os MR possuem alta afinidade por glicocorticoides, e são expressos majoritariamente em regiões límbicas, como o hipocampo e a amígdala central, por exemplo; já os GR possuem uma menor afinidade a glicocorticoides, e são expressos virtualmente em todo o cérebro (REUL; KLOET, 1985; REUL; VAN DEN BOSCH; DE KLOET, 1987; REUL; DE KLOET, 1986). Tanto os MR quanto os GR participam de diversos processos, como diferenciação neuronal, excitabilidade e no comportamento, humor e cognição (FITZSIMONS *et al.*, 2013; JOËLS, 2006; KLOET; JOËLS; HOLSBOER, 2005) – todos importantes para responder a situações de estresse (KONING *et al.*, 2019).

Porém, a resposta de estresse é muito complexa e envolve uma quantidade extensa de fatores, incluindo variações individuais relacionadas à ontogenia, com componentes genéticos e ambientais (BOYCE; ELLIS, 2005).



**Figura 2. Representação simplificada dos eixos de resposta ao estresse.** Após um estímulo estressor, neurônios do PVN liberam CRH e AVP através do sistema porta-hipofisário. Na hipófise anterior (ou pituitária), há a liberação de ACTH para circulação sistêmica, o que estimula a secreção de glicocorticóides pelo córtex da glândula adrenal. PVN: núcleo paraventricular do hipotálamo; CRH: hormônio liberador de corticotrofina; AVP: vasopressina; ACTH: corticotrofina. (Fonte: Nicolaides et al., 2015)

#### 1.4. Estresse no início da vida e adaptabilidade

No estudo recente de Kim & Kim (2023), é proposta uma definição de estresse a partir de três fatores: o estado de excitação (maior excitabilidade durante o estresse), o estado afetivo (percepção de aversão durante o estresse) e o estado cognitivo (ausência de controle durante o estresse). De acordo com os autores, os três fatores são envolvidos na resposta de estresse, de forma necessária, mas não suficiente (KIM; KIM, 2023). Esse conjunto de saídas possíveis são altamente adaptativas durante situações adversas, porém a exposição prolongada a estressores, especialmente em períodos críticos do desenvolvimento, pode levar a efeitos duradouros no funcionamento dos sistemas reativos ao estresse e de outros sistemas, como discutido no tópico anterior (KLOET; JOËLS; HOLSBOER, 2005). Alguns autores atribuem tais efeitos a uma carga alostática, ou seja, o acúmulo de efeitos deletérios causados por uma resposta prolongada e/ou excessiva ao estresse (GUIDI; SONINO; FAVA, 2021; MCEWEN, Bruce S., 1998). Outros revisam essa teoria com a concepção de que a exposição prolongada ao estresse não leva, em si, a um prejuízo desenvolvimental, mas a uma adaptação a condições ambientais altamente estressoras – isso, por sua vez, pode engendrar condições prejudiciais à saúde de longo

prazo (ELLIS; BOYCE, 2008; ELLIS; DEL, 2014; GIUDICE; ELLIS; SHIRTCLIFF, 2011).

Ao longo do desenvolvimento dessa área de estudos, muitos modelos diferentes foram propostos para a compreensão da fisiologia, adaptabilidade e variação comportamental na resposta de estresse. No modelo de estresse de Korte e colegas (2005), estão inclusas as variações genéticas adaptativas nos sistemas de resposta de estresse (KORTE *et al.*, 2005). Esse modelo foi baseado na aplicação da teoria dos jogos dentro do campo da evolução, especificamente através do jogo “*Hawk or Dove*” (Falcão ou Pombo, em português) (SMITH, 1988). De acordo com a proposta de Korte e colaboradores, o processo de seleção natural resultou na permanência de variações alélicas que levam a dois padrões comportamentais possíveis dentro de uma população de determinada espécie: padrão de alta ou baixa agressividade. Ambos os fenótipos podem ou não ser bem adaptados, de acordo com as condições ambientais nas quais estão inseridos.

Porém, apesar de considerar o ambiente na determinação do sucesso de um repertório comportamental geneticamente possível, o modelo de Korte e colegas não inclui a influência do ambiente na própria formação do repertório comportamental (ELLIS; JACKSON; BOYCE, 2006). Meaney e colaboradores, por outro lado, constroem a ideia de uma plasticidade comportamental adaptativa nos sistemas de resposta de estresse (MEANEY; SZYF, 2005; MEANEY, 2001; WEAVER *et al.*, 2004). Essa proposta explora como o ambiente físico e social durante o início da vida pode interferir nos circuitos neurais responsivos ao estresse e levar a padrões comportamentais diversos. Eles desenvolvem, por exemplo, a ideia de que a expressão gênica durante a infância é continuamente regulada, e que diferenças epigenéticas influenciam a resposta fisiológica ao estresse – ou seja, a variação comportamental observada em uma população decorre dessas diferenças.

Outro modelo a ser discutido brevemente é a teoria da história de vida (CHARNOV, 1993; FIGUEREDO *et al.*, 2006; STEARNS, 1998). A teoria da história de vida busca conectar características da história de vida do organismo como um processo de *trade-off* entre a disponibilidade energética e a demanda metabólica de diferentes processos (como crescimento e reprodução, por exemplo). De acordo com esse modelo, estresse e instabilidade no meio onde o organismo está inserido influenciariam na qualidade do investimento parental, sendo um meio mais estável compatível com mais investimento em cuidados da prole. A partir do cuidado parental recebido, cria-se um contexto de

crescimento para os filhotes que, com essas pistas, continuam o processo de *trade-off* energético.

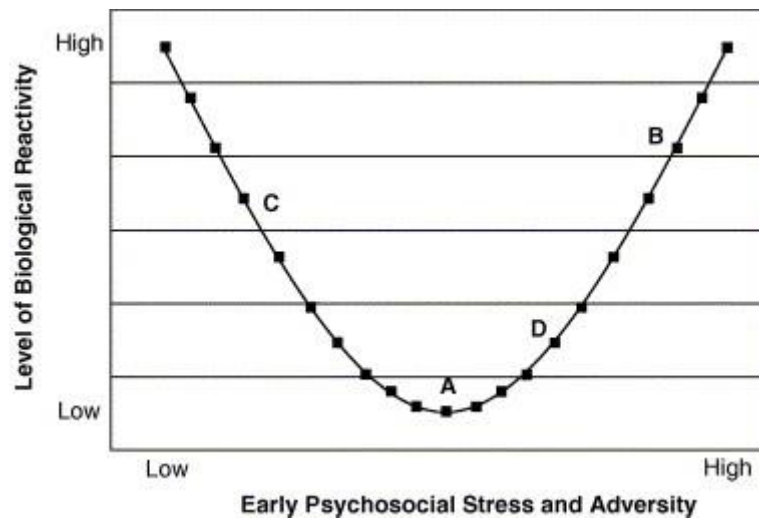
Conceitualizando em consonância com outras teorias, Boyce & Ellis (2005) propuseram o modelo de reatividade biológica ao contexto (BOYCE; ELLIS, 2005; ELLIS; JACKSON; BOYCE, 2006; ELLIS; BOYCE, 2008). De acordo com os autores, a reatividade biológica, ou a suscetibilidade de um organismo ao contexto, é um conjunto de respostas altamente complexas, e é esse dinamismo, em conjunto com o ambiente em que está inserido, que determina a adaptabilidade comportamental daquele organismo. Por exemplo, crianças mais reativas (ou seja, com mais sensibilidade biológica ao contexto) possuem maiores taxas de morbidade quando crescem em ambientes adversos, mas taxas menores que outras crianças quando crescem em ambientes acolhedores (BOYCE; ELLIS, 2005). A partir disso, os autores propõem que: 1. O desenvolvimento infantil em ambientes estressantes aumenta a reatividade ao estresse, o que aumenta a tendência do indivíduo a responder a ameaças; 2. O desenvolvimento infantil em ambientes excepcionalmente acolhedores também aumenta a reatividade ao estresse, aumentando a sensibilidade do indivíduo aos benefícios sociais e desenvolvimentais daquele ambiente; e 3. O desenvolvimento infantil em ambientes entre um e outro extremo diminui a reatividade ao estresse, tamponando o indivíduo nas mudanças de contexto ao longo da vida, em momentos de mais ou menos estresse (Figura 3).

Em vista disso, de acordo com a teoria da sensibilidade biológica ao contexto, o que é chamado de “alta reatividade ao estresse” pode levar a diferentes estratégias comportamentais em diferentes contextos ambientais (ELLIS; BOYCE, 2008). Por exemplo, crianças reativas que cresceram em ambientes acolhedores podem desenvolver características como aumento de percepção de si e do seu meio, maior habilidade de autorregulação e mais controle inibitório – habilidades que contribuiriam para a absorção das vantagens ambientais disponíveis. Por outro lado, crianças reativas que cresceram em ambientes estressantes podem desenvolver maior habilidade de antecipação de riscos – característica que pode possibilitar maior desenvoltura em situações de ameaça.

Enfim, de acordo com o modelo de Boyce & Ellis, é possível que um indivíduo mais vigilante seja melhor adaptado quando considerado em um contexto ambiental estressor, enquanto que, em um ambiente protetivo, é possível atribuir maior adaptabilidade quando o organismo é mais suscetível aos recursos sociais e ambientais (ELLIS; BOYCE, 2008). Portanto, nenhum dos fenótipos é intrinsecamente bom ou ruim, a melhor “estratégia”



varia de acordo com o ambiente físico, econômico e socioemocional do indivíduo (TOOLEY; BASSETT; MACKEY, 2021).



**Figura 3. Relação hipotética entre o estresse no início da vida e a reatividade biológica.** De acordo com a hipótese da reatividade biológica ao contexto, há uma curva em U no que diz respeito ao estresse no início da vida e o fenótipo de reatividade biológica de um organismo. No exemplo esquematizado na figura, se comparados os pontos A (experiência média de estresse no início da vida, níveis baixos de reatividade) e B (experiência de alto estresse no início da vida, altos níveis de reatividade), seria possível concluir que o estresse no início da vida é relacionado a uma maior reatividade; por outro lado, se comparados os pontos C (baixa experiência de estresse no início da vida, níveis altos de reatividade) e D (experiência de maior, mas ainda baixo, estresse no início da vida, níveis baixos de reatividade), seria plausível concluir que o estresse no início da vida é associado a uma menor reatividade. (Fonte: BOYCE & ELLIS, 2005)

### 1.5. Neurodesenvolvimento e estresse

Mesmo que os sistemas de resposta de estresse sejam adaptativos, a exposição prolongada a estressores pode levar a efeitos duradouros no funcionamento dos sistemas de resposta ao estresse e de outros sistemas (KLOET; JOËLS; HOLSBOER, 2005). Essa exposição prolongada ao estresse é especialmente relevante quando se dá em períodos sensíveis do neurodesenvolvimento – dentre eles, o início da vida (MARCO; MACRÌ; LAVIOLA, 2011; MEREDITH, 2015). Em humanos, há uma forte associação entre diferentes tipos de estresse durante a infância (e.g. negligência, maus-tratos, morte de membro da família, abuso sexual, emocional e/ou psicológico, entre outros) e a emergência, gravidade e cronicidade de transtornos de depressão e ansiedade (BJÖRKENSTAM;

VINNERLJUNG; HJERN, 2017; FELITTI *et al.*, 1998; LI, M.; ARCY; MENG, 2016; NELSON *et al.*, 2017).

No início da vida (em camundongos, especificamente nas primeiras duas semanas pós-natais), o eixo HPA passa por um período de hiporresponsividade ao estresse, no qual a resposta adrenocortical é dramaticamente reduzida, assim como a concentração de glicocorticoides circulantes (SAPOLSKY; MEANEY, 1986). Essa redução de atividade se deve, pelo menos em grande parte, ao cuidado parental (PLOTSKY; MEANEY, 1993; SUCHECKI *et al.*, 1995).

Em camundongos, o protocolo de separação maternal, no qual os filhotes são separados da mãe diariamente durante o período pós-natal, é o mais utilizado para o estudo de estresse no início da vida. Apesar da flexibilidade de protocolos, diferenças de linhagens utilizadas e particularidades nos resultados de cada estudo, a separação maternal parece estar associada a comportamentos tipo-ansiosos e tipo-depressivos, além de alterações no eixo HPA e outros sistemas (NISHI, 2020; TRACTENBERG *et al.*, 2016; WANG, D. *et al.*, 2020; WATERS; GOULD, 2022; WHITE; KAFFMAN, 2019). No trabalho de Murgatroyd e colegas (2009), o estresse por separação maternal resultou na hiperresponsividade do eixo HPA em machos, com efeitos duradouros ao longo da vida (MURGATROYD *et al.*, 2009). Também em machos, outros estudos sugerem maior suscetibilidade a um segundo estressor na vida adulta (PEÑA, Catherine J *et al.*, 2017a), comportamento tipo-depressivo (HUANG *et al.*, 2021; TCHENIO *et al.*, 2017b), tipo-ansioso e aumento da conectividade de circuitos Amígdala-Hipocampo e Amígdala-Córtex Pré-Frontal (JOHNSON *et al.*, 2018). Em fêmeas, Johnson e colegas (2018) identificaram um aumento de comportamento tipo-ansioso na vida adulta (JOHNSON *et al.*, 2018). Em resposta a um outro protocolo de estresse no início da vida – *repeated cross-fostering* –, alguns estudos identificaram comportamento tipo-depressivo em machos adultos (SEGNI *et al.*, 2019), enquanto fêmeas obtiveram um aumento de sensibilidade a estímulos aversivos (IACONO *et al.*, 2021) e motivacionais (IACONO *et al.*, 2021; SEGNI *et al.*, 2019).

É interessante ressaltar que muitas das alterações decorrentes do estresse não são observadas apenas na vida adulta, podendo emergir em outros períodos desenvolvimentais. Alguns trabalhos mostram que pessoas que passaram por estresse na infância possuem mais chances de desenvolver transtornos com sintomas internalizantes precocemente (na infância e adolescência), sendo os níveis de depressão em adolescentes até maiores que em adultos (INFURNA *et al.*, 2016; LEMOULT *et al.*, 2019; STROUD

*et al.*, 2019). Essa associação entre o estresse na infância e alterações desenvolvimentais durante a adolescência também foi encontrada em camundongos. Por exemplo, He e colegas identificaram comportamento tipo-depressivo em machos e maior suscetibilidade a segundos estressores em fêmeas que passaram por separação maternal (HE *et al.*, 2020). Interessantemente, outro trabalho levanta a ideia de que a adolescência não é apenas uma época sensível a fatores de risco, mas também pode desempenhar o papel de uma janela de intervenção, dado que o enriquecimento ambiental aliviou o comportamento tipo-depressivo, em machos estressados, mais acentuadamente quando apresentado precocemente (HUANG *et al.*, 2021).

No nosso laboratório, o estudo de Medeiros e colegas, usando um protocolo de separação maternal de 3 horas diárias (P2-P14), mostrou uma coerência de comportamentos tipo-ansiosos em machos pré-púberes (MEDEIROS *et al.*, em preparação). Além disso, o mesmo estudo avaliou duas variáveis de importância nos protocolos de separação – o isolamento social (animais separados isoladamente ou com os irmãos de ninhada) e a previsibilidade do estresse (separação realizada nos mesmos ou em variados horários), e mostrou que ambos possuem influência na variação comportamental relacionada ao estresse no início da vida, sendo a separação maternal imprevisível e com isolamento a responsável pela maior alteração observada em animais adolescentes. Em outro trabalho do nosso grupo, usando, portanto, este protocolo, foi observado um aumento do comportamento exploratório e locomotor de fêmeas e um aumento do comportamento tipo-ansioso e tipo-depressivo em machos pré-púberes (REIS *et al.*, submetido).

Neste estudo, utilizamos um protocolo similar de separação maternal – imprevisível, em isolamento dos irmãos de ninhada, e entre os dias P2-14, porém com tempo de estresse aumentado de 3 para 6 horas diárias – para avaliar o processo dinâmico de resposta ao estresse no início da vida em diferentes fases desenvolvimentais. Para investigar essa dinâmica ontogênico-comportamental, realizamos os testes comportamentais em animais adolescentes e adultos. Encontramos que, em animais machos adolescentes, o protocolo de estresse por separação maternal levou à hiperlocomoção no teste de campo aberto, além de um aumento na latência para a primeira entrada no compartimento escuro na caixa claro/escuro; diferentemente, fêmeas adolescentes exibiram um comportamento de anedonia social. Quando os mesmos testes foram realizados em animais adultos, a única alteração a permanecer foi a influência do fator “estresse” no labirinto em cruz elevado.

Experiências iniciais durante a infância são associadas à saúde física e mental durante a vida adulta. Exposição a fortes estressores no nível individual – como abuso físico,

emocional ou psicológico, negligência ou morte de um dos cuidadores –, assim como ambiente estressores de nível comunitário – como o baixo status econômico, aumento do risco de violência, baixo enriquecimento cognitivo por meio de educação de baixa qualidade e falta de acesso a brinquedos ou livros infantis – podem afetar a possibilidade de um desenvolvimento saudável. No nosso trabalho, observamos uma resposta sexo-específica em camundongos adolescentes que passaram por estresse no início da vida, além de uma mudança de resposta ao estresse na infância através da passagem da adolescência para a vida adulta. Com isso, destacamos a importância do estudo de diferentes fases desenvolvimentais, e ressaltamos a importância de considerar experiências particulares a períodos formativos específicos ao discutir o bem-estar social e a saúde ao longo da vida.

## **2. JUSTIFICATIVA E HIPÓTESE**

O neurodesenvolvimento pós-natal é uma janela de intensa reorganização de sistemas, na qual há uma grande adaptabilidade a mudanças no ambiente junto à maior vulnerabilidade a fatores de risco para diversos transtornos psiquiátricos. Um desses fatores é a exposição a estressores que, além de alterar diversos sistemas, podem influenciar processos maturacionais do cérebro.

A partir da perspectiva de que essas interações figuram um fator de importância ao se tratar de organismos, comportamentos e transtornos, a hipótese deste trabalho é de que a interação do estresse no início da vida com processos desenvolvimentais leva a diferentes estratégias comportamentais em camundongos jovens e adultos.

## **3. OBJETIVOS**

O objetivo deste trabalho é avaliar o comportamento de camundongos pré-púberes e jovens adultos em resposta ao estresse por separação maternal.

### **3.1. OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- I. Avaliar os efeitos do estresse por separação maternal no comportamento exploratório de camundongos machos e fêmeas durante a pré-puberdade e o início da vida adulta.
- II. Avaliar os efeitos do estresse por separação maternal no comportamento social de camundongos machos e fêmeas durante a pré-puberdade e o início da vida adulta.
- III. Avaliar os efeitos do estresse por separação maternal no comportamento tipo-ansioso de camundongos machos e fêmeas durante a pré-puberdade e o início da vida adulta.

- IV. Avaliar os efeitos do estresse por separação maternal no comportamento tipo-depressivo/desamparo de camundongos machos e fêmeas durante a pré-puberdade e o início da vida adulta.

#### 4. MATERIAIS E MÉTODOS

##### 4.1. Animais Experimentais

Para o desenvolvimento deste trabalho, utilizamos camundongos fêmeas *wild-type* da linhagem C57BL/6J e machos da linhagem C57BL/6J CX3CR1:GFP+/+ como matrizes dos cruzamentos experimentais. Os cruzamentos foram realizados na proporção de 2 a 3 fêmeas por macho e, ao final da gestação, as fêmeas eram transferidas para caixas individuais. O dia do nascimento dos filhotes era considerado o dia pós-natal 1 (P1). Todos os filhotes decorrentes desse cruzamento possuem o genótipo heterozigótico (CX3CR1:GFP/+/-), e as ninhadas foram mantidos com as mães até o 23º dia pós-natal (P23).

Todos os animais foram mantidos em estantes ventiladas, com temperatura ambiente de 22±1°C e umidade 40-70%, em ciclo claro-escuro de 12/12 horas, com livre acesso a ração e água, e todos os experimentos foram realizados sob aprovação prévia do Comitê de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Minas Gerais sob o protocolo nº 99/2022.

Tabela 1 – Distribuição de ninhadas e animais para cada grupo experimental

<b>Idade</b>	<b>Sexo</b>	<b>Grupo</b>	<b>Número de Ninhadas</b>	<b>Número Amostral</b>
<b>P30</b>	Fêmeas	Controle	4	13
		Separação Maternal	3	6
	Machos	Controle	4	12
		Separação Maternal	3	10
<b>P60</b>	Fêmeas	Controle	6	18*
		Separação Maternal	7	16*
	Machos	Controle	6	23*
		Separação Maternal	7	25*

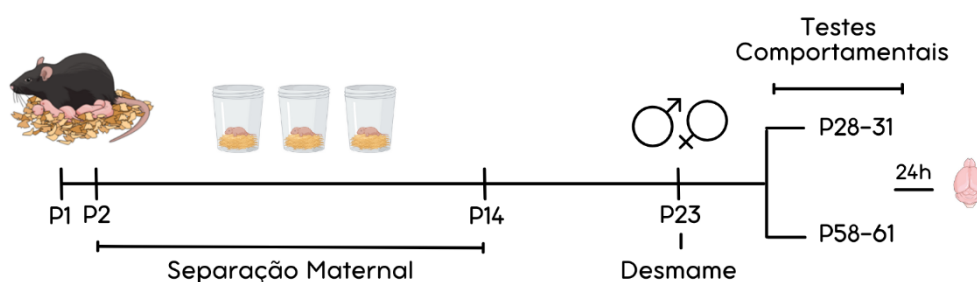
\* O número representado na tabela é o número total de animais, porém, devido à perda de vídeos, estes grupos possuem diferentes números amostrais para cada teste comportamental, sempre com o mínimo de 12 animais.

## 4.2. Protocolo Experimental

As ninhadas foram randomicamente incluídas no grupo controle ou experimental (Separação Maternal - SM), em dois blocos experimentais de acordo com o período desenvolvimental a ser avaliado (pré-puberdade ou início da vida adulta), da seguinte forma:

- I. Animais pré-púberes:
  - a. Controle: animais que não passaram pelo protocolo de separação maternal, e foram testados no intervalo do P28 ao P31.
  - b. SM: animais que passaram pelo protocolo de separação maternal, e foram testados no intervalo do P28 ao P31.
- II. Animais jovens adultos:
  - c. Controle: animais que não passaram pelo protocolo de separação maternal, e foram testados no intervalo do P58 ao P61.
  - d. SM: animais que passaram pelo protocolo de separação maternal, e foram testados no intervalo do P58 ao P61.

O protocolo de SM utilizado consistiu na separação de cada filhote da mãe e irmãos de ninhada, por 6 horas diárias durante 13 dias (P2-P14), em horários randomizados dentro do ciclo claro dos animais (Figura 4). Durante o protocolo, os filhotes foram mantidos em uma caixa iluminada e com isolamento acústico, em potes individuais com maravalha limpa, e aquecidos em banho-maria na temperatura de  $32\pm 2^{\circ}\text{C}$ .



**Figura 4. Representação do protocolo experimental.** Os animais passaram pelo protocolo de separação maternal de 6h/dia entre o P2 e o P14. O primeiro bloco experimental passou pelos testes comportamentais entre os dias P28 e P31, compondo o grupo de animais adolescentes; o segundo bloco experimental foi testado entre os dias P58 e P61, compondo o grupo de animais jovens adultos. Os tecidos foram coletados no

dia seguinte ao fim dos testes comportamentais, e armazenados para análises futuras. (Fonte: elaborado pela autora)

### **4.3. Testes Comportamentais**

Animais Controle e SM dos grupos pré-púbere (P28-31) e jovem adulto (P58-31) passaram pelos testes comportamentais ao longo de 4 dias, de forma em que os testes de Campo Aberto e Preferência Social foram realizados no primeiro dia, a Caixa Claro/Escuro no segundo dia, o Labirinto em Cruz Elevado no terceiro dia e, por fim, o teste de Nado Forçado no quarto e último dia.

Todos os testes foram realizados no início do dia, exceto o teste de Preferência Social que, devido ao tempo de habituação e treino, foi deslocado para o período da tarde. No início de cada dia de teste, os animais eram habituados às condições da sala de experimentação por um período mínimo de 30 minutos. Todos os aparatos foram higienizados com Álcool 70% entre um animal e outro, e os animais foram manipulados na palma da mão dos experimentadores ou com o auxílio de um tubo de plástico branco para minimizar o estresse de manipulação (MARCOTTE *et al.*, 2021).

#### **4.3.1. Teste de Campo Aberto**

O teste de Campo Aberto foi utilizado para avaliar o comportamento motor/exploratório dos animais, e consiste em uma caixa de acrílico com dimensões de 50x50 cm, com paredes brancas e o chão marcado com divisões em quadrantes, constituindo o centro e as periferias do aparato. Cada animal foi testado individualmente por 10 minutos, nos quais eram livres para explorar a caixa (GOULD; DAO; KOVACSICS, 2009; PRUT; BELZUNG, 2003; WALSH; CUMMINS, 1976). Os parâmetros analisados foram a distância total percorrida, o tempo e o número de entradas no centro e na periferia, e o número de cruzamento entre as duas regiões.

#### **4.3.2. Teste de Preferência Social**

O teste de Preferência Social é composto por três fases: habituação, treino e teste. Na sessão de habituação, o animal é convencionalmente colocado em uma caixa para livre exploração por, pelo menos, 10 minutos. Dessa forma, utilizamos o teste de Campo Aberto como habituação ao aparato e a mesma caixa foi utilizada nas demais fases do teste de Preferência Social.

Para a sessão de treino, foram introduzidos dois cilindros em cantos opostos da caixa, ambos vazios e com paredes perfuradas em rede, de forma a não isolar o ambiente interno.

Cada animal foi novamente deixado livre para explorar a caixa e os novos objetos durante 10 minutos.

Na sessão de teste, foi introduzido um estímulo em cada cilindro, sendo: um estímulo social (animal coespecífico de mesmo sexo do animal experimental); e um estímulo não-social (uma peça de Lego). Mais uma vez, o animal experimental é deixado livre para explorar os estímulos por mais 10 minutos (KAIDANOVICH-BEILIN *et al.*, 2010; REIN; MA; YAN, 2020; YANG; SILVERMAN; CRAWLEY, 2011). Foi analisado o tempo que o animal passa explorando o estímulo não-social, e o tempo explorando o estímulo social – consideramos como exploração os momentos em que o animal experimental está a menos de 2 cm de distância e com o focinho direcionado ao cilindro contendo o coespecífico ou o objeto.

#### **4.3.3. Caixa Claro/Escuro**

A Caixa Claro/Escuro é utilizada para avaliar o comportamento tipo-ansioso, e é composta por dois compartimentos, um claro (ocupando 2/3 da caixa, com paredes brancas) e um escuro (ocupando 1/3 da caixa, coberto e com paredes pretas), interligados por uma abertura através da qual o animal pode transitar entre os compartimentos.

Para o teste, os animais foram colocados individualmente no compartimento claro, com a cabeça direcionada para o compartimento escuro. A duração do teste é de 5 minutos, contabilizados após a primeira entrada no compartimento escuro. Após o posicionamento do animal no aparato, contabilizamos a latência até a primeira entrada no compartimento escuro. Além disso, foram analisados o número de entrada, o tempo total e o tempo médio de permanência em cada compartimento.

#### **4.3.4. Labirinto em Cruz Elevado**

O Labirinto em Cruz Elevado também é aplicado para a testagem de comportamento tipo-ansioso, e consiste em labirinto de acrílico elevado a 30 cm do solo, composto por quatro braços de 30 cm de comprimento, sendo dois abertos e dois fechados. Para o teste, cada animal foi posicionado no centro do aparato, com a cabeça direcionada para um dos braços abertos, e deixados para explorar o labirinto durante 5 minutos (ESPEJO, 1997; MONTGOMERY, 1955; PELLOW *et al.*, 1985; WALF; FRYE, 2007). Os parâmetros analisados foram o número de entradas e o tempo passado nos braços abertos, no centro e nos braços fechados do labirinto, o número de cruzamentos entre as regiões e o tempo médio de permanência nos braços abertos.



#### 4.4. Eutanásia e Coleta de Amostras

Todos os animais foram eutanasiados no dia seguinte à finalização dos testes comportamentais: os pré-púberes no P32, e os jovens adultos no P62. Após anestesiados com uma combinação de Xilazina (10 mg/kg) e Cetamina (100 mg/kg) diluídas em solução salina, os animais eram divididos em 2 grupos para coleta de amostras:

- I. Perfusão transcardíaca com 10 ml de tampão Fosfato-Salina [PBS: 0,1 M (0,387M NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>.H<sub>2</sub>O, 0,612M Na<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O, 1,4 M NaCl); pH de 7,4] e 10 ml de paraformaldeído (PFA) 4% diluído em PBS. Após a perfusão, os cérebros dos animais foram retirados e armazenados na temperatura de 4°C em solução de PFA 4% e, em seguida, em solução de sacarose 30% em água.
- II. Perfusão transcardíaca com 10 ml de PBS, seguida de retirada do cérebro dos animais e alocação temporária a -20°C. Poucos minutos depois, os cérebros foram dissecados com o auxílio de uma matriz para corte de cérebro (EFF 511, Insight), as dissecções inseridas em microtubos contendo *cocktail* de inibidores de protease (tabletes, Roche) e, em seguida, congeladas em nitrogênio líquido antes de armazenamento a -80°C.

#### 4.5. Análises Estatísticas

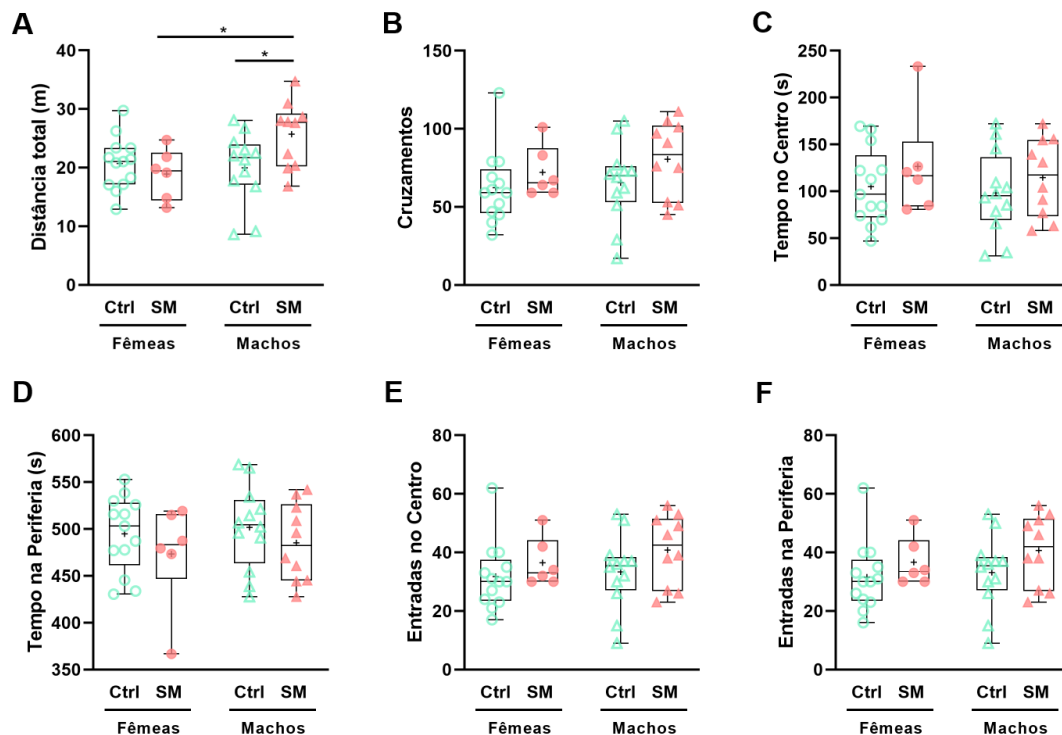
Todos os dados estão representados pelos valores de média, mediana, intervalos interquartis e os pontos mínimos e máximos da distribuição. Para análise dos efeitos do estresse por separação maternal, do sexo, e das interações entre os dois fatores, utilizamos o teste de análise de variância para dois fatores (Two-Way ANOVA), seguido pelo teste *post-hoc* de Tukey. No teste de Preferência Social, utilizamos o teste t de Student para comparação do tempo de exploração entre estímulos sociais e não sociais. O grau de significância considerado em todos os testes foi de  $p < 0.05$ .

### 5. RESULTADOS

#### 5.1. O estresse por separação maternal leva à hiperlocomoção em camundongos machos no início da adolescência

No teste de campo aberto, observamos um aumento de comportamento motor/exploratório apenas em machos adolescentes que passaram pelo protocolo de separação maternal. Essa alteração foi observada tanto em comparação a machos controle (Figura 5A;  $F = 1,311$ ;  $p = 0.016$ ), quanto em comparação a fêmeas que passaram pela separação maternal (Figura 5A;  $F = 3,097$ ;  $p = 0.017$ ). Além disso, o teste de Two-Way ANOVA mostrou uma interação entre os fatores “sexo” e “exposição ao estresse” no

mesmo parâmetro (Figura 5A;  $F= 4,761$ ;  $p= 0.036$ ). Não observamos alterações significativas no número de cruzamentos entre o centro e a periferia, nem no tempo ou número de entradas em cada região.

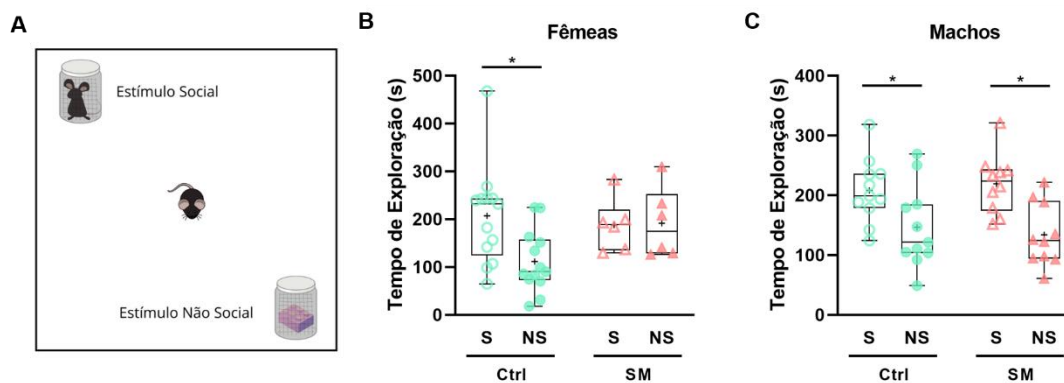


**Figura 5. Efeitos do estresse por separação maternal em camundongos adolescentes no teste de Campo Aberto.** Comportamento motor/exploratório de camundongos no P28 em resposta ao estresse no início da vida (P2-14). (A) Camundongos machos apresentam aumento na distância percorrida nos 10 minutos totais de teste; os animais não apresentam alterações comportamentais no (B) número de cruzamentos entre centro e periferia da caixa; (C) no tempo passado no centro ou (D) na periferia; e nem no número de entradas (E) no centro ou (F) na periferia. Os dados estão representados pelo valor da mediana, o intervalo interquartil e os valores mínimos e máximos; a cruz representa a média, e todos os pontos estão representados por símbolos. Os dados foram analisados usando o teste Two-Way ANOVA, seguido pelo teste de Tukey;  $*p<0.05$ .

### 5.2. Camundongos fêmeas que passaram pelo estresse de separação maternal apresentam ausência de preferência por estímulo social durante a adolescência

Durante a adolescência, há um aumento fisiológico de comportamentos sociais, importantes para a formação do repertório comportamental mais tarde na vida (KOPEC *et al.*, 2018). No teste de preferência social, observamos que os animais do grupo controle

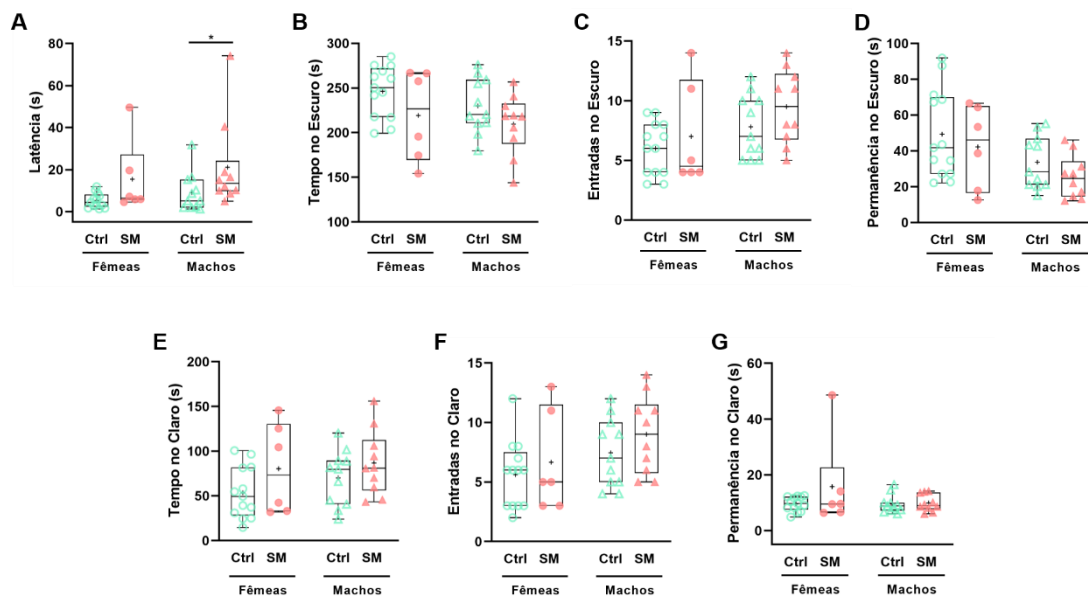
possuem maior preferência pelo estímulo social do que pelo estímulo não social (Figura 6B-C; fêmeas:  $t = 2.831$ , 24 d. f.,  $p = 0.009$ ; machos:  $t = 2.350$ , 20 d. f.,  $p = 0.02$ ). No grupo SM, a preferência social é mantida em animais machos (Figura 6C;  $t = 3.747$ , 18 d. f.,  $p = 0.001$ ), mas não em fêmeas.



**Figura 6. Teste de Preferência Social em camundongos machos e fêmeas adolescentes que passaram por estresse na infância.** Comportamento social de camundongos no P28 em resposta ao estresse de separação maternal no início da vida (P2-P14). (A) Representação do aparato de teste. (B) Fêmeas do grupo SM não possuem preferência por explorar o estímulo social. (C) Machos do grupo controle e SM passam mais tempo explorando o estímulo social do que o não social. Os dados estão representados pelo valor da mediana, o intervalo interquartil e os valores mínimos e máximos; a cruz representa a média, e todos os pontos estão representados por símbolos. Os dados foram analisados usando o teste t de Student; \* $p < 0.05$ .

### 5.3. Camundongos machos adolescentes expostos ao estresse de separação maternal possuem maior tempo de latência para a primeira entrada no escuro na Caixa Claro/Escuro

Na caixa claro/escuro, observamos um aumento no tempo de latência para a primeira entrada no compartimento escuro apenas em machos adolescentes que passaram pelo protocolo de separação maternal (Figura 7A;  $F = 6,244$ ;  $p = 0.049$ ). A análise de variância também identificou que o fator “sexo” influenciou o número de entradas (Figura 7C;  $F = 4,982$ ;  $p = 0.032$ ), e a média de permanência no compartimento escuro (Figura 7D;  $F = 6,414$ ;  $p = 0.016$ ); além de que o fator “exposição ao estresse” levou os animais que passaram pela separação maternal a uma diminuição de tempo no compartimento escuro (Figura 7B;  $F = 4,433$ ;  $p = 0.042$ ). Não observamos alterações significativas no tempo, número de entradas ou média de permanência no compartimento claro.

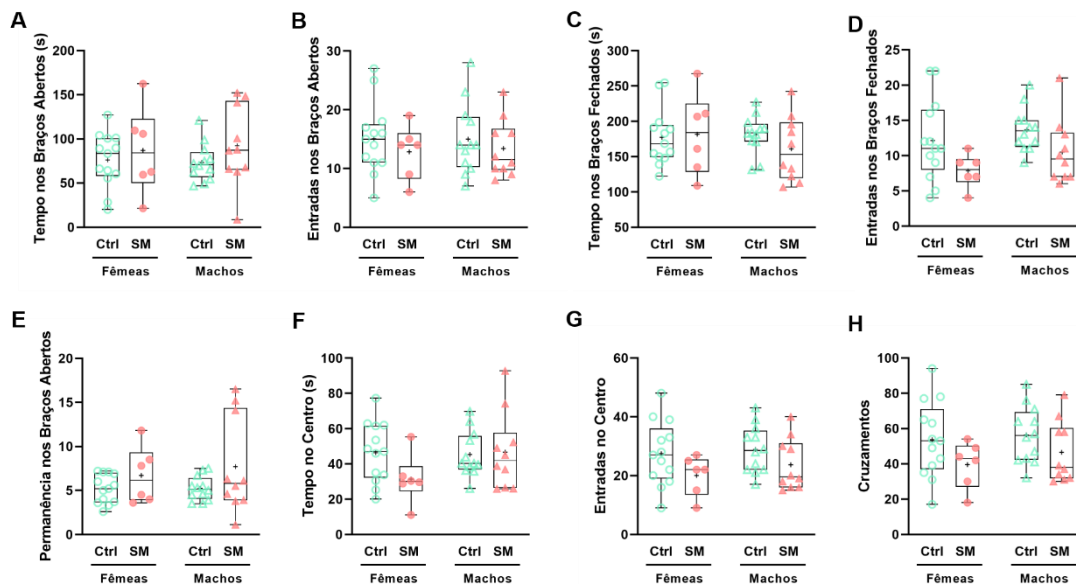


**Figura 7. Efeitos do estresse por separação maternal em camundongos adolescentes na Caixa Claro/Escuro.** Comportamento tipo-ansioso de camundongos no P29 em resposta ao estresse no início da vida (P2-14). (A) Camundongos machos apresentam aumento no tempo de latência para a primeira entrada no compartimento escuro. Apesar de não apresentarem alterações grupo-específicas, o fator “sexo” influenciou o número de entradas (B:  $p=0.03$ ) e a média de permanência no compartimento escuro (D:  $p=0.01$ ), e o fator “estresse” influenciou o tempo passado no compartimento escuro (C:  $p=0.04$ ), mostrando que camundongos machos passaram menos tempo no compartimento a cada entrada. Não observamos nenhuma alteração ou diferença etológica comportamental nos parâmetros (E) tempo, (F) número de entradas ou (G) na média de permanência no compartimento claro. Os dados estão representados pelo valor da mediana, o intervalo interquartil e os valores mínimos e máximos; a cruz representa a média, e todos os pontos estão representados por símbolos. Os dados foram analisados usando o teste Two-Way ANOVA, seguido pelo teste de Tukey;  $*p<0.05$ .

#### 5.4. O fator “exposição ao estresse” influencia o comportamento de camundongos adolescentes no Labirinto em Cruz Elevado

No labirinto em cruz elevado, o fator “exposição ao estresse” influenciou o número de entradas nos braços fechados (Figura 8D;  $F=6,788$ ;  $p=0.013$ ), o número de entradas no centro do labirinto (Figura 8G;  $F=4,558$ ;  $p=0.04$ ) e o número de cruzamentos entre as regiões (Figura 8H;  $F=4,190$ ;  $p=0.048$ ), indicando que os animais que passaram pelo estresse de separação maternal entraram menos nos braços fechados e no centro do labirinto, além de terem cruzado menos entre as regiões. Não observamos alterações

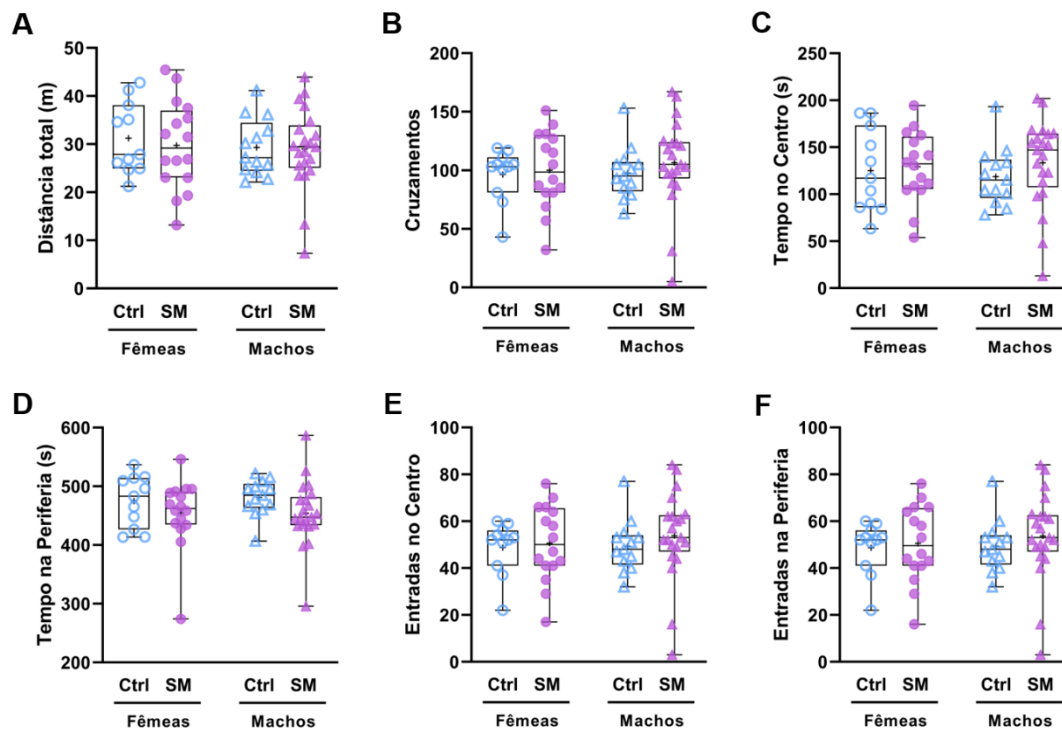
significativas no tempo, número de entradas ou média de permanência nos braços abertos, no tempo nos braços fechados, ou no tempo no centro do aparato.



**Figura 8. Efeitos do estresse por separação materna em camundongos adolescentes no Labirinto em Cruz Elevado.** Comportamento tipo-ansioso de camundongos no P30 em resposta ao estresse no início da vida (P2-14). (A-H) Não observamos alterações comportamentais em nenhum dos parâmetros analisados pelo teste *post-hoc*; porém, na análise de variância, o fator “estresse” influenciou o número de entradas nos braços fechados (D:  $p=0.01$ ), o número de entradas no centro do labirinto (G:  $p= 0.04$ ) e o número de cruzamentos entre as regiões (H:  $p= 0.04$ ), de forma que os animais que passaram pelo estresse de separação materna entraram menos nos braços fechados e no centro do labirinto, além de terem cruzado menos entre as regiões. Os dados estão representados pelo valor da mediana, o intervalo interquartil e os valores mínimos e máximos; a cruz representa a média, e todos os pontos estão representados por símbolos. Os dados foram analisados usando o teste Two-Way ANOVA, seguido pelo teste de Tukey;  $*p<0.05$ .

### 5.5. Animais adultos não apresentam alterações no teste de Campo Aberto em resposta à Separação Materna

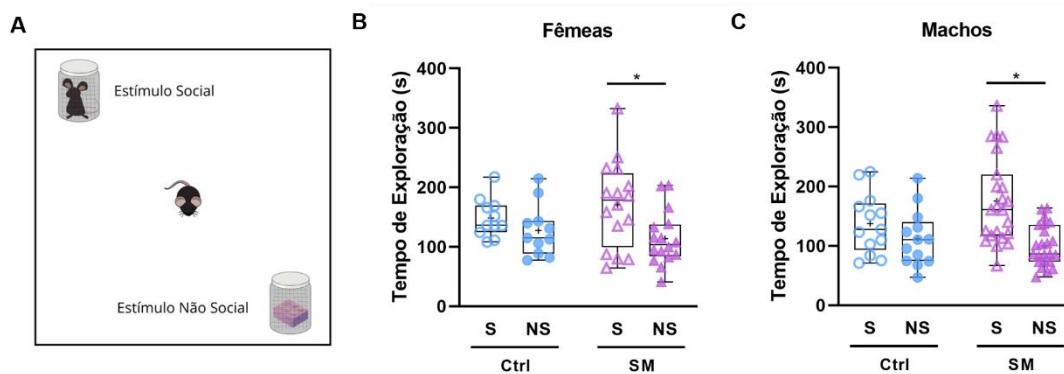
Quando os testes foram realizados em animais jovens adultos, não observamos nenhuma alteração ou diferença etológica em nenhum dos parâmetros analisados no teste de campo aberto, incluindo a distância total percorrida, o número de cruzamentos entre o centro e a periferia, e o tempo e número de entradas em cada uma das regiões.



**Figura 9. Efeitos do estresse por separação materna em camundongos adultos no teste de Campo Aberto.** Comportamento motor/exploratório de camundongos no P58 em resposta ao estresse no início da vida (P2-14). Não observamos nenhuma alteração ou diferença etológica em nenhum dos parâmetros analisados, sendo eles (A) a distância percorrida nos 10 minutos totais de teste; (B) o número de cruzamentos entre centro e periferia da caixa; (C) o tempo passado no centro ou (D) na periferia; (E) o número de entradas no centro ou (F) na periferia. Os dados estão representados pelo valor da mediana, o intervalo interquartil e os valores mínimos e máximos; a cruz representa a média, e todos os pontos estão representados por símbolos. Os dados foram analisados usando o teste Two-Way ANOVA, seguido pelo teste de Tukey; \* $p < 0.05$ .

### 5.6. Animais adultos que passaram por separação materna possuem preferência por estímulo social no teste de Preferência Social

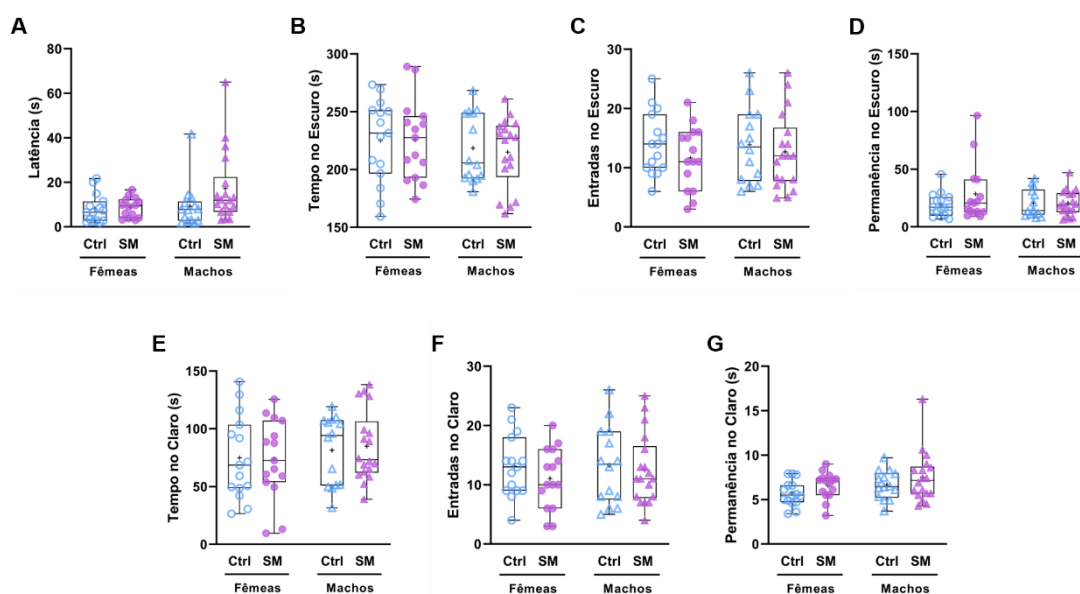
Em camundongos adolescentes, observamos que fêmeas do grupo SM perderam a preferência social característica da adolescência. Em animais adultos, por outro lado, nossos resultados mostram que os animais expostos ao estresse de separação materna no início da vida passam mais tempo explorando o estímulo social do que o estímulo não social (Figura 10B-C; machos:  $t = 4.481$ , 31 d. f.,  $p = < 0.001$ ; fêmeas:  $t = 2,661$ , 30 d. f.,  $p = 0.012$ ).



**Figura 10. Preferência Social em camundongos machos e fêmeas adultos que passaram por estresse de separação maternal durante a infância.** Comportamento social de camundongos no P58 em resposta ao estresse de separação maternal no início da vida (P2-P14). (A) Representação do aparato de teste. (B-C) Fêmeas e machos do grupo SM passam mais tempo explorando o estímulo social em comparação ao estímulo não social. Os dados estão representados pelo valor da mediana, o intervalo interquartil e os valores mínimos e máximos; a cruz representa a média, e todos os pontos estão representados por símbolos. Os dados foram analisados usando o teste t de Student; \* $p < 0.05$ .

### 5.7. Camundongos machos e fêmeas adultos que passaram por estresse na infância não possuem alterações comportamentais na Caixa Claro/Escuro

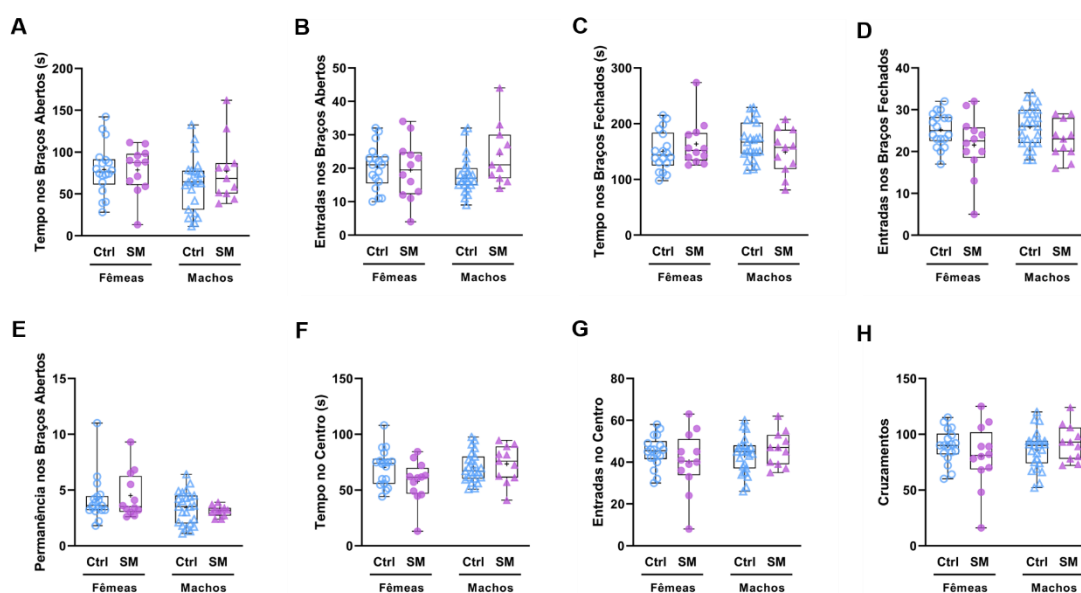
Os animais jovens adultos não apresentaram nenhuma alteração comportamental ou diferença etológica em nenhum dos parâmetros na caixa claro/escuro. Os parâmetros analisados foram o tempo de latência para a primeira entrada no compartimento escuro, e o tempo, número de entradas e média de permanência em cada um dos compartimentos.



**Figura 11. Efeitos do estresse por separação maternal em camundongos adultos na Caixa Claro/Escuro.** Comportamento tipo-ansioso de camundongos no P59 em resposta ao estresse no início da vida (P2-14). Os animais não apresentaram em nenhum dos parâmetros analisados, sendo eles (A) a latência para a primeira entrada no escuro; (B) o tempo, (C) o número de entradas e (D) a permanência no compartimento escuro; (E) o tempo, (F) o número de entradas e (G) a permanência no compartimento claro. Os dados estão representados pelo valor da mediana, o intervalo interquartil e os valores mínimos e máximos; a cruz representa a média, e todos os pontos estão representados por símbolos. Os dados foram analisados usando o teste Two-Way ANOVA, seguido pelo teste de Tukey; \* $p < 0.05$ .

### 5.8. O estresse na infância e o sexo foram fatores relevantes para o comportamento de camundongos adultos no Labirinto em Cruz Elevado

No labirinto em cruz elevado, o fator “exposição ao estresse” influenciou o número de entradas nos braços fechados (Figura 12D;  $F = 6,203$ ;  $p = 0.016$ ), sendo que os animais que passaram pela separação maternal entraram menos vezes, e o fator “sexo” influenciou a média de permanência nos braços abertos (Figura 12E;  $F = 5,871$ ;  $p = 0.019$ ), sendo este tempo menor em machos jovens adultos. Nenhuma alteração significativa foi observada no tempo, no número de entradas ou na média de permanência nos braços abertos ou no centro do aparato, assim como não houveram alterações no tempo passado nos braços fechados ou no número de cruzamentos entre regiões distintas.



**Figura 12. Efeitos do estresse por separação maternal em camundongos adolescentes no Labirinto em Cruz Elevado.** Comportamento tipo-ansioso de camundongos no P30



em resposta ao estresse no início da vida (P2-14). (A-H) Não observamos alterações comportamentais em nenhum dos parâmetros analisados pelo teste *post-hoc*; porém, na análise de variância, o fator “estresse” influenciou o número de entradas nos braços fechados (D:  $p=0.01$ ), sendo que os animais que passaram pela separação maternal entraram menos vezes, e o fator “sexo” influenciou a média de permanência nos braços abertos (E:  $p=0.01$ ), sendo este tempo menor em machos. Os dados estão representados pelo valor da mediana, o intervalo interquartil e os valores mínimos e máximos; a cruz representa a média, e todos os pontos estão representados por símbolos. Os dados foram analisados usando o teste Two-Way ANOVA, seguido pelo teste de Tukey;  $*p<0.05$ .

## 6. DISCUSSÃO

O início da vida é um período crítico para o desenvolvimento do cérebro e do comportamento, no qual há um rápido e constante remodelamento de sinapses e de circuitos neurais (LUPIEN *et al.*, 2009; NEMEROFF, 2016). Essa flexibilidade é muito importante para a adaptação ao contexto ambiental, porém a exposição prolongada a estressores durante esse período é particularmente significativa (MARCO; MACRÌ; LAVIOLA, 2011; MEREDITH, 2015). Em humanos, há uma forte associação entre diferentes tipos de estresse durante a infância (e.g. negligência, maus-tratos, morte de membro da família, abuso sexual, emocional e/ou psicológico, baixo status socioeconômico, entre outros) e a emergência, gravidade e cronicidade de transtornos de depressão e ansiedade (BJÖRKENSTAM; VINNERLJUNG; HJERN, 2017; FELITTI *et al.*, 1998; LI, M.; ARCY; MENG, 2016; NELSON *et al.*, 2017).

Neste estudo, analisamos a influência do estresse durante a infância no comportamento exploratório, social e tipo-ansioso durante a adolescência e o início da vida adulta de camundongos machos e fêmeas. Os nossos resultados mostram uma mudança de resposta ao estresse na infância através da passagem da adolescência para a vida adulta, e ressaltam uma dinâmica de padrão comportamental sexo-específica. Enquanto fêmeas adolescentes apresentaram anedonia social em resposta ao protocolo de separação maternal, machos apresentaram uma hiperlocomoção e um aumento do tempo de latência para o primeiro escape em ambiente aversivo – alterações que não se mantiveram até a vida adulta.

Relativamente poucos estudos analisaram diretamente os efeitos comportamentais da separação maternal em camundongos adolescentes, e há uma variação considerável nos resultados obtidos (BIAN, Y. *et al.*, 2015; GRACIA-RUBIO *et al.*, 2016; IÑIGUEZ *et al.*, 2014; MACRÌ; LAVIOLA, 2004; MARCO *et al.*, 2009; SHIN, Sang Yep *et al.*, 2019).

Neste trabalho, camundongos machos adolescentes expostos ao estresse por separação maternal apresentaram uma hiperlocomoção no teste de campo aberto e um aumento de latência para a primeira entrada no compartimento escuro na caixa claro/escuro – alterações que não se mantiveram em animais testados na vida adulta. O nosso padrão de resposta observado é consonante com alguns trabalhos e dissonante de outros. No trabalho de He e colegas, por exemplo, a separação maternal de 4 horas diárias, entre o P2-12, não levou a comportamento tipo-ansioso em camundongos machos ou fêmeas, mas levou a um comportamento tipo-depressivo em machos (HE *et al.*, 2020); assim como no nosso estudo, nenhum desses efeitos permaneceu até a vida adulta. Outros trabalhos também observaram um comportamento tipo-depressivo e alterações de comportamento tipo-ansioso durante a adolescência após a separação maternal (3 horas diárias entre o P2-21, ou 4 horas diárias entre o P1-20), porém poucos mantiveram efeitos até a vida adulta (BIAN, Y. *et al.*, 2015; CHEN, Yiwen *et al.*, 2022). Por outro lado, diferentes estudos, após um protocolo de separação maternal de 4 horas diárias, do P2-20, observaram um aumento de comportamentos tipo-ansiosos e um aumento de agressividade, enquanto que não observaram alterações no comportamento tipo-depressivo (SHIN, S.Y. *et al.*, 2016; SHIN, Sang Yep *et al.*, 2019). Em ratos, diversos estudos dos efeitos da separação maternal no comportamento adolescente encontraram diminuição de comportamentos tipo-ansiosos, aumento de comportamentos tipo-depressivos, ou não encontraram alterações significativas em nenhum desses tipos de comportamento (BANQUERI; MÉNDEZ; ARIAS, 2017; BIAN, Y. *et al.*, 2015; LEUSSIS *et al.*, 2012; LUKKES *et al.*, 2017; WANG, Q. *et al.*, 2015; YOO *et al.*, 2013). Estudos anteriores do nosso grupo, utilizando um protocolo de separação maternal de 3 horas diárias entre os dias P2-14, mostraram uma coerência de comportamentos tipo-ansiosos em machos pré-púberes (MEDEIROS *et al.*, em preparação; REIS *et al.*, submetido), além de comportamento tipo-depressivo, e aumento do comportamento exploratório e locomotor de fêmeas (REIS *et al.*, submetido), porém, nestes trabalhos anteriores, não foi avaliada a resposta ontogênico-comportamental, tornando impossível discutir respostas de longo prazo ao longo do desenvolvimento. No presente estudo, o tempo de separação maternal foi aumentado de 3 para 6 horas diárias, o que levou a diferentes resultados no comportamento de animais adolescentes: em machos, observamos uma hiperatividade no teste de campo aberto e um maior tempo de latência para a primeira fuga para o escuro na caixa claro/escuro; em fêmeas, observamos a presença de anedonia social.

Estudos diferentes encontraram aspectos distintos de comportamentos anedônicos em ratos adolescentes que experienciaram estresse no início da vida, como redução de preferência por sacarose e diminuição de *social play* (BOLTON *et al.*, 2018a; MOLET, J *et al.*, 2016; SHU *et al.*, 2015). Interessantemente, em estudos com ratos adultos, o estresse por separação maternal, por si só, não resulta na perda de preferência por sacarose, porém cria uma susceptibilidade que pode levar a alterações comportamentais após um segundo estressor na vida adulta (HILL *et al.*, 2014; UCHIDA *et al.*, 2010). Estes resultados são consoantes com a hipótese “*two-hit*”, ou de dois fatores de estresse. A hipótese *two-hit* sugere que uma experiência específica pode levar a um *priming* de determinado sistema, de forma que este responderia de forma exacerbada a uma segunda experiência – em outras palavras, uma experiência prévia interferiria na resposta do organismo a uma experiência posterior (CALCIA *et al.*, 2016; HICKIE *et al.*, 2009). No trabalho de Peña e colegas, por exemplo, o estresse no início da vida levou a uma susceptibilidade a comportamentos tipo-depressivos apenas após um segundo estressor na vida adulta, tanto em machos quanto em fêmeas (PEÑA, Catherine J. *et al.*, 2017b; PEÑA, Catherine Jensen; NESTLER; BAGOT, 2019). Em um outro trabalho do mesmo grupo, os resultados indicaram que o estresse no período pós-natal levou a um aumento de plasticidade em regiões límbicas do cérebro, aumento este que foi revertido no núcleo accumbens e no córtex pré-frontal de machos após o segundo estressor na vida adulta, e aumentado no córtex pré-frontal de fêmeas (PEÑA, Catherine Jensen *et al.*, 2019).

Neste estudo, também observamos uma mudança de resposta ao estresse na infância através da passagem da adolescência para a vida adulta, de forma que alterações decorrentes do estresse previamente observadas em animais adolescentes não foram observadas em animais adultos. De fato, quando comparado a adultos, o cérebro adolescente pode ser hiperresponsivo quando desafiado, como é o caso do núcleo accumbens e da amígdala frente a estímulos negativos e positivos (ERNST *et al.*, 2005; GUYER *et al.*, 2008). Ainda, já foi observado que, injetados com a mesma dose (equivalente ao peso) de corticosterona, a alteração hipocampal de expressão gênica é maior em adolescentes do que em adultos (LEE, P. R.; BRADY; KOENIG, 2003; ROMEO, 2013). Nos resultados obtidos neste estudo, animais adolescentes manifestam alterações comportamentais não encontradas em animais adultos. Portanto, não descartamos a possibilidade de que as alterações comportamentais observadas em adolescentes sejam decorrentes de sistemas momentaneamente hiperresponsivos, mas

que, na fase adulta, esses sistemas estejam em estado de *priming* no que tange a segundos estressores.

A adolescência, em si, é caracterizada como um período transicional entre a infância e a vida adulta e, ao longo de todo esse período, acontece a maturação de regiões corticais e límbicas do cérebro (CASEY; JONES; HARE, 2008). A maturação prolongada do cérebro permite uma alta responsividade a estímulos ambientais, criando uma dinamicidade que, durante a adolescência, se deve em parte ao processo de poda sináptica.

A célula mais fortemente envolvida no processo de poda é a micróglia, uma célula parenquimática, residente no sistema nervoso central, altamente responsiva a alterações no microambiente cerebral – característica que se reflete em sua plasticidade morfológica, estrutural e molecular (PAOLICELLI *et al.*, 2022). Nosso grupo já observou, em um diferente estudo, que o estresse por separação maternal resulta na diminuição de tamanho e complexidade microglial no hipocampo ventral de camundongos fêmeas no P15, tornando essas células morfológicamente similares ao basal observado em machos (ÁRABE *et al.*, em preparação). As micróglias das fêmeas do grupo controle diminuem de tamanho entre o P15 e o P30, porém, no grupo que passou pelo estresse maternal, essas células já se encontram menores e menos complexas no P15, o que pode sugerir uma aceleração desenvolvimental nas micróglias hipocámpais de fêmeas. Ainda, outras análises sugerem que fêmeas expostas ao estresse por separação maternal possuem morfologia microglial similar no P15 e P30, mas ambas são diferentes das fêmeas do grupo controle no P30. Esses resultados indicam que, ainda que de forma não elucidada, a separação maternal durante o início da vida influencia o trajeto desenvolvimental das micróglias hipocámpais em camundongos fêmeas.

As células microgliais são altamente sensíveis a estressores. Em fêmeas que passaram pelo protocolo de separação maternal, mas não em machos, foi encontrado um aumento de tamanho celular microglial no P42, além de comportamento tipo-depressivo (BACHILLER *et al.*, 2020). A revisão de Stein e colegas (2017) aborda o envolvimento das micróglias nos comportamentos tipo-depressivo e tipo-ansioso causados pelo estresse de derrota social (STEIN *et al.*, 2017). Nesse âmbito, o trabalho de Tong e colegas (2017) contribui com uma ligação entre o estresse crônico e alterações microgliais identificadas em animais com comportamento tipo-depressivo, demonstrando que diferentes protocolos de estresse levaram ao mesmo padrão de resposta (TONG *et al.*, 2017). No trabalho de Dayananda e colegas (2023), foi observado que o estresse na infância levou a alterações em marcadores relacionados à poda neural, tanto em machos quanto em

fêmeas (DAYANANDA *et al.*, 2023). Bolton e colaboradores (2022) também mostraram que o estresse no início da vida causou a uma diminuição de fagocitose sináptica pela micróglia, o que levou a um aumento de sinapses excitatórias em neurônios que expressam CRH no hipotálamo e, por fim, a uma hiperreatividade ao estresse na vida adulta (BOLTON *et al.*, 2022).

É compreendido que a micróglia está envolvida em uma variedade de processos neurodesenvolvimentais e homeostáticos, incluindo a sinaptogênese, regulação da apoptose neuronal, fagocitose de detritos celulares, controle de atividade neuronal e, como previamente mencionado, a poda neural (BADIMON *et al.*, 2020; MALLYA *et al.*, 2019; PAOLICELLI *et al.*, 2011b; SOMINSKY; LUCA; SPENCER, 2018; THION; GAREL, 2020; TREMBLAY *et al.*, 2011; WU *et al.*, 2015). A amplitude de seus efeitos molda a estrutura do desenvolvimento do cérebro, impactando o organismo em diferentes níveis, inclusive no padrão comportamental. Schalbetter e colegas (2022) mostraram que a depleção microglial durante a adolescência altera comportamentos sociais, extinção de memória de medo e desempenho em tarefas cognitivas em camundongos machos (SCHALBETTER *et al.*, 2022). Também na adolescência, Kopec e colegas (2018) mostraram que a eliminação de receptores dopaminérgicos pela micróglia molda o padrão de comportamentos sociais em ratos machos, e influencia esses processos de forma ainda indefinida em fêmeas (KOPEC *et al.*, 2018).

Os resultados do nosso trabalho sugerem que, assim como nos estudos mencionados acima, algum processo desenvolvimental durante a adolescência levou a uma alteração de resposta ao estímulo estressor apresentado no início da vida. Considerando que nosso grupo já observou uma alteração de morfologia microglial após o estresse de separação maternal, levantamos a hipótese de que alterações microgliais podem ter influenciado o processo de poda neural durante a adolescência e, de alguma forma ainda não elucidada, levado à mudança de resposta comportamental entre os animais adolescentes e adultos. Neste estudo, foram utilizados camundongos transgênicos CX3CR1:GFP+/-, animais que possuem um alelo do gene *cx3cll*, que codifica um receptor proeminentemente expresso em micróglia no cérebro saudável, substituído por um gene que codifica a expressão de EGFP – portanto, permitindo a exploração posterior da função microglial na continuidade do projeto de pesquisa (JUNG *et al.*, 2000).

No que diz respeito a resultados comportamentais, apesar do grande número de estudos conduzidos em adultos, os resultados dos efeitos da separação maternal também são muito diversos, e até contraditórios (TRACTENBERG *et al.*, 2016). Se não são

observados efeitos comportamentais em alguns estudos, com protocolos de separação de 3 horas diárias do P1-13 ou do P1-14 (MILLSTEIN; HOLMES, 2007), outros observam comportamentos tipo-ansioso e tipo-depressivo, com protocolos de separação maternal de 3 horas diárias do P1-21, do P1-14, ou 6 horas diárias do P7-15 (LESSE *et al.*, 2017; ROMEO *et al.*, 2003; TCHENIO *et al.*, 2017a). Destes estudos, nenhum observou a dinâmica desenvolvimental, portanto não é possível saber se algum efeito transiente durante a adolescência teria sido observado.

Os motivos por trás da grande variação de resultados obtidos em estudos de separação maternal não são bem elucidados, mas uma possibilidade é a também grande variação de protocolos. Diversos trabalhos mostram que as características singulares de um protocolo de separação maternal (como linhagem utilizada, tempo de separação maternal, período pós-natal escolhido, nível de manipulação dos animais, etc.) podem interferir nos resultados observados (ANDERSEN, 2015; KEMBER *et al.*, 2012; KUNDAKOVIC *et al.*, 2013; MILLSTEIN; HOLMES, 2007; MOLET, Jenny *et al.*, 2014; NYLANDER; ROMAN, 2013; VETULANI, 2013). No trabalho de Roman e colegas (2006), a separação maternal de 6 horas diárias não elicitou nenhum efeito comportamental observável em ratos adultos (ROMAN *et al.*, 2006). No trabalho de Talani e colaboradores (2023), por outro lado, a separação maternal de 6 horas diárias leva a déficits de memória e diminuição de preferência por novidade em camundongos machos, mas não fêmeas (TALANI *et al.*, 2023). Resultados do nosso grupo mostram que variáveis como o isolamento social durante o protocolo e a previsibilidade do estresse de separação maternal, por exemplo, influenciam as estratégias comportamentais relacionadas ao estresse no início da vida (MEDEIROS *et al.*, em preparação). No presente estudo, os animais foram separados das mães por 6 horas diárias, de forma imprevisível e isolados dos irmãos de ninhada, e foram observadas alterações de atividade e exposição a ambiente aversivo em machos, além de anedonia social em fêmeas.

No presente estudo, fêmeas adolescentes expostas à separação maternal durante a infância perderam a preferência por estímulos sociais – mais uma vez, esse efeito não se manteve até a vida adulta. Alterações de comportamento social em resposta ao estresse na infância ainda são pouco estudadas, especialmente em animais adolescentes. Em humanos adultos, transtornos psiquiátricos como depressão, ansiedade e esquizofrenia apresentam altas taxas de comorbidade com disfunções sociais, que podem emergir até mesmo antes do diagnóstico (LIN; WOOD; YUNG, 2013). Em camundongos, geralmente não são observadas alterações de comportamento social em machos (FRANKLIN *et al.*, 2011;

OGNIBENE *et al.*, 2008; TSUDA; YAMAGUCHI; OGAWA, 2011), porém alguns trabalhos observaram aumento (KUNDAKOVIC *et al.*, 2013) ou diminuição de sociabilidade (NIWA *et al.*, 2011). Em fêmeas adultas, o número de estudos é ainda mais restrito, e os resultados também são inconsistentes – o estresse no início da vida pode levar a diminuição (TSUDA; YAMAGUCHI; OGAWA, 2011), aumento (BONDAR; LEPESHKO; RESHETNIKOV, 2018) ou não causar efeito algum (KUNDAKOVIC *et al.*, 2013) no padrão de comportamento social. No trabalho de Bondar e colegas, o estresse de separação maternal levou a um comportamento tipo-ansioso e aumento de preferência social em fêmeas adultas (BONDAR; LEPESHKO; RESHETNIKOV, 2018). No nosso trabalho, observamos que fêmeas adultas possuem acentuada preferência social em relação ao grupo controle.

O aumento de comportamento social é um marco da adolescência (BLAKEMORE, 2008). As experiências de interação social são importantes para o desenvolvimento do comportamento e do cérebro, principalmente em regiões associadas a processos emocionais, motivacionais e cognitivas; e a privação de interações sociais específicas durante a adolescência pode levar a prejuízos sociais e cognitivos durante a vida adulta (TREZZA; CAMPOLONGO; VANDERSCHUREN, 2011). Além disso, o engajamento em interação social, por si só, é um fator altamente motivacional. Por exemplo, o acesso a pares para socialização leva a condicionamento de preferência por lugar de forma tão acentuada quanto substâncias aditivas (TREZZA; CAMPOLONGO; VANDERSCHUREN, 2011), e pode ser usado para modular comportamentos tipo-aditivos, podendo diminuir ou aumentar a busca por substâncias dependentemente do contexto (EL RAWAS; SARIA, 2016). Por ser um fator altamente motivacional, a perda de interesse em interações sociais é chamada de “anedonia social”, um sintoma muito prevalente em pacientes com depressão – interessante, a forma social da anedonia é mais expressa em adolescentes (BARKUS; BADCOCK, 2019; LEI *et al.*, 2022). Em consonância com esses dados, no nosso estudo, camundongos fêmeas adolescentes expressaram anedonia social em resposta ao protocolo de separação maternal.

Outros estudos já encontraram uma associação entre o estresse no início da vida e a emergência de comportamentos anedônicos (BOLTON *et al.*, 2018a, 2018b; CHEN, Yuncai; BARAM, 2016; MOLET, J *et al.*, 2016). Os mecanismos por trás dessa associação não são bem elucidados, mas uma das hipóteses mais discutidas envolve o sistema dopaminérgico mesocorticolímbico (popularmente conhecido como “sistema de recompensa”), por ser um forte modulador do direcionamento comportamental (BAIK,

2020). De fato, diversos trabalhos observaram que o estresse crônico, em si, impacta na sinalização dopaminérgica no núcleo accumbens, podendo alterar a plasticidade neuronal, a sinalização intracelular, e a expressão de receptores (FRANCIS *et al.*, 2015; FRANCIS; LOBO, 2017; LOBO *et al.*, 2013; PERROTTI *et al.*, 2004; VIALOU *et al.*, 2010). Estudos anteriores identificaram uma via de neurônios que liberam CRF (fator liberador de corticotrofina, ou *corticotropin-releasing factor*) originados na amígdala e desembocando na área tegumentar ventral – essa via, quando silenciada, levou a comportamentos anedônicos e, além disso, foi identificada como uma moduladora da liberação de dopamina no núcleo accumbens (BOLTON *et al.*, 2018a; DEDIC *et al.*, 2018). No âmbito comportamental, já foi observada significativa contribuição da sinalização dopaminérgica no núcleo accumbens para a emergência de comportamentos sociais (KOPEC *et al.*, 2018). Portanto, propomos a possibilidade de que, neste estudo, em camundongos fêmeas adolescentes que passaram pelo estresse de separação maternal durante a infância, haja uma alteração de vias e da sinalização dopaminérgica do núcleo accumbens, interferindo em aspectos motivacionais do comportamento de interação social.

Diversos fatores podem influenciar na resposta ao estresse no início da vida – idade, contexto, tipo de estressor e, por exemplo, sexo. Estudos recentes na área de especificidades sexuais e/ou de gênero têm demonstrado que, apesar da existência de diferenças sexuais/de gênero, o cérebro humano é um mosaico único com alta sobreposição de características anteriormente relacionadas ao sexo (JOEL *et al.*, 2015; NGUYEN *et al.*, 2019). Ainda que essas características estejam distribuídas de forma espectral, a forma mais acessível atualmente de explorar as diferenças e variações relacionadas (ou não) ao sexo em modelos animais é através da inclusão de fêmeas e machos no delineamento experimental. Nos estudos de separação maternal, até o ano de 2016, a metanálise de Tractenberg e colegas (2016) encontrou que 52.08% dos estudos incluíram machos e fêmeas, 41.66% avaliaram apenas machos e 2.08% estudaram apenas fêmeas (TRACTENBERG *et al.*, 2016). Diversos estudos vêm discutindo a sub-representação de fêmeas em trabalhos científicos, especialmente nas neurociências (BEERY; ZUCKER, 2011). No entanto, a crença sob a qual este dado se justifica – de que dados provenientes de animais fêmeas possuem maior variabilidade – tem se mostrado infundada (BECKER; PRENDERGAST; LIANG, 2016a; PRENDERGAST; ONISHI; ZUCKER, 2014). Na verdade, a inclusão de fêmeas em trabalhos científicos é ainda mais necessária quando observamos diferenças relacionadas ao sexo em tantos trabalhos, em



concordância com o que é observado na população humana. No nosso estudo, observamos uma hiperatividade e aumento de exploração em ambiente aversivo em machos adolescentes, enquanto que as fêmeas apresentaram anedonia social. Em humanos, o histórico de abuso emocional infantil foi associado a uma diminuição de volume hipocampal em homens, mas não em mulheres – porém, os sintomas tipo-depressivos decorrentes da experiência também foram presentes em mulheres (SAMPLIN *et al.*, 2013). A experiência de estresse no início da vida é associada a transtornos psiquiátricos mais fortemente em mulheres do que em homens (COLMAN *et al.*, 2013); por outro lado, o risco de abuso de substâncias é mais presente em homens do que em mulheres (EVANS; GRELLA; UPCHURCH, 2017; STRINE, 2012). De forma paralela, os nossos resultados espelham uma resposta externalizada em machos, e internalizada em fêmeas.

De acordo com os nossos resultados do teste de análise de variância, o fator “exposição ao estresse” foi relacionado a menos tempo no compartimento escuro na caixa claro/escuro; a menos entradas no braço fechado, no centro e menos cruzamentos entre regiões no labirinto em cruz elevado. Ainda, o fator “sexo” em si é relacionado a uma diferença comportamental basal na caixa claro/escuro. Quando os mesmos testes foram realizados em animais adultos, a única alteração a permanecer foi a influência do fator “estresse” no labirinto em cruz elevado. Surpreendentemente, os fatores alterados pela exposição ao estresse em adolescentes sugerem algum tipo de resiliência ao estresse nos testes de comportamento tipo-ansioso ou algum nível de comportamento de risco – os animais permaneceram menos tempo nos compartimentos mais “seguros” /confortáveis. De fato, alguns trabalhos discutem que alterações comportamentais seguidas do estresse no início da vida nem sempre levam a transtornos psiquiátricos, e podem muitas vezes indicar uma adaptação do organismo ao ambiente previsto para o futuro (BATESON; GLUCKMAN; HANSON, 2014). Esse e outros tipos similares de dinâmicas ontogênico-comportamentais podem ser, inclusive, mais adaptativos em determinados contextos. De acordo com a hipótese da reatividade biológica ao contexto, por exemplo, é o dinamismo da resposta em conjunto ao ambiente que determina a adaptabilidade daquele organismo.

É importante notar que, muitas vezes, a adaptação a condições ambientais altamente estressoras pode engendrar condições prejudiciais à saúde de longo prazo (ELLIS; BOYCE, 2008; ELLIS; DEL, 2014; GIUDICE; ELLIS; SHIRTCLIFF, 2011). De fato, uma colaboração do nosso grupo de pesquisa com o grupo de pesquisa renal do Departamento de Fisiologia e Biofísica mostrou que camundongos machos que passaram pelo protocolo de separação maternal durante a infância possuem alterações no sistema

renal durante a vida adulta, sendo elas a diminuição do volume urinário (corrigido por peso), mesmo que com aumento na ingestão de água, e a presença de proteinúria, o que sugere uma resposta sistêmica ao estresse (dados não mostrados). Dessa forma, é possível que a adaptação a condições ambientais altamente estressoras possa ser adaptativa no âmbito comportamental, mas prejudicial ao funcionamento sistêmico do organismo. Ainda assim, esse tipo de fenótipo de “alto custo” poderia se manter na população com a mesma adaptabilidade de outros fenótipos, desde de que ele seja vantajoso em um nicho específico ao longo do tempo/espaço (ELLIS; JACKSON; BOYCE, 2006).

Finalmente, é relevante discutir algumas limitações deste estudo. Primeiramente, o ciclo estral das fêmeas adultas não foi acompanhado durante os experimentos. Atualmente, tem sido discutido que alterações hormonais de acordo com o ciclo estral podem, em algumas condições, “mascarar” vulnerabilidades ao estresse (HODES; EPPERSON, 2019). Além disso, mulheres adultas relatam experienciar mais ou menos respostas emocionais de acordo com a fase do ciclo menstrual (CHRISTENSEN; BOARD; OEI, 1992; HANTSOO; EPPERSON, 2015). De fato, alguns estudos mostram que a fase do ciclo estral em camundongos fêmeas pode influenciar a resposta ao estresse na infância em testes comportamentais (JARIC *et al.*, 2019; LAHAM *et al.*, 2022). Entretanto, outros trabalhos observaram que a variabilidade de dados obtidos de fêmeas sem o monitoramento do ciclo estral não é maior, assim como não é maior do que a variabilidade observada em machos (BECKER; PRENDERGAST; LIANG, 2016b; PRENDERGAST; ONISHI; ZUCKER, 2014). Outra limitação deste estudo é o reduzido poder estatístico dos testes. De forma simplificada, o poder estatístico se refere à probabilidade de não existir erro do tipo II – ou seja, a probabilidade de não se estar “perdendo resultados” (NORTON; STRUBE, 2001). Portanto, é importante ressaltar que os resultados negativos aqui discutidos devem ser interpretados com cautela. Por último, o nosso estudo foi realizado em uma linhagem de camundongos transgênicos, que possui um dos alelos do gene *Cx3cr1* substituído por um gene que expressa EGFP (JUNG *et al.*, 2000). No sistema nervoso central, esse receptor é expresso principalmente em micróglia (WOLF *et al.*, 2013), e já foi identificado que a deleção completa dessa proteína leva a uma deficiência no processo de poda sináptica, acarretando em um aumento de espinhas dendríticas e disfunções maturacionais de sinapses (PAOLICELLI *et al.*, 2011a). Teoricamente, o animal heterozigótico (que utilizamos neste estudo) possui um perfil de expressão do receptor CX3CR1 similar ao animal *wild type* (JUNG *et al.*, 2000). Porém, considerando que esse receptor é importante na comunicação micróglia-neurônio e pode ter papel na

resposta ao estresse (SHERIDAN; MURPHY, 2013), não descartamos a possibilidade de que os resultados comportamentais encontrados sejam específicos a essa linhagem. Um outro estudo do nosso laboratório observou que, tanto a nível basal quanto em resposta ao estresse por separação maternal, existem apenas diferenças comportamentais irrisórias entre camundongos adolescentes C57BL/6 *wild type* e animais CX3CR1:GFP+/- (ÁRABE *et al.*, em preparação). Portanto, apesar das evidências de que não existem grandes diferenças comportamentais entre essas duas linhagens, pelo menos no que diz respeito a animais adolescentes, sugerimos cuidado ao generalizar os resultados obtidos neste estudo para outras linhagens.

Este estudo explora os intricados vínculos entre estresse, desenvolvimento e comportamento. Investir no estudo dessas redes de interação dinâmicas é essencial, tanto para a compreensão de psicopatologias, quanto para entender a fisiologia e a ontogênese dos organismos e do comportamento. Este trabalho se formulou sobre a hipótese de que a interação do estresse no início da vida com processos desenvolvimentais levaria a alterações em processos ontogênicos e a diferentes estratégias comportamentais em camundongos adolescentes e adultos. De acordo com os resultados apresentados no presente estudo, o protocolo de separação maternal durante a infância leva a uma hiperatividade e um aumento de exploração em ambientes aversivos em camundongos machos adolescentes, bem como uma anedonia social em fêmeas adolescentes – alterações que não se mantiveram na vida adulta. Com os dados apresentados, o nosso trabalho destaca a relevância do estudo de diferentes períodos desenvolvimentais em análises comportamentais, assim como do estudo de animais de ambos os sexos em trabalhos científicos.

O ambiente experienciado durante a infância é de extrema relevância para o desenvolvimento saudável do organismo. O baixo nível socioeconômico (relacionado à frequência de exposição a ameaças e à privação de acesso a fatores promotores de bem-estar), o aumento de estresse parental, e exposição a outros estressores são fatores associados a piores reações em situações adversas mais tarde na vida, enquanto que receber apoio social pode estar associado a melhores reações (BAUM; GAROFALO; YALI, 1999; PFEFFERBAUM *et al.*, 2015). No Brasil, durante a pandemia da COVID-19, tanto a insegurança alimentar quanto a perda de contato social com família e amigos foram aspectos associados a sintomas basais de ansiedade e depressão em crianças (MARTINS-FILHO *et al.*, 2021; ZUCCOLO *et al.*, 2023). Em síntese, este estudo foi realizado com o objetivo de acompanhar possíveis alterações comportamentais e

neurodesenvolvimentais associadas à experiência do estresse durante o início da vida, e está em concordância com trabalhos que associam experiências infantis estressoras (como, por exemplo, o baixo status socioeconômico e fatores que acompanham esta realidade social) a alterações em trajetórias maturacionais (TOOLEY; BASSETT; MACKEY, 2021). Em última instância, este trabalho foi desenvolvido sob a ótica de que um ambiente acolhedor e estimulante é necessário para o desenvolvimento comportamental e fisiológico infantil saudável.

## 7. CONCLUSÃO

Há uma interconexão complexa entre o estresse, a ontogenia e o comportamento. Neste estudo, o estresse por separação maternal leva a um aumento do comportamento motor/exploratório em camundongos machos adolescentes, além de um aumento de latência para o escape de ambiente aversivo. Em contrapartida, as fêmeas adolescentes apresentam perda da preferência pela exploração de estímulos sociais. Além disso, observamos uma dinâmica desenvolvimental na qual as alterações comportamentais apresentadas em adolescentes não são mais presentes na vida adulta. O nosso trabalho destaca a relevância do sexo e do período desenvolvimento na resposta de estresse, sustentando que, para a compreensão da neurobiologia do estresse e de seus efeitos no comportamento, é necessária a exploração dessas variáveis em estudos científicos.

## 8. REFERÊNCIAS

ADDAMS, Jane. **The Spirit of Youth and the City Streets**. New York: Macmillan, 1909.

ANDERSEN, Susan L. Exposure to early adversity: Points of cross-species translation that can lead to improved understanding of depression. **Development and Psychopathology**, [s. l.], v. 27, n. 2, p. 477–491, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1017/S0954579415000103>

ANDJUS, P.R *et al.* A change in the pattern of activity affects the developmental regression of the purkinje cell polyinnervation by climbing fibers in the rat cerebellum. **Neuroscience**, [s. l.], v. 121, n. 3, p. 563–572, 2003. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0306-4522\(03\)00556-6](https://doi.org/10.1016/S0306-4522(03)00556-6)

ANDREWS, Jack L; AHMED, Saz P; BLAKEMORE, Sarah-jayne. Review Navigating the Social Environment in Adolescence : The Role of Social Brain Development. **Biological Psychiatry**, [s. l.], v. 89, n. 2, p. 109–118, 2021. Disponível em:

<https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2020.09.012>

ANSORGE, Mark S; HEN, René; GINGRICH, Jay A. Neurodevelopmental origins of depressive disorders. [*s. l.*], 2007. Disponível em:

<https://doi.org/10.1016/j.coph.2006.11.006>

AUSTIN, Linda M. Children of Childhood: Nostalgia and the Romantic Legacy.

**Studies in Romanticism**, [*s. l.*], v. 42, n. 1, p. 75, 2003. Disponível em:

<https://doi.org/10.2307/25601604>

BACHILLER, S. *et al.* Maternal separation leads to regional hippocampal microglial activation and alters the behavior in the adolescence in a sex-specific manner. **Brain, Behavior, & Immunity - Health**, [*s. l.*], v. 9, p. 100142, 2020. Disponível em:

<https://doi.org/10.1016/j.bbih.2020.100142>

<https://doi.org/10.1016/j.bbih.2020.100142>

BADIMON, Ana *et al.* Negative feedback control of neuronal activity by microglia.

**Nature**, [*s. l.*], v. 586, n. October, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2777-8>

BAIK, Ja Hyun. Stress and the dopaminergic reward system. **Experimental and Molecular Medicine**, [*s. l.*], v. 52, n. 12, p. 1879–1890, 2020. Disponível em:

<https://doi.org/10.1038/s12276-020-00532-4>

<https://doi.org/10.1038/s12276-020-00532-4>

BANQUERI, María; MÉNDEZ, Marta; ARIAS, Jorge L. Behavioral effects in adolescence and early adulthood in two length models of maternal separation in male rats. **Behavioural Brain Research**, [*s. l.*], v. 324, p. 77–86, 2017. Disponível em:

<https://doi.org/10.1016/j.bbr.2017.02.006>

BARKUS, Emma; BADCOCK, Johanna C. A Transdiagnostic Perspective on Social Anhedonia. **Frontiers in Psychiatry**, [*s. l.*], v. 10, 2019. Disponível em:

<https://doi.org/10.3389/fpsy.2019.00216>

BATESON, Patrick; GLUCKMAN, Peter; HANSON, Mark. The biology of developmental plasticity and the Predictive Adaptive Response hypothesis. **The Journal of Physiology**, [*s. l.*], v. 592, n. 11, p. 2357–2368, 2014. Disponível em:

<https://doi.org/10.1113/jphysiol.2014.271460>

<https://doi.org/10.1113/jphysiol.2014.271460>

BAUM, ANDREW; GAROFALO, J. P.; YALI, ANN MARIE. Socioeconomic Status and Chronic Stress: Does Stress Account for SES Effects on Health? **Annals of the New York Academy of Sciences**, [*s. l.*], v. 896, n. 1, p. 131–144, 1999. Disponível em:

<https://doi.org/10.1111/j.1749-7647.1999.00896.x>

<https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1999.tb08111.x>

BECKER, Jill B.; PRENDERGAST, Brian J.; LIANG, Jing W. Female rats are not more variable than male rats: a meta-analysis of neuroscience studies. **Biology of Sex Differences**, [s. l.], v. 7, n. 1, p. 34, 2016a. Disponível em:

<https://doi.org/10.1186/s13293-016-0087-5>

BECKER, Jill B.; PRENDERGAST, Brian J.; LIANG, Jing W. Female rats are not more variable than male rats: A meta-analysis of neuroscience studies. **Biology of Sex Differences**, [s. l.], v. 7, n. 1, p. 1–7, 2016b. Disponível em:

<https://doi.org/10.1186/s13293-016-0087-5>

BEERY, Annaliese K.; ZUCKER, Irving. Sex bias in neuroscience and biomedical research. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, [s. l.], v. 35, n. 3, p. 565–572, 2011.

Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2010.07.002>

BERNARD, C. **Lectures on the Phenomena of Life Common to Animals and Plants**. [S. l.]: Thomas, 1974. (American Lecture Series, Publication).*E-book*.

BIAN, Wen-Jie *et al.* Coordinated Spine Pruning and Maturation Mediated by Inter-Spine Competition for Cadherin/Catenin Complexes. **Cell**, [s. l.], v. 162, n. 4, p. 808–822, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2015.07.018>

BIAN, Yaoyao *et al.* Repeated Three-Hour Maternal Separation Induces Depression-Like Behavior and Affects the Expression of Hippocampal Plasticity-Related Proteins in C57BL/6N Mice. **Neural Plasticity**, [s. l.], v. 2015, p. 1–7, 2015. Disponível em:

<https://doi.org/10.1155/2015/627837>

BJÖRKENSTAM, Emma; VINNERLJUNG, Bo; HJERN, Anders. Impact of childhood adversities on depression in early adulthood : A longitudinal cohort study of 478 , 141 individuals in Sweden. **Journal of Affective Disorders**, [s. l.], v. 223, n. July, p. 95–100, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jad.2017.07.030>

BLAKEMORE, Sarah-Jayne. The social brain in adolescence. **Nature Reviews Neuroscience**, [s. l.], v. 9, n. 4, p. 267–277, 2008. Disponível em:

<https://doi.org/10.1038/nrn2353>

BLUEBOND-LANGNER, Myra. **The Private Worlds of Dying Children**. [S. l.]: Princeton University Press, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.2307/j.ctvzsmf6s>

BOLTON, Jessica L. *et al.* Anhedonia Following Early-Life Adversity Involves

Aberrant Interaction of Reward and Anxiety Circuits and Is Reversed by Partial Silencing of Amygdala Corticotropin-Releasing Hormone Gene. **Biological Psychiatry**, [s. l.], v. 83, n. 2, p. 137–147, 2018a. Disponível em:

<https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2017.08.023>

BOLTON, Jessica L. *et al.* Early-life adversity facilitates acquisition of cocaine self-administration and induces persistent anhedonia. **Neurobiology of Stress**, [s. l.], v. 8, p. 57–67, 2018b. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ynstr.2018.01.002>

BOLTON, Jessica L. *et al.* Early stress-induced impaired microglial pruning of excitatory synapses on immature CRH-expressing neurons provokes aberrant adult stress responses. **Cell Reports**, [s. l.], v. 38, n. 13, p. 110600, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2022.110600>

BONDAR, Natalya P.; LEPESHKO, Arina A.; RESHETNIKOV, Vasilij V. Effects of Early-Life Stress on Social and Anxiety-Like Behaviors in Adult Mice: Sex-Specific Effects. **Behavioural Neurology**, [s. l.], v. 2018, p. 1–13, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1155/2018/1538931>

BOYCE, W. THOMAS; ELLIS, BRUCE J. Biological sensitivity to context: I. An evolutionary–developmental theory of the origins and functions of stress reactivity. **Development and Psychopathology**, [s. l.], v. 17, n. 02, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1017/S0954579405050145>

BROWN, Theodore M.; FEE, Elizabeth. Walter Bradford Cannon (1871–1945): Pioneer Physiologist of Human Emotions. **Am J Public Health**, [s. l.], v. 5, n. 1, p. 14–16, 2002. Disponível em: <https://doi.org/10.1177/096777209700500103>

BURBRIDGE, Timothy J. *et al.* Visual Circuit Development Requires Patterned Activity Mediated by Retinal Acetylcholine Receptors. **Neuron**, [s. l.], v. 84, n. 5, p. 1049–1064, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2014.10.051>

BUTTS, Daniel A; KANOLD, Patrick O; SHATZ, Carla J. A Burst-Based “Hebbian” Learning Rule at Retinogeniculate Synapses Links Retinal Waves to Activity-Dependent Refinement. **PLoS Biology**, [s. l.], v. 5, n. 3, p. e61, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0050061>

BYUN, Youkyeong Gloria; CHUNG, Won-Suk. Live-imaging Assay of Astrocyte-mediated Phagocytosis Using pH Indicator-conjugated Synaptosomes. **Journal of Visualized Experiments**, [s. l.], n. 132, 2018. Disponível em:

<https://doi.org/10.3791/56647>

CALCIA, Marilia A. *et al.* Stress and neuroinflammation: A systematic review of the effects of stress on microglia and the implications for mental illness.

**Psychopharmacology**, [*s. l.*], v. 233, n. 9, p. 1637–1650, 2016. Disponível em:

<https://doi.org/10.1007/s00213-016-4218-9>

CANG, Jianhua *et al.* Development of Precise Maps in Visual Cortex Requires Patterned Spontaneous Activity in the Retina. **Neuron**, [*s. l.*], v. 48, n. 5, p. 797–809, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2005.09.015>

CANNON, W B. **The wisdom of the body**. New York, NY, US: W W Norton & Co, 1932.

CANNON, Walter B. **Bodily changes in pain, hunger, fear and rage: An account of recent researches into the function of emotional excitement**. New York: D Appleton & Company, 1915. Disponível em: <https://doi.org/10.1037/10013-000>

CASEY, B.J.; JONES, Rebecca M.; HARE, Todd A. The Adolescent Brain. **Annals of the New York Academy of Sciences**, [*s. l.*], v. 1124, n. 1, p. 111–126, 2008.

Disponível em: <https://doi.org/10.1196/annals.1440.010>

CHARNOV, Eric L. **Life History Invariants**. [*S. l.*]: Oxford University Press Oxford, 1993. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/oso/9780198540724.001.0001>

CHECHIK, Gal; MEILIJSON, Isaac; RUPPIN, Eytan. Synaptic Pruning in Development: A Novel Account in Neural Terms. *In*: COMPUTATIONAL NEUROSCIENCE. Boston, MA: Springer US, 1998. p. 149–154. Disponível em: [https://doi.org/10.1007/978-1-4615-4831-7\\_25](https://doi.org/10.1007/978-1-4615-4831-7_25)

CHEN, Yiwen *et al.* Early Life Stress Induces Different Behaviors in Adolescence and Adulthood May Related With Abnormal Medial Prefrontal Cortex Excitation/Inhibition Balance. **Frontiers in Neuroscience**, [*s. l.*], v. 15, n. January, p. 1–16, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fnins.2021.720286>

CHEN, Yuncai; BARAM, Tallie Z. Toward Understanding How Early-Life Stress Reprograms Cognitive and Emotional Brain Networks. **Neuropsychopharmacology**, [*s. l.*], v. 41, n. 1, p. 197–206, 2016. Disponível em:

<https://doi.org/10.1038/npp.2015.181>

CHRISTENSEN, Alison P.; BOARD, Belinda J.; OEI, Tian P.S. A psychosocial profile



- of women with premenstrual dysphoria. **Journal of Affective Disorders**, [s. l.], v. 25, n. 4, p. 251–259, 1992. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/0165-0327\(92\)90083-I](https://doi.org/10.1016/0165-0327(92)90083-I)
- CHROUSOS, George P.; GOLD, Philip W. The Concepts of Stress and Stress System Disorders: Overview of Physical and Behavioral Homeostasis. **JAMA: The Journal of the American Medical Association**, [s. l.], v. 267, n. 9, p. 1244–1252, 1992. Disponível em: <https://doi.org/10.1001/jama.1992.03480090092034>
- CHUNG, Won-Suk *et al.* Astrocytes mediate synapse elimination through MEGF10 and MERTK pathways. **Nature**, [s. l.], v. 504, n. 7480, p. 394–400, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/nature12776>
- COLMAN, Ian *et al.* Stress and development of depression and heavy drinking in adulthood: moderating effects of childhood trauma. **Social Psychiatry and Psychiatric Epidemiology**, [s. l.], v. 48, n. 2, p. 265–274, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00127-012-0531-8>
- COVENEY, Peter. The Image of Childhood: The Individual and Society: a Study of the Theme in English Literature. **Penguin Books, Baltimore**, [s. l.], 1967.
- CROSS, Stephen J.; ALBURY, William R. Walter B. Cannon, L. J. Henderson, and the Organic Analogy. **Osiris**, [s. l.], v. 3, p. 165–192, 1987. Disponível em: <https://doi.org/10.1086/368665>
- DALSGAARD, Soren *et al.* Incidence Rates and Cumulative Incidences of the Full Spectrum of Diagnosed Mental Disorders in Childhood and Adolescence. [s. l.], v. 77, n. 2, p. 155–164, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1001/jamapsychiatry.2019.3523>
- DAYANANDA, Kiran K. *et al.* Early life stress impairs synaptic pruning in the developing hippocampus. **Brain, Behavior, and Immunity**, [s. l.], v. 107, n. April 2022, p. 16–31, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2022.09.014>
- DEDIC, Nina *et al.* Chronic CRH depletion from GABAergic, long-range projection neurons in the extended amygdala reduces dopamine release and increases anxiety. **Nature Neuroscience**, [s. l.], v. 21, n. 6, p. 803–807, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41593-018-0151-z>
- DUMONTHEIL, Iroise. Adolescent brain development. **Current Opinion in Behavioral Sciences**, [s. l.], v. 10, p. 39–44, 2016. Disponível em:

<https://doi.org/10.1016/j.cobeha.2016.04.012>

EBERT, Cayla. Laurence Steinberg: Age of Opportunity: Lessons from the New Science of Adolescence. **Journal of Youth and Adolescence**, [s. l.], p. 1652–1655, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10964-015-0277-1>

EL RAWAS, Rana; SARIA, Alois. The Two Faces of Social Interaction Reward in Animal Models of Drug Dependence. **Neurochemical Research**, [s. l.], v. 41, n. 3, p. 492–499, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11064-015-1637-7>

ELLIS, Bruce J; BOYCE, W Thomas. **Biological sensitivity to context**. [S. l.: s. n.], 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1467-8721.2008.00571.x>

ELLIS, Bruce J; DEL, Marco. Beyond allostatic load : Rethinking the role of stress in regulating human development. [s. l.], v. 26, p. 1–20, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1017/S0954579413000849>

ELLIS, B; JACKSON, J; BOYCE, W. The stress response systems: Universality and adaptive individual differences☆. **Developmental Review**, [s. l.], v. 26, n. 2, p. 175–212, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.dr.2006.02.004>

ERNST, Monique *et al.* Amygdala and nucleus accumbens in responses to receipt and omission of gains in adults and adolescents. **NeuroImage**, [s. l.], v. 25, n. 4, p. 1279–1291, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2004.12.038>

ESPEJO, Emilio Fdez. Structure of the mouse behaviour on the elevated plus-maze test of anxiety. **Behavioural Brain Research**, [s. l.], v. 86, n. 1, p. 105–112, 1997. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0166-4328\(96\)02245-0](https://doi.org/10.1016/S0166-4328(96)02245-0)

EVANS, Elizabeth A.; GRELLA, Christine E.; UPCHURCH, Dawn M. Gender differences in the effects of childhood adversity on alcohol, drug, and polysubstance-related disorders. **Social Psychiatry and Psychiatric Epidemiology**, [s. l.], v. 52, n. 7, p. 901–912, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00127-017-1355-3>

FAUST, Travis E.; GUNNER, Georgia; SCHAFER, Dorothy P. Mechanisms governing activity-dependent synaptic pruning in the developing mammalian CNS. **Nature Reviews Neuroscience**, [s. l.], v. 22, n. 11, p. 657–673, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41583-021-00507-y>

FELITTI, Vincent J. *et al.* Relationship of Childhood Abuse and Household Dysfunction to Many of the Leading Causes of Death in Adults: The Adverse

Childhood Experiences (ACE) Study. **American Journal of Preventive Medicine**, [s. l.], v. 56, n. 6, p. 774–786, 1998. Disponível em:

<https://doi.org/10.1016/j.amepre.2019.04.001>

FIGUEREDO, A *et al.* Consilience and Life History Theory: From genes to brain to reproductive strategy. **Developmental Review**, [s. l.], v. 26, n. 2, p. 243–275, 2006.

Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.dr.2006.02.002>

FITZSIMONS, C P *et al.* Knockdown of the glucocorticoid receptor alters functional integration of newborn neurons in the adult hippocampus and impairs fear-motivated behavior. **Molecular Psychiatry**, [s. l.], v. 18, n. 9, p. 993–1005, 2013. Disponível em:

<https://doi.org/10.1038/mp.2012.123>

FRANCIS, T. Chase *et al.* Nucleus Accumbens Medium Spiny Neuron Subtypes Mediate Depression-Related Outcomes to Social Defeat Stress. **Biological Psychiatry**, [s. l.], v. 77, n. 3, p. 212–222, 2015. Disponível em:

<https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2014.07.021>

FRANCIS, T. Chase; LOBO, Mary Kay. Emerging Role for Nucleus Accumbens Medium Spiny Neuron Subtypes in Depression. **Biological Psychiatry**, [s. l.], v. 81, n. 8, p. 645–653, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2016.09.007>

FRANKLIN, Tamara B. *et al.* Influence of Early Stress on Social Abilities and Serotonergic Functions across Generations in Mice. **PLoS ONE**, [s. l.], v. 6, n. 7, p. e21842, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0021842>

FROST, Jeffrey L; SCHAFER, Dorothy P. Microglia : Architects of the Developing Nervous System. **Trends in Cell Biology**, [s. l.], v. 26, n. 8, p. 587–597, 2016.

Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.tcb.2016.02.006>

FUHRMANN, Delia; KNOLL, Lisa J; BLAKEMORE, Sarah-jayne. Adolescence as a Sensitive Period of Brain Development. **Trends in Cognitive Sciences**, [s. l.], v. 19, n. 10, p. 558–566, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.tics.2015.07.008>

GIUDICE, Marco; ELLIS, Bruce J; SHIRTCLIFF, Elizabeth A. The Adaptive Calibration Model of stress responsivity. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, [s. l.], v. 35, n. 7, p. 1562–1592, 2011. Disponível em:

<https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2010.11.007>

GOULD, Todd D; DAO, David T; KOVACSICS, Colleen E. The Open Field Test;

Mood and Anxiety Related Phenotypes in Mice. **Neuromethods**, [s. l.], v. 42, p. 1–20, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/978-1-60761-303-9>

GRACIA-RUBIO, Irene *et al.* Maternal Separation Impairs Cocaine-Induced Behavioural Sensitization in Adolescent Mice. **PLOS ONE**, [s. l.], v. 11, n. 12, p. e0167483, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0167483>

GUIDI, Jenny; SONINO, Nicoletta; FAVA, A. Allostatic Load and Its Impact on Health : A Systematic Review. [s. l.], p. 11–27, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1159/000510696>

GUNNER, Georgia *et al.* Sensory lesioning induces microglial synapse elimination via ADAM10 and fractalkine signaling. **Nature Neuroscience**, [s. l.], v. 22, n. 7, p. 1075–1088, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41593-019-0419-y>

GUYER, Amanda E. *et al.* A Developmental Examination of Amygdala Response to Facial Expressions. **Journal of Cognitive Neuroscience**, [s. l.], v. 20, n. 9, p. 1565–1582, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1162/jocn.2008.20114>

HANTSOO, Liisa; EPPERSON, C. Neill. Premenstrual Dysphoric Disorder: Epidemiology and Treatment. **Current Psychiatry Reports**, [s. l.], v. 17, n. 11, p. 87, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11920-015-0628-3>

HE, Ting *et al.* Effect of early life stress on anxiety and depressive behaviors in adolescent mice. [s. l.], n. December 2019, p. 1–10, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/brb3.1526>

HICKIE, Ian B *et al.* Are common childhood or adolescent infections risk factors for schizophrenia and other psychotic disorders? **Medical Journal of Australia**, [s. l.], v. 190, n. 12, p. 715–715, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.5694/j.1326-5377.2009.tb02652.x>

HILL, Rachel A. *et al.* Sex-specific disruptions in spatial memory and anhedonia in a “two hit” rat model correspond with alterations in hippocampal brain-derived neurotrophic factor expression and signaling. **Hippocampus**, [s. l.], v. 24, n. 10, p. 1197–1211, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/hipo.22302>

HODES, Georgia E.; EPPERSON, C. Neill. Sex Differences in Vulnerability and Resilience to Stress Across the Life Span. **Biological Psychiatry**, [s. l.], v. 86, n. 6, p. 421–432, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2019.04.028>

HUANG, Hongfei *et al.* Effects of enriched environment on depression and anxiety-like behavior induced by early life stress : A comparison between different periods.

**Behavioural Brain Research**, [s. l.], v. 411, n. December 2020, p. 113389, 2021.

Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2021.113389>

HUH, Carey Y.L. *et al.* Long-term Monocular Deprivation during Juvenile Critical Period Disrupts Binocular Integration in Mouse Visual Thalamus. **The Journal of Neuroscience**, [s. l.], v. 40, n. 3, p. 585–604, 2020. Disponível em:

<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1626-19.2019>

<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1626-19.2019>

HUTTENLOCHER, Peter R.; DABHOLKAR, Arun S. Regional differences in synaptogenesis in human cerebral cortex. **The Journal of Comparative Neurology**, [s. l.], v. 387, n. 2, p. 167–178, 1997. Disponível em: [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1096-9861\(19971020\)387:2<167::AID-CNE1>3.0.CO;2-Z](https://doi.org/10.1002/(SICI)1096-9861(19971020)387:2<167::AID-CNE1>3.0.CO;2-Z)

[https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1096-9861\(19971020\)387:2<167::AID-CNE1>3.0.CO;2-Z](https://doi.org/10.1002/(SICI)1096-9861(19971020)387:2<167::AID-CNE1>3.0.CO;2-Z)

IACONO, Luisa *et al.* Neurobiology of Stress Early life adversity affecting the attachment bond alters ventral tegmental area transcriptomic patterning and behavior almost exclusively in female mice. **Neurobiology of Stress**, [s. l.], v. 15, p. 100406, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ynstr.2021.100406>

<https://doi.org/10.1016/j.ynstr.2021.100406>

<https://doi.org/10.1016/j.ynstr.2021.100406>

INFURNA, Maria Rita *et al.* Associations between depression and specific childhood experiences of abuse and neglect : A meta-analysis. [s. l.], v. 190, p. 47–55, 2016.

Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jad.2015.09.006>

IÑIGUEZ, Sergio D. *et al.* Social defeat stress induces a depression-like phenotype in adolescent male c57BL/6 mice. **Stress**, [s. l.], v. 17, n. 3, p. 247–255, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.3109/10253890.2014.910650>

<https://doi.org/10.3109/10253890.2014.910650>

INNOCENTI, Giorgio M.; PRICE, David J. Exuberance in the development of cortical networks. **Nature Reviews Neuroscience**, [s. l.], v. 6, n. 12, p. 955–965, 2005.

Disponível em: <https://doi.org/10.1038/nrn1790>

JARIC, Ivana *et al.* Sex and Estrous Cycle Effects on Anxiety- and Depression-Related Phenotypes in a Two-Hit Developmental Stress Model. **Frontiers in Molecular Neuroscience**, [s. l.], v. 12, 2019. Disponível em:

<https://doi.org/10.3389/fnmol.2019.00074>

<https://doi.org/10.3389/fnmol.2019.00074>

JAY, Taylor R. *et al.* TREM2 is required for microglial instruction of astrocytic synaptic engulfment in neurodevelopment. **Glia**, [s. l.], v. 67, n. 10, p. 1873–1892, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/glia.23664>

<https://doi.org/10.1002/glia.23664>

JOEL, Daphna *et al.* Sex beyond the genitalia: The human brain mosaic. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, [s. l.], v. 112, n. 50, p. 15468–15473, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1073/pnas.1509654112>

JOËLS, Marian. Corticosteroid effects in the brain: U-shape it. **Trends in Pharmacological Sciences**, [s. l.], v. 27, n. 5, p. 244–250, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.tips.2006.03.007>

JOHNSON, Frances K *et al.* Amygdala hyper-connectivity in a mouse model of unpredictable early life stress. **Translational Psychiatry**, [s. l.], 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41398-018-0092-z>

JOHNSTON, Michael V. *et al.* Plasticity and injury in the developing brain. **Brain and Development**, [s. l.], v. 31, n. 1, p. 1–10, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.braindev.2008.03.014>

JUNG, Steffen *et al.* Analysis of Fractalkine Receptor CX<sub>3</sub>CR1 Function by Targeted Deletion and Green Fluorescent Protein Reporter Gene Insertion. **Molecular and Cellular Biology**, [s. l.], v. 20, n. 11, p. 4106–4114, 2000. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/MCB.20.11.4106-4114.2000>

KAIDANOVICH-BEILIN, Oksana *et al.* Assessment of social interaction behaviors. **Journal of Visualized Experiments**, [s. l.], v. 0, n. 48, p. 1–6, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.3791/2473>

KANO, Masanobu; WATANABE, Takaki. Developmental synapse remodeling in the cerebellum and visual thalamus. **F1000Research**, [s. l.], v. 8, p. 1191, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.12688/f1000research.18903.1>

KAWAMURA, Yoshinobu *et al.* Spike timing-dependent selective strengthening of single climbing fibre inputs to Purkinje cells during cerebellar development. **Nature Communications**, [s. l.], v. 4, n. 1, p. 2732, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/ncomms3732>

KEMBER, R. L. *et al.* Maternal separation is associated with strain-specific responses to stress and epigenetic alterations to *Nr3c1*, *Avp*, and *Nr4a1* in mouse. **Brain and Behavior**, [s. l.], v. 2, n. 4, p. 455–467, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/brb3.69>

KEMENY, Margaret E. The Psychobiology of Stress. **Current Directions in**

- Psychological Science**, [s. l.], v. 12, n. 4, p. 124–129, 2003. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/1467-8721.01246>
- KESSLER, Ronald C *et al.* Age of onset of mental disorders : a review of recent literature. [s. l.], p. 359–364, 2007.
- KIM, Eun Joo; KIM, Jeansok J. Neurocognitive effects of stress: a metaparadigm perspective. **Molecular Psychiatry**, [s. l.], v. 28, n. 7, p. 2750–2763, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41380-023-01986-4>
- KLOET, E Ron De; JOËLS, Marian; HOLSBOER, Florian. STRESS AND THE BRAIN : FROM ADAPTATION TO DISEASE. [s. l.], v. 6, n. June, p. 463–475, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/nrn1683>
- KONING, Anne-Sophie C A M *et al.* Glucocorticoid and Mineralocorticoid Receptors in the Brain: A Transcriptional Perspective. **Journal of the Endocrine Society**, [s. l.], v. 3, n. 10, p. 1917–1930, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1210/js.2019-00158>
- KOPEC, Ashley M *et al.* Microglial dopamine receptor elimination defines sex-specific nucleus accumbens development and social behavior in adolescent rats. **Nature Communications**, [s. l.], v. 9, n. 1, p. 3769, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41467-018-06118-z>
- KORTE, S. Mechiel *et al.* The Darwinian concept of stress: benefits of allostasis and costs of allostatic load and the trade-offs in health and disease. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, [s. l.], v. 29, n. 1, p. 3–38, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2004.08.009>
- KUNDAKOVIC, Marija *et al.* Sex-Specific and Strain-Dependent Effects of Early Life Adversity on Behavioral and Epigenetic Outcomes. **Frontiers in Psychiatry**, [s. l.], v. 4, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fpsy.2013.00078>
- LAHAM, Blake J. *et al.* The estrous cycle modulates early-life adversity effects on mouse avoidance behavior through progesterone signaling. **Nature Communications**, [s. l.], v. 13, n. 1, p. 7537, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41467-022-35068-w>
- LEE, Joon-Hyuk *et al.* Astrocytes phagocytose adult hippocampal synapses for circuit homeostasis. **Nature**, [s. l.], v. 590, n. 7847, p. 612–617, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41586-020-03060-3>

LEE, Paul R; BRADY, Dana; KOENIG, James I. Corticosterone alters N-methyl-d-aspartate receptor subunit mRNA expression before puberty. **Molecular Brain Research**, [s. l.], v. 115, n. 1, p. 55–62, 2003. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0169-328X\(03\)00180-3](https://doi.org/10.1016/S0169-328X(03)00180-3)

LEES, Robert M.; JOHNSON, James D.; ASHBY, Michael C. Presynaptic Boutons That Contain Mitochondria Are More Stable. **Frontiers in Synaptic Neuroscience**, [s. l.], v. 11, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fnsyn.2019.00037>

LEI, Yun *et al.* Leptin enhances social motivation and reverses chronic unpredictable stress-induced social anhedonia during adolescence. **Molecular Psychiatry**, [s. l.], v. 27, n. 12, p. 4948–4958, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41380-022-01778-2>

LEMOULT, Joelle *et al.* Meta-Analysis: Exposure to Early Life Stress and Risk for Depression in Childhood and Adolescence. **Journal of the American Academy of Child & Adolescent Psychiatry**, [s. l.], 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jaac.2019.10.011>

LEONARDO, E David; HEN, Rene. Anxiety as a Developmental Disorder. [s. l.], p. 134–140, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/sj.npp.1301569>

LESSE, Alexandra *et al.* Chronic Postnatal Stress Induces Depressive-like Behavior in Male Mice and Programs second-Hit Stress-Induced Gene Expression Patterns of OxtR and Avpr1a in Adulthood. **Molecular Neurobiology**, [s. l.], v. 54, n. 6, p. 4813–4819, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s12035-016-0043-8>

LEUSSIS, Melanie P. *et al.* Depressive-Like Behavior in Adolescents after Maternal Separation: Sex Differences, Controllability, and GABA. **Developmental Neuroscience**, [s. l.], v. 34, n. 2–3, p. 210–217, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1159/000339162>

LI, G. *et al.* Spatial Patterns, Longitudinal Development, and Hemispheric Asymmetries of Cortical Thickness in Infants from Birth to 2 Years of Age. **Journal of Neuroscience**, [s. l.], v. 35, n. 24, p. 9150–9162, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4107-14.2015>

LI, M; ARCY, C D; MENG, X. Maltreatment in childhood substantially increases the risk of adult depression and anxiety in prospective cohort studies : systematic review , meta- analysis , and proportional attributable fractions. [s. l.], p. 717–730, 2016.



Disponível em: <https://doi.org/10.1017/S0033291715002743>

LIN, Ashleigh; WOOD, Stephen J.; YUNG, Alison R. Measuring psychosocial outcome is good. **Current Opinion in Psychiatry**, [s. l.], v. 26, n. 2, p. 138–143, 2013.

Disponível em: <https://doi.org/10.1097/YCO.0b013e32835d82aa>

LOBO, Mary Kay *et al.* ΔFosB Induction in Striatal Medium Spiny Neuron Subtypes in Response to Chronic Pharmacological, Emotional, and Optogenetic Stimuli. **The Journal of Neuroscience**, [s. l.], v. 33, n. 47, p. 18381–18395, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1875-13.2013>

LUKKES, Jodi L. *et al.* Early life stress and later peer distress on depressive behavior in adolescent female rats: Effects of a novel intervention on GABA and D2 receptors.

**Behavioural Brain Research**, [s. l.], v. 330, p. 37–45, 2017. Disponível em:

<https://doi.org/10.1016/j.bbr.2017.04.053>

LUPIEN, Sonia J. *et al.* Effects of stress throughout the lifespan on the brain, behaviour and cognition. **Nature Reviews Neuroscience**, [s. l.], v. 10, n. 6, p. 434–445, 2009.

Disponível em: <https://doi.org/10.1038/nrn2639>

MACRÌ, Simone; LAVIOLA, Giovanni. Single episode of maternal deprivation and adult depressive profile in mice: interaction with cannabinoid exposure during adolescence. **Behavioural Brain Research**, [s. l.], v. 154, n. 1, p. 231–238, 2004.

Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2004.02.009>

MALLYA, Allyson P. *et al.* Microglial Pruning of Synapses in the Prefrontal Cortex during Adolescence. **Cerebral Cortex**, [s. l.], v. 29, n. 4, p. 1634–1643, 2019.

Disponível em: <https://doi.org/10.1093/cercor/bhy061>

MARCO, Eva M. *et al.* Detrimental psychophysiological effects of early maternal deprivation in adolescent and adult rodents: Altered responses to cannabinoid exposure.

**Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, [s. l.], v. 33, n. 4, p. 498–507, 2009.

Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2008.03.008>

MARCO, Eva M.; MACRÌ, Simone; LAVIOLA, Giovanni. Critical age windows for neurodevelopmental psychiatric disorders: Evidence from animal models.

**Neurotoxicity Research**, [s. l.], v. 19, n. 2, p. 286–307, 2011. Disponível em:

<https://doi.org/10.1007/s12640-010-9205-z>

MARCOTTE, Michael *et al.* Handling Techniques to Reduce Stress in Mice. **Journal**

of **Visualized Experiments**, [s. l.], n. 175, 2021. Disponível em:

<https://doi.org/10.3791/62593>

MARTINS-FILHO, P.R. *et al.* Socio-economic inequalities and COVID-19 incidence and mortality in Brazilian children: a nationwide register-based study. **Public Health**, [s. l.], v. 190, p. 4–6, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.puhe.2020.11.005>

MCALLISTER, A. Kimberley. Major Histocompatibility Complex I in Brain Development and Schizophrenia. **Biological Psychiatry**, [s. l.], v. 75, n. 4, p. 262–268, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2013.10.003>

MCEWEN, B. S. **Central Role of the Brain in Stress and Adaptation: Allostasis, Biological Embedding, and Cumulative Change**. [S. l.]: Elsevier Inc., 2016.

Disponível em: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800951-2.00005-4>

MCEWEN, Bruce S. Stress, Adaptation, and Disease: Allostasis and Allostatic Load. [s. l.], 1998. Disponível em: <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1998.tb09546.x>

MEANEY, Michael J. Maternal Care, Gene Expression, and the Transmission of Individual Differences in Stress Reactivity Across Generations. **Annual Review of Neuroscience**, [s. l.], v. 24, n. 1, p. 1161–1192, 2001. Disponível em: <https://doi.org/10.1146/annurev.neuro.24.1.1161>

MEANEY, Michael J.; SZYF, Moshe. Maternal care as a model for experience-dependent chromatin plasticity? **Trends in Neurosciences**, [s. l.], v. 28, n. 9, p. 456–463, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.tins.2005.07.006>

MEREDITH, R. M. Sensitive and critical periods during neurotypical and aberrant neurodevelopment: A framework for neurodevelopmental disorders. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, [s. l.], v. 50, p. 180–188, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2014.12.001>

MIKUNI, Takayasu *et al.* Arc/Arg3.1 Is a Postsynaptic Mediator of Activity-Dependent Synapse Elimination in the Developing Cerebellum. **Neuron**, [s. l.], v. 78, n. 6, p. 1024–1035, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2013.04.036>

MILLSTEIN, Rachel A.; HOLMES, Andrew. Effects of repeated maternal separation on anxiety- and depression-related phenotypes in different mouse strains. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, [s. l.], v. 31, n. 1, p. 3–17, 2007. Disponível em:

<https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2006.05.003>

MOLET, J *et al.* Fragmentation and high entropy of neonatal experience predict adolescent emotional outcome. **Translational Psychiatry**, [*s. l.*], v. 6, n. 1, p. e702–e702, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/tp.2015.200>

MOLET, Jenny *et al.* Naturalistic rodent models of chronic early-life stress. **Developmental Psychobiology**, [*s. l.*], v. 56, n. 8, p. 1675–1688, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/dev.21230>

MONTGOMERY, K. C. The relation between fear induced by novel stimulation and exploratory drive. **Journal of Comparative and Physiological Psychology**, [*s. l.*], v. 48, n. 4, p. 254–260, 1955. Disponível em: <https://doi.org/10.1037/h0043788>

MORIMOTO, Keiko; NAKAJIMA, Kazunori. Role of the Immune System in the Development of the Central Nervous System. **Frontiers in Neuroscience**, [*s. l.*], v. 13, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fnins.2019.00916>

MUIR-ROBINSON, Gianna; HWANG, Bryan J.; FELLER, Marla B. Retinogeniculate Axons Undergo Eye-Specific Segregation in the Absence of Eye-Specific Layers. **The Journal of Neuroscience**, [*s. l.*], v. 22, n. 13, p. 5259–5264, 2002. Disponível em: <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.22-13-05259.2002>

MURGATROYD, Chris *et al.* Dynamic DNA methylation programs persistent adverse effects of early-life stress. [*s. l.*], v. 12, n. 12, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/nm.2436>

NATU, Vaidehi S. *et al.* Apparent thinning of human visual cortex during childhood is associated with myelination. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, [*s. l.*], v. 116, n. 41, p. 20750–20759, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1073/pnas.1904931116>

NELSON, Janna *et al.* Childhood maltreatment and characteristics of adult depression : meta-analysis. [*s. l.*], p. 96–104, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1192/bjp.bp.115.180752>

NEMEROFF, Charles B. Paradise Lost: The Neurobiological and Clinical Consequences of Child Abuse and Neglect. **Neuron**, [*s. l.*], v. 89, n. 5, p. 892–909, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2016.01.019>

NGUYEN, Hillary B. *et al.* What has sex got to do with it? The role of hormones in the

transgender brain. **Neuropsychopharmacology**, [s. l.], v. 44, n. 1, p. 22–37, 2019.

Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41386-018-0140-7>

NICOLAIDES, Nicolas C. *et al.* Stress, the Stress System and the Role of Glucocorticoids. **Neuroimmunomodulation**, [s. l.], v. 22, n. 1–2, p. 6–19, 2015.

Disponível em: <https://doi.org/10.1159/000362736>

NISHI, Mayumi. Effects of Early-Life Stress on the Brain and Behaviors : Implications of Early Maternal Separation in Rodents. [s. l.], 2020.

NIWA, Minae *et al.* Vulnerability in early life to changes in the rearing environment plays a crucial role in the aetiopathology of psychiatric disorders. **The International Journal of Neuropsychopharmacology**, [s. l.], v. 14, n. 04, p. 459–477, 2011.

Disponível em: <https://doi.org/10.1017/S1461145710001239>

NORTON, Barbara J.; STRUBE, Michael J. Understanding Statistical Power. **Journal of Orthopaedic & Sports Physical Therapy**, [s. l.], v. 31, n. 6, p. 307–315, 2001.

Disponível em: <https://doi.org/10.2519/jospt.2001.31.6.307>

NYLANDER, Ingrid; ROMAN, Erika. Is the rodent maternal separation model a valid and effective model for studies on the early-life impact on ethanol consumption?

**Psychopharmacology**, [s. l.], v. 229, n. 4, p. 555–569, 2013. Disponível em:

<https://doi.org/10.1007/s00213-013-3217-3>

OGNIBENE, Elisa *et al.* The effect of early maternal separation on brain derived neurotrophic factor and monoamine levels in adult heterozygous reeler mice. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, [s. l.], v. 32, n. 5, p. 1269–1276, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2008.03.023>

PAOLICELLI, Rosa C. *et al.* Defining microglial states and nomenclature: a roadmap to 2030. **Preprint**, [s. l.], 2022.

PAOLICELLI, Rosa C. *et al.* Synaptic pruning by microglia is necessary for normal brain development. **Science**, [s. l.], v. 333, n. 6048, p. 1456–1458, 2011a. Disponível em: <https://doi.org/10.1126/science.1202529>

PAOLICELLI, Rosa C *et al.* Synaptic Pruning by Microglia Is Necessary for Normal Brain Development. [s. l.], v. 333, n. September, p. 1456–1459, 2011b.

PAOLICELLI, Rosa C.; GROSS, Cornelius T. Microglia in development: Linking brain wiring to brain environment. **Neuron Glia Biology**, [s. l.], v. 7, n. 1, p. 77–83, 2012.

Disponível em: <https://doi.org/10.1017/S1740925X12000105>

PELLOW, Sharon *et al.* Validation of open : closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. **Journal of Neuroscience Methods**, [s. l.], v. 14, n. 3, p. 149–167, 1985. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/0165-0270\(85\)90031-7](https://doi.org/10.1016/0165-0270(85)90031-7)

PEÑA, Catherine J. *et al.* Early life stress confers lifelong stress susceptibility in mice via ventral tegmental area OTX2. **Science**, [s. l.], v. 356, n. 6343, p. 1185–1188, 2017b. Disponível em: <https://doi.org/10.1126/science.aan4491>

PEÑA, Catherine J *et al.* Early life stress confers lifelong stress susceptibility in mice via ventral tegmental area OTX2. **Neurodevelopment**, [s. l.], v. 1188, n. June, p. 1185–1188, 2017a.

PEÑA, Catherine Jensen *et al.* Early life stress alters transcriptomic patterning across reward circuitry in male and female mice. **Nature Communications**, [s. l.], v. 10, n. 1, p. 1–13, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41467-019-13085-6>

PEÑA, Catherine Jensen; NESTLER, Eric J.; BAGOT, Rosemary C. Environmental Programming of Susceptibility and Resilience to Stress in Adulthood in Male Mice. **Frontiers in Behavioral Neuroscience**, [s. l.], v. 13, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2019.00040>

PENN, Anna A. *et al.* Competition in Retinogeniculate Patterning Driven by Spontaneous Activity. **Science**, [s. l.], v. 279, n. 5359, p. 2108–2112, 1998. Disponível em: <https://doi.org/10.1126/science.279.5359.2108>

PERROTTI, Linda I. *et al.* Induction of  $\Delta$ FosB in Reward-Related Brain Structures after Chronic Stress. **The Journal of Neuroscience**, [s. l.], v. 24, n. 47, p. 10594–10602, 2004. Disponível em: <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2542-04.2004>

PFEFFERBAUM, Betty *et al.* Children’s Disaster Reactions: the Influence of Family and Social Factors. **Current Psychiatry Reports**, [s. l.], v. 17, n. 7, p. 57, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11920-015-0597-6>

PFEIFER, Jennifer H; ALLEN, Nicholas B. Review Puberty Initiates Cascading Relationships Between Neurodevelopmental , Social , and Internalizing Processes Across Adolescence. **Biological Psychiatry**, [s. l.], v. 89, n. 2, p. 99–108, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2020.09.002>

PIEKARSKI, David J *et al.* Does puberty mark a transition in sensitive periods for plasticity in the associative neocortex ? **Brain Research**, [s. l.], v. 1654, p. 123–144, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2016.08.042>

PLOTSKY, Paul M.; MEANEY, Michael J. Early, postnatal experience alters hypothalamic corticotropin-releasing factor (CRF) mRNA, median eminence CRF content and stress-induced release in adult rats. **Molecular Brain Research**, [s. l.], v. 18, n. 3, p. 195–200, 1993. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/0169-328X\(93\)90189-V](https://doi.org/10.1016/0169-328X(93)90189-V)

PRENDERGAST, Brian J.; ONISHI, Kenneth G.; ZUCKER, Irving. Female mice liberated for inclusion in neuroscience and biomedical research. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, [s. l.], v. 40, p. 1–5, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2014.01.001>

PREYER, William Thierry. **The Mind of the Child: Observations Concerning the Mental Development of the Human Being in the First Years of Life**. 1973. ed. New York: Arno Press, 1888.

PRUT, Laetitia; BELZUNG, Catherine. The open field as a paradigm to measure the effects of drugs on anxiety-like behaviors: A review. **European Journal of Pharmacology**, [s. l.], v. 463, n. 1–3, p. 3–33, 2003. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0014-2999\(03\)01272-X](https://doi.org/10.1016/S0014-2999(03)01272-X)

REH, Rebecca K. *et al.* Critical period regulation across multiple timescales. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, [s. l.], v. 117, n. 38, p. 23242–23251, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1073/pnas.1820836117>

REIN, Benjamin; MA, Kaijie; YAN, Zhen. A standardized social preference protocol for measuring social deficits in mouse models of autism. **Nature Protocols**, [s. l.], v. 15, n. 10, p. 3464–3477, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41596-020-0382-9>

REUL, J.M.H.M.; DE KLOET, E.R. Anatomical resolution of two types of corticosterone receptor sites in rat brain with in vitro autoradiography and computerized image analysis. **Journal of Steroid Biochemistry**, [s. l.], v. 24, n. 1, p. 269–272, 1986. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/0022-4731\(86\)90063-4](https://doi.org/10.1016/0022-4731(86)90063-4)

REUL, J. M. H. M.; KLOET, E. R. DE. Two Receptor Systems for Corticosterone in Rat Brain: Microdistribution and Differential Occupation. **Endocrinology**, [s. l.], v.

- 117, n. 6, p. 2505–2511, 1985. Disponível em: <https://doi.org/10.1210/endo-117-6-2505>
- REUL, J. M. H. M.; VAN DEN BOSCH, F. R.; DE KLOET, E. R. Relative occupation of type-I and type-II corticosteroid receptors in rat brain following stress and dexamethasone treatment: functional implications. **Journal of Endocrinology**, [s. l.], v. 115, n. 3, p. 459–467, 1987. Disponível em: <https://doi.org/10.1677/joe.0.1150459>
- ROBERTSON, P. Home as a nest: Middle class Childhood in Nineteenth-Century Europe. **Mause, L. de (Ed.): The History of Childhood, New York (The Psychohistory Press) 1974, pp. 407-431.**, [s. l.], 1974. Disponível em: <https://opus4.kobv.de/opus4-Fromm/frontdoor/index/index/docId/18987>
- ROMAN, Erika *et al.* Behavioral profiles and stress-induced corticosteroid secretion in male Wistar rats subjected to short and prolonged periods of maternal separation. **Hormones and Behavior**, [s. l.], v. 50, n. 5, p. 736–747, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2006.06.016>
- ROMEO, Russell D *et al.* Anxiety and fear behaviors in adult male and female C57BL/6 mice are modulated by maternal separation. **Hormones and Behavior**, [s. l.], v. 43, n. 5, p. 561–567, 2003. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0018-506X\(03\)00063-1](https://doi.org/10.1016/S0018-506X(03)00063-1)
- ROMEO, Russell D. The Teenage Brain. **Current Directions in Psychological Science**, [s. l.], v. 22, n. 2, p. 140–145, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1177/0963721413475445>
- RYAN, Patrick J. How New Is the “New” Social Study of Childhood? The Myth of a Paradigm Shift. **The Journal of Interdisciplinary History**, [s. l.], v. 38, n. 4, p. 553–576, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1162/jinh.2008.38.4.553>
- SADAKA, Yair *et al.* Changes in mouse barrel synapses consequent to sensory deprivation from birth. **Journal of Comparative Neurology**, [s. l.], v. 457, n. 1, p. 75–86, 2003. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/cne.10518>
- SAMPLIN, Erin *et al.* Sex differences in resilience to childhood maltreatment: Effects of trauma history on hippocampal volume, general cognition and subclinical psychosis in healthy adults. **Journal of Psychiatric Research**, [s. l.], v. 47, n. 9, p. 1174–1179, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jpsychires.2013.05.008>
- SAPOLSKY, Robert M.; MEANEY, Michael J. Maturation of the adrenocortical stress

response: Neuroendocrine control mechanisms and the stress hyporesponsive period.

**Brain Research Reviews**, [s. l.], v. 11, n. 1, p. 65–76, 1986. Disponível em:

[https://doi.org/10.1016/0165-0173\(86\)90010-X](https://doi.org/10.1016/0165-0173(86)90010-X)

SAWYER, Susan M *et al.* The age of adolescence. [s. l.], v. 4642, n. 18, p. 1–6, 2018.

Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S2352-4642\(18\)30022-1](https://doi.org/10.1016/S2352-4642(18)30022-1)

SCHAFFER, Dorothy P. *et al.* Microglia Sculpt Postnatal Neural Circuits in an Activity and Complement-Dependent Manner. **Neuron**, [s. l.], v. 74, n. 4, p. 691–705, 2012.

Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2012.03.026>

SCHALBETTER, Sina M *et al.* Adolescence is a sensitive period for prefrontal microglia to act on cognitive development. [s. l.], v. 3, n. March, 2022.

SEGNI, Matteo Di *et al.* Sex-dependent effects of early unstable post-natal environment on response to positive and negative stimuli in adult mice. **Neuroscience**, [s. l.], v. 413, p. 1–10, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2019.06.016>

SELEMON, L D. A role for synaptic plasticity in the adolescent development of executive function. **Translational Psychiatry**, [s. l.], n. January, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/tp.2013.7>

SELYE, Hans. Confusion and Controversy in the Stress Field. **Journal of Human Stress**, [s. l.], v. 1, n. 2, p. 37–44, 1975. Disponível em:

<https://doi.org/10.1080/0097840X.1975.9940406>

SHERIDAN, Graham K.; MURPHY, Keith J. Neuron–glia crosstalk in health and disease: fractalkine and CX<sub>3</sub>CR1 take centre stage. **Open Biology**, [s. l.], v. 3, n. 12, p. 130181, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1098/rsob.130181>

SHIN, S.Y. *et al.* Adolescent mice show anxiety- and aggressive-like behavior and the reduction of long-term potentiation in mossy fiber-CA3 synapses after neonatal maternal separation. **Neuroscience**, [s. l.], v. 316, p. 221–231, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2015.12.041>

SHIN, Sang Yep *et al.* Chronic administration of ketamine ameliorates the anxiety- and aggressive-like behavior in adolescent mice induced by neonatal maternal separation.

**The Korean Journal of Physiology & Pharmacology**, [s. l.], v. 23, n. 1, p. 81, 2019.

Disponível em: <https://doi.org/10.4196/kjpp.2019.23.1.81>

SHU, Chang *et al.* Blunted Behavioral and Molecular Responses to Chronic Mild Stress



in Adult Rats with Experience of Infancy Maternal Separation. **The Tohoku Journal of Experimental Medicine**, [s. l.], v. 235, n. 2, p. 81–87, 2015. Disponível em:

<https://doi.org/10.1620/tjem.235.81>

SMITH, John Maynard. Evolution and the Theory of Games. *In: DID DARWIN GET IT RIGHT?* Boston, MA: Springer US, 1988. p. 202–215. Disponível em:

[https://doi.org/10.1007/978-1-4684-7862-4\\_22](https://doi.org/10.1007/978-1-4684-7862-4_22)

SOMINSKY, Luba; LUCA, Simone De; SPENCER, Sarah J. Microglia: Key players in neurodevelopment and neuronal plasticity. [s. l.], v. 94, n. November 2017, p. 56–60, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2017.11.012>

SPEAR, L P. **The adolescent brain and age-related behavioral manifestations.** [S. l.: s. n.], 2000. v. 24

STEARNS, Stephen C. **The Evolution Of Life Histories.** [S. l.]: Oxford University Press Oxford, 1998. Disponível em:

<https://doi.org/10.1093/oso/9780198577416.001.0001>

STEIN, Dirson J *et al.* Microglial Over-Activation by Social Defeat Stress Contributes to Anxiety-. [s. l.], v. 11, n. October, 2017. Disponível em:

<https://doi.org/10.3389/fnbeh.2017.00207>

STEPHAN, Alexander H.; BARRES, Ben A.; STEVENS, Beth. The complement system: An unexpected role in synaptic pruning during development and disease.

**Annual Review of Neuroscience**, [s. l.], v. 35, p. 369–389, 2012. Disponível em:

<https://doi.org/10.1146/annurev-neuro-061010-113810>

STILES, Joan; JERNIGAN, Terry L. The Basics of Brain Development.

**Neuropsychology Review**, [s. l.], v. 20, n. 4, p. 327–348, 2010. Disponível em:

<https://doi.org/10.1007/s11065-010-9148-4>

STRINE, Tara. Associations Between Adverse Childhood Experiences, Psychological Distress, and Adult Alcohol Problems. **American Journal of Health Behavior**, [s. l.],

v. 36, n. 3, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.5993/AJHB.36.3.11>

STROUD, Catherine B. *et al.* Early adversity and internalizing symptoms in adolescence: Mediation by individual differences in latent trait cortisol. **Development and Psychopathology**, [s. l.], v. 31, n. 2, p. 509–524, 2019. Disponível em:

<https://doi.org/10.1017/S0954579418000044>

STROUP, William. The Romantic Child. **Literature Compass**, [s. l.], v. 1, n. 1, p. 1–5, 2004. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1741-4113.2004.00078.x>

SUCHECKI, Deborah *et al.* Activation and inhibition of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis of the neonatal rat: Effects of maternal deprivation.

**Psychoneuroendocrinology**, [s. l.], v. 20, n. 2, p. 169–182, 1995. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/0306-4530\(94\)00051-B](https://doi.org/10.1016/0306-4530(94)00051-B)

SUN, Tao *et al.* Motile Axonal Mitochondria Contribute to the Variability of Presynaptic Strength. **Cell Reports**, [s. l.], v. 4, n. 3, p. 413–419, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2013.06.040>

SUN, Yujiao Jennifer *et al.* Experience-dependent structural plasticity at pre- and postsynaptic sites of layer 2/3 cells in developing visual cortex. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, [s. l.], v. 116, n. 43, p. 21812–21820, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1073/pnas.1914661116>

TALANI, Giuseppe *et al.* Sex-dependent changes of hippocampal synaptic plasticity and cognitive performance in C57BL/6J mice exposed to neonatal repeated maternal separation. **Neuropharmacology**, [s. l.], v. 222, p. 109301, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2022.109301>

TAN, SY; YIP, A. Hans Selye (1907–1982): Founder of the stress theory. **Singapore Medical Journal**, [s. l.], v. 59, n. 4, p. 170–171, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.11622/smedj.2018043>

TCHENIO, Anna *et al.* Limiting habenular hyperactivity ameliorates maternal separation-driven depressive-like symptoms. **Nature Communications**, [s. l.], v. 8, n. 1, p. 1135, 2017a. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41467-017-01192-1>

TCHENIO, Anna *et al.* Limiting habenular hyperactivity ameliorates symptoms. **Nature Communications**, [s. l.], 2017b. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41467-017-01192-1>

TESAR, Marek. An Overview of Childhood Studies. *In: ENCYCLOPEDIA OF EDUCATIONAL PHILOSOPHY AND THEORY*. Singapore: Springer Singapore, 2016. p. 1–6. Disponível em: [https://doi.org/10.1007/978-981-287-532-7\\_261-1](https://doi.org/10.1007/978-981-287-532-7_261-1)

THION, Morgane Sonia; GAREL, Sonia. Microglial ontogeny , diversity and neurodevelopmental functions. **Current Opinion in Genetics & Development**, [s. l.],

v. 65, p. 186–194, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.gde.2020.06.013>

TONG, Lijuan *et al.* Microglia Loss Contributes to the Development of Major Depression Induced by Different Types of Chronic Stresses. **Neurochemical Research**, [s. l.], v. 42, n. 10, p. 2698–2711, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11064-017-2270-4>

TOOLEY, Ursula A.; BASSETT, Danielle S.; MACKEY, Allyson P. Environmental influences on the pace of brain development. **Nature Reviews Neuroscience**, [s. l.], v. 22, n. 6, p. 372–384, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41583-021-00457-5>

TRACTENBERG, Saulo G. *et al.* An overview of maternal separation effects on behavioural outcomes in mice: Evidence from a four-stage methodological systematic review. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, [s. l.], v. 68, p. 489–503, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2016.06.021>

TREMBLAY, Marie-Ève *et al.* The Role of Microglia in the Healthy Brain. [s. l.], v. 31, n. 45, p. 16064–16069, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4158-11.2011>

TREMBLAY, Marie-Ève; LOWERY, Rebecca L.; MAJEWSKA, Ania K. Microglial Interactions with Synapses Are Modulated by Visual Experience. **PLoS Biology**, [s. l.], v. 8, n. 11, p. e1000527, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1000527>

TREZZA, Viviana; CAMPOLONGO, Patrizia; VANDERSCHUREN, Louk J.M.J. Evaluating the rewarding nature of social interactions in laboratory animals. **Developmental Cognitive Neuroscience**, [s. l.], v. 1, n. 4, p. 444–458, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.dcn.2011.05.007>

TSUDA, Mumeko C.; YAMAGUCHI, Naoko; OGAWA, Sonoko. Early life stress disrupts peripubertal development of aggression in male mice. **NeuroReport**, [s. l.], v. 22, n. 6, p. 259–263, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1097/WNR.0b013e328344495a>

TURECKI, Gustavo *et al.* The neurodevelopmental origins of suicidal behavior. [s. l.], v. 35, n. 1, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.tins.2011.11.008>

UCHIDA, Shusaku *et al.* Early Life Stress Enhances Behavioral Vulnerability to Stress through the Activation of REST4-Mediated Gene Transcription in the Medial Prefrontal

Cortex of Rodents. **The Journal of Neuroscience**, [s. l.], v. 30, n. 45, p. 15007–15018, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1436-10.2010>

VELIKI, Martina Domines; DUFFY, Cian. **Romanticism and the Cultures of Infancy**. Cham: Springer International Publishing, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/978-3-030-50429-8>

VETULANI, Jerzy. Early maternal separation: a rodent model of depression and a prevailing human condition. **Pharmacological Reports**, [s. l.], v. 65, n. 6, p. 1451–1461, 2013. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S1734-1140\(13\)71505-6](https://doi.org/10.1016/S1734-1140(13)71505-6)

VIALOU, Vincent *et al.*  $\Delta$ FosB in brain reward circuits mediates resilience to stress and antidepressant responses. **Nature Neuroscience**, [s. l.], v. 13, n. 6, p. 745–752, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/nn.2551>

VIGARELLO, Georges. **O sentimento de si: História da percepção do corpo - Séculos XVI-XX**. ISBN 8532651623ed. [S. l.]: Editora Vozes, 2016.

WALF, Alicia A.; FRYE, Cheryl A. The use of the elevated plus maze as an assay of anxiety-related behavior in rodents. **Nature Protocols**, [s. l.], v. 2, n. 2, p. 322–328, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/nprot.2007.44>

WALSH, Roger N.; CUMMINS, Robert A. The open-field test: A critical review. **Psychological Bulletin**, [s. l.], v. 83, n. 3, p. 482–504, 1976. Disponível em: <https://doi.org/10.1037/0033-2909.83.3.482>

WANG, Daniel *et al.* Systematic review and meta-analysis : effects of maternal separation on anxiety-like behavior in rodents. **Translational Psychiatry**, [s. l.], 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41398-020-0856-0>

WANG, Qiong *et al.* The different effects of maternal separation on spatial learning and reversal learning in rats. **Behavioural Brain Research**, [s. l.], v. 280, p. 16–23, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2014.11.040>

WATANABE, Masahiko; KANO, Masanobu. Climbing fiber synapse elimination in cerebellar Purkinje cells. **European Journal of Neuroscience**, [s. l.], v. 34, n. 10, p. 1697–1710, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2011.07894.x>

WATERS, Renée C; GOULD, Elizabeth. Early Life Adversity and Neuropsychiatric Disease : Differential Outcomes and Translational Relevance of Rodent Models. [s. l.], v. 16, n. June, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fnsys.2022.860847>

- WEAVER, Ian C G *et al.* Epigenetic programming by maternal behavior. **Nature Neuroscience**, [s. l.], v. 7, n. 8, p. 847–854, 2004. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/nm1276>
- WHITE, Jordon D; KAFFMAN, Arie. The Moderating Effects of Sex on Consequences of Childhood Maltreatment : From Clinical Studies to Animal Models. [s. l.], v. 13, n. October, p. 1–16, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fnins.2019.01082>
- WIMMER, Verena C. *et al.* Experience-induced plasticity of thalamocortical axons in both juveniles and adults. **Journal of Comparative Neurology**, [s. l.], v. 518, n. 22, p. 4629–4648, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/cne.22483>
- WOLF, Yochai *et al.* Microglia, seen from the CX3CR1 angle. **Frontiers in Cellular Neuroscience**, [s. l.], v. 7, n. MAR, p. 1–9, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fncel.2013.00026>
- WOODWARD, Lianne J.; HÜPPI, Petra S. Neurodevelopmental Follow-Up. *In*: VOLPE'S NEUROLOGY OF THE NEWBORN. [S. l.]: Elsevier, 2018. p. 255–272. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-42876-7.00011-9>
- WORDSWORTH, William. **Wordsworth's Poems of 1807**. 1. ed. London: Macmillan Education UK, 1987. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/978-1-349-86088-3>
- WU, Yuwen *et al.* Microglia: Dynamic Mediators of Synapse Development and Plasticity. **Trends in Immunology**, [s. l.], v. 36, n. 10, p. 605–613, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.it.2015.08.008>
- XU, Desheng *et al.* Narp and NP1 Form Heterocomplexes that Function in Developmental and Activity-Dependent Synaptic Plasticity. **Neuron**, [s. l.], v. 39, n. 3, p. 513–528, 2003. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0896-6273\(03\)00463-X](https://doi.org/10.1016/S0896-6273(03)00463-X)
- YANG, Mu; SILVERMAN, Jill L.; CRAWLEY, Jacqueline N. Automated three-chambered social approach task for mice. **Current Protocols in Neuroscience**, [s. l.], n. SUPPL. 56, p. 1–16, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/0471142301.ns0826s56>
- YOO, Sang Bae *et al.* Adolescence fluoxetine increases serotonergic activity in the raphe-hippocampus axis and improves depression-like behaviors in female rats that experienced neonatal maternal separation. **Psychoneuroendocrinology**, [s. l.], v. 38, n. 6, p. 777–788, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2012.08.013>

YOUSIF, Fatima; FATEMI, Ali; JOHNSTON, Michael V. Cerebral plasticity : Windows of opportunity in the developing brain. **European Journal of Paediatric Neurology**, [s. l.], v. 21, n. 1, p. 23–48, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ejpn.2016.07.007>

ZHOU, Yanmei *et al.* REM sleep promotes experience-dependent dendritic spine elimination in the mouse cortex. **Nature Communications**, [s. l.], v. 11, n. 1, p. 4819, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41467-020-18592-5>

ZUCCOLO, Pedro Fonseca *et al.* Children and adolescents' emotional problems during the COVID-19 pandemic in Brazil. **European Child & Adolescent Psychiatry**, [s. l.], v. 32, n. 6, p. 1083–1095, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00787-022-02006-6>

## 9. ANEXOS

CERTIFICADO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA COM ANIMAIS



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

CEUA

COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

**CERTIFICADO**

Certificamos que o projeto intitulado "Estresse e o sistema dopaminérgico: efeitos da separação maternal e da estimulação de receptores D2 na morfofisiologia microglial, expressão de receptores e no comportamento de camundongos pré-púberes", protocolo do CEUA: 99/2022 sob a responsabilidade de Bruno Rezende de Souza que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem) para fins de pesquisa científica (ou ensino) - 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 da Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS, em reunião de 29/08/2022.

Vigência da Autorização	29/08/2022 a 27/08/2027
Finalidade	Pesquisa

<b>Dados dos animais agrupados (uso do biotério)</b>	
--	--

Considerações posteriores:

29/08/2022	Aprovado na reunião ordinária on-line do dia 29/08/2022. Validade: 29/08/2022 à 27/08/2027.
------------	---

Belo Horizonte, 06/10/2022.

Atenciosamente,

Sistema Solicite CEUA UFMG

[https://aplicativos.ufmg.br/solicite\\_ceua/](https://aplicativos.ufmg.br/solicite_ceua/)

Universidade Federal de Minas Gerais  
 Avenida Antônio Carlos, 6627 – Campus Pampulha  
 Unidade Administrativa II – 2º Andar, Sala 2005  
 31270-901 – Belo Horizonte, MG – Brasil  
 Telefone: (31) 3409-4516  
[www.ufmg.br/bioetica/ceua](http://www.ufmg.br/bioetica/ceua) - [cetea@prpq.ufmg.br](mailto:cetea@prpq.ufmg.br)