

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS - ICBIM  
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS - DEFIS  
GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA**

**LUIZ GUSTAVO NAVES AMORIM  
Orientador: Prof.Dr. Alexandre Antonio Vieira**

**IMPORTÂNCIA DA REGIÃO AV3V SOBRE COMPORTAMENTO TIPO  
ANSIOSO E TIPO DEPRESSIVO DE RATOS**

**Uberlândia**

**2019**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS - ICBIM  
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS - DEFIS  
GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA**

**LUIZ GUSTAVO NAVES AMORIM**

**Orientador: Prof.Dr. Alexandre Antonio Vieira**

**IMPORTÂNCIA DA REGIÃO AV3V SOBRE COMPORTAMENTO TIPO  
ANSIOSO E TIPO DEPRESSIVO DE RATOS**

Trabalho de Conclusão de Curso  
apresentado ao curso de Ciências  
Biológicas da Universidade Federal  
de Uberlândia como requisito a  
obtenção do título de Licenciatura.

**Uberlândia**

**2019**

**IMPORTÂNCIA DA REGIÃO AV3V SOBRE COMPORTAMENTO TIPO  
ANSIOSO E TIPO DEPRESSIVO DE RATOS**

Trabalho de Conclusão de Curso  
apresentado ao curso de Ciências  
Biológicas da Universidade Federal  
de Uberlândia como requisito a  
obtenção do título de Licenciatura.

Uberlândia, 05 de dezembro de 2019

---

Prof. Dr. Alexandre Antonio Vieira  
Docente do Departamento de Fisiologia  
Instituto de Ciências Biomédicas

---

Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Vanessa Spini  
Docente do Departamento de Fisiologia  
Instituto de Ciências Biomédicas

---

Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Erika Renata Barbosa Neiro  
Docente do Departamento de Fisiologia  
Instituto de Ciências Biomédicas

## **AGRADECIMENTOS**

Gostaria primeiramente de agradecer especialmente a minha namorada Mariana Sozza que me ajudou em todos os momentos de construção desse trabalho e mais importante, esteve sempre ao meu lado em todos os momentos bons e ruins.

Gostaria de agradecer também aos meus pais e a toda a minha família que sempre me deram suporte para que estudasse e a melhor educação que puderam.

Quero agradecer especialmente ao meu orientador Alexandre que sempre encabeçou essa pesquisa de forma exemplar, me auxiliou e me ensinou coisas que usarei para além dos fins acadêmicos.

Agradeço também as minhas queridas amigas Victória e Júlia que também tiveram importante participação na minha vida.

Agradeço a todos que cruzaram meu caminho no decorrer da minha vida e que irremediavelmente contribuíram para o meu desenvolvimento.

Agradeço as forças do universo que me guiam e protegem.

## **RESUMO**

O comportamento depressivo e o excesso de ansiedade são patologias consideradas problemas de saúde pública, porém mesmo diante de diferentes estudos, ainda pouco se sabe sobre os mecanismos centrais envolvidos com o aparecimento e manutenção deles. Estudos demonstram que o hormônio angiotensina II está envolvido na neurotransmissão de ambas patologias. No hipotálamo, a região antero-ventral do terceiro ventrículo (região AV3V) possui receptores angiotensinérgicos e participam no controle cardiovascular e do equilíbrio hidroeletrolítico. Esse estudo teve como objetivo testar os comportamentos tipo depressivo e ansioso em ratos com lesão da região AV3V. Foram utilizados ratos Wistar e todos os protocolos foram aprovados pelo Comitê de Ética na Utilização de Animais (CEUA:120/17). Os ratos foram fornecidos pela rede de biotérios da UFU e após o peso dos animais ter alcançado aproximadamente 300 gramas, foram feitas as estereotaxias sendo seguidas pela formação de 3 grupos: Grupo controle (sem cirurgia), grupo com lesão eletrolítica (2 mA/10 seg) da região AV3V e grupo com lesão fictícia. Após 5 dias da estereotaxia foram feitos os testes comportamentais do labirinto em cruz elevada (LCE) e campo aberto (CA) para o estudo do comportamento tipo ansioso bem como o teste do nado forçado (NF) para o estudo do comportamento tipo depressivo. Os resultados mostraram que ratos com lesão da região AV3V não apresentaram a imobilidade no teste do NF, caracterizando diminuição do comportamento tipo depressivo. Além disso, a lesão da região AV3V não modificou o comportamento do tipo ansioso em nenhum teste (LCE/CA). Os resultados sugerem que a integridade da região AV3V é importante para o aparecimento do comportamento tipo depressivo em ratos.

**Palavras-chave:** Comportamento tipo depressivo, ansiedade, AV3V, angiotensina II

## **ABSTRACT**

Depressive behavior and excessive anxiety are pathologies considered public health problem, however, even in the face of different studies, little is known about the main mechanisms involved with their occurrence and maintenance. Studies have shown that the hormone angiotensin II is involved in neurotransmission of both pathologies. In the hypothalamus, the periventricular anteroventral third ventricle (AV3V) region possesses angiotensinergic receptors and participates in the cardiovascular and hydroelectrolitic control. This study aimed to test the depressive- and anxiety-like behaviors in AV3V lesioned rats. Male Wistar rats were used and all protocols were approved by The Animal Care and Use Committee (CEUA:120/17). The rats were supplied by REBIR-UFU (animal facility) and after they reaching around 300 grams, a stereotaxy was performed followed by the formations of 3 groups: Control group (no surgery), Group with electrolytic AV3V lesion (2 mA/10 seg) and group with Sham lesion. Five days after the stereotaxic procedure, the Elevated Plus Maze (EPM) and the Open Field (OF) tests were performed for the study of anxiety-like behavior as well as de Forced Swimming (FS) for the study of depressive like-behavior. The results showed that AV3V lesioned rats did not presented the immobility in the FS test characterizing a decrease in the depressive like-behavior. In addition, lesion of the AV3V region did not modify the anxiety-like behavior in any test (EPM/OF). The results suggest that the integrity of the AV3V region is important for the onset of depressive-like behavior.

**Keywords:** Depressive-like behavior, anxiety, AV3V, angiotensin II

## **LISTA DE ABREVIATURAS**

SNC – Sistema Nervoso Central.

AV3V – Região Anteroventral do Terceiro Ventrículo

OVLТ – Órgão Vasculoso da Lâmina Terminal

ANG II – Angiotensina II

CEUA – Comitê de Ética na Utilização de Animais

LCE – Labirinto em Cruz Elevado.

CA – Teste de Campo Aberto

NF – Nado Forçado.

L. FICTÍCIA - Grupo Lesão Fictícia.

BHE – Barreira Hemato-Encefálica

RVL – Área Rostro Ventrolateral do Bulbo

HDM – Hipotálamo Dorso-Medial

MCP – Matéria Cinzenta Periaquedutal

AMG - Amígdala

## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	1
2 JUSTIFICATIVA .....	3
3 OBJETIVO .....	3
4 MATERIAIS E MÉTODOS.....	3
4.1 Animais.....	3
4.2 Preparo dos grupos .....	4
4.3 Testes comportamentais .....	4
4.3.1 Labirinto em Cruz Elevada (LCE).....	5
4.3.2 Campo Aberto (CA) .....	5
4.3.3 Nado Forçado (NF).....	5
4.3.4 Análises .....	6
4.3.5 Eutanásia .....	7
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	7
6 CONCLUSÃO.....	12
7 REFERÊNCIAS .....	13
8 ANEXO .....	18



## 1. INTRODUÇÃO

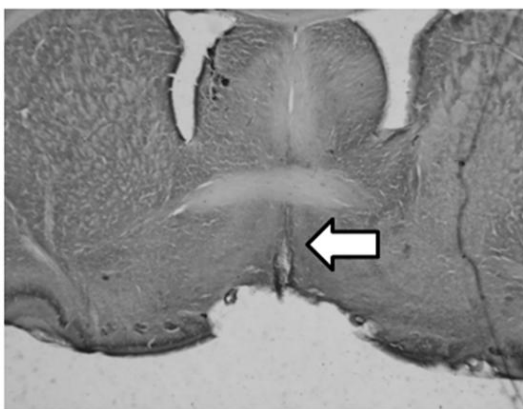
A depressão e a ansiedade generalizada são patologias psicossociais que afetam a vida de milhões de brasileiros sendo consideradas problemas de saúde pública (KEMP et al., 2012; PINHEIRO et al., 2018). Segundo a Organização Mundial da Saúde, no Brasil, aproximadamente 11 milhões de pessoas são acometidas pela depressão ao passo que 18.6 milhões convivem com o transtorno da ansiedade.

Estudos tentam entender os diferentes mecanismos e interações do sistema nervoso central (SNC) que estão envolvidos com a gênese e/ou manutenção destas duas doenças (FRANGO, S. 2006; PALAZIDOU, E.,2012). Dentre os diferentes mecanismos propostos, o mecanismo angiotensinérgico parece ter papel permissivo para os efeitos produzidos pela depressão e ansiedade (DUCHEMIN et al., 2013; SAAVEDRA et al., 2013).

Importante, estudos feitos em ratos não anestesiados mostraram que a integridade da região anteroventral do terceiro ventrículo (AV3V) localizada no prosencéfalo é importante para o aparecimento das respostas pressoras produzidas pela ativação angiotensinérgica central (VIEIRA et al., 2013; MENANI et al., 2014). *Desta maneira, a principal hipótese é a de as*

*vias angiotensinérgicas da região AV3V seriam importantes para o aparecimento da depressão e da ansiedade bem como dos efeitos cardiovasculares que estas patologias produzem no animal.*

Figura 1: Fotomicrografia da região AV3V (mostrada pela seta)



Fonte: produção do próprio orientador

A região AV3V é constituída pelo órgão vascularizado da lâmina terminal (OVLT), altamente vascularizado e livre de barreira hemato-encefálica

localizado na parede anterior do terceiro ventrículo, o tecido periventricular da região préóptica

e da porção anterior da área hipotalâmica anterior e pela parte ventral do núcleo preóptico mediano (Figura 1) . A definição explícita da região AV3V tem origem em estudos com lesão eletrolítica em ratos (BRODY. M, 1978) e é importante ressaltar que ela exclui a área preóptica medial, o núcleo hipotalâmico anterior e o núcleo paraventricular do hipotálamo. Entretanto, estudos pioneiros com injeções hiperosmóticas em diferentes áreas prosencefálicas já sugeriam a importância dessa região para o controle da sede (BRODY & JOHNSON, 1980). Além da participação no controle cardiovascular e do equilíbrio hidroeletrólítico (BUGGY & JOHNSON, 1977; VIEIRA et al., 2004), a região AV3V também está envolvida no controle da reprodução, comportamento maternal, termorregulação e modulação dos sistemas imunes e neuroendócrinos (JOHNSON & GROSS, 1993; SIMERLY, 1998; MENANI et al., 2014). Estimulação elétrica da região AV3V produz vasodilatação dos membros e vasoconstrição renal e mesentérica associadas a respostas depressoras e bradicardia. As respostas vasculares são dependentes de inervação simpática direta (FINK, 1978) e, em parte, também dependente das catecolaminas produzidas pela adrenal (KNUEPFER, 1984). A região AV3V tem componentes sensíveis a alterações na osmolaridade plasmática e concentração de hormônios circulantes, como o peptídeo angiotensina II (ANG II). Além de ser rica em receptores para a ANG II, a região AV3V também possui receptores para acetilcolina e glutamato (BEALER, 2002; MCKINLEY, 2003) e várias conexões intrínsecas e extrínsecas com diferentes circuitos no SNC.

Tendo em vista que áreas fisicamente próximas do terceiro ventrículo apresentam papel importante nos mecanismos associado a depressão, como glândula pineal, estria terminal, hipotálamo e amígdala, isto poderia indicar uma possível relação entre essas áreas e fibras de passagem pela região AV3V sendo plausível de se pensar sobre uma modulação de respostas de depressão e ansiedade por essa região. (HENDRIE & PICKLES, 2010). Em pacientes com depressão, algumas mudanças anatômicas no SNC foram observadas (por meio de ressonância

magnética) uma delas foi o aumento do terceiro ventrículo. Esse padrão é observado em diversos trabalhos e indica que a região AV3V (que está próxima ao terceiro ventrículo) poderia modular impulsos de outras áreas do SNC envolvidas com o comportamento, por exemplo sistema límbico. (SHELIN, 2000; HENDRIE & PICKLES, 2010; BAUMANN et al., 1997). Porém ainda não está claro se realmente a região AV3V participa do controle dos comportamentos do tipo depressivo e ansioso.

## **2 – JUSTIFICATIVA**

Desde a década de 70 diferentes pesquisadores do mundo inteiro estudam o papel da região AV3V no controle cardiovascular e equilíbrio de água e sódio no organismo do animal. Não é novidade que a região AV3V é importante para a manutenção da atividade simpática e quadros hipertensivos. Porém, muito pouco se sabe sobre o papel desta região no controle de respostas comportamentais, por exemplo depressão e ansiedade. Levando em conta que a depressão e a ansiedade podem facilitar o aparecimento de fatores de risco para doenças cardiovasculares, estudar o envolvimento desta região hipotalâmica em mecanismos comportamentais se torna importante.

## **3- OBJETIVOS**

O objetivo do presente estudo foi verificar se a lesão eletrolítica da região AV3V modificaria os comportamentos do tipo depressivo e ansioso em ratos.

## **4-MATERIAIS E MÉTODOS**

### **4.1 – Animais**

Foram utilizados ratos Wistar, fornecidos pela rede de biotérios da UFU, imediatamente após o período pós-desmame. Os ratos foram mantidos em caixas grandes (5 ratos por caixa) e tratados durante todo o tempo com ração comercial e água. Após 2 meses, o peso deles

alcançou uma média aproximada de 300 g. Sinais de desconforto e dor foram acompanhados ao longo dos experimentos. Estes sinais foram chamados como “sinais BAR” que considerava o brilho dos pêlos (B), a condição de alerta (A) bem como a capacidade do animal em reagir de forma anormal (R) a algum estímulo, por exemplo, o toque.

#### **4.2 – Preparo dos grupos – estereotaxia para lesão eletrolítica ou fictícia da região AV3V**

Após 2 meses, os ratos foram anestesiados com ketamina (80 mg/kg de peso corporal) + xilazina (8 mg/kg de peso corporal) e adaptados a um aparelho estereotático modelo Kopf 900. O lambda e o bregma (suturas localizadas no osso do crânio) foram utilizados como referência para nivelar as cabeças dos ratos. Utilizando-se o bregma foi determinado o ponto de introdução do eletrodo na cabeça dos ratos. Nesse ponto foi feita trepanação do osso do crânio com uma broca esférica, abrindo-se um orifício de aproximadamente 1,5 mm de diâmetro. Para a lesão eletrolítica da região AV3V, um eletrodo de tungstênio (0,4 mm de diâmetro) foi introduzido no cérebro do rato 0,0 mm do bregma, na linha média e numa profundidade de 7 mm abaixo da dura-máter. A lesão foi feita pela passagem de uma corrente elétrica de 2 mA durante 10 segundos. Ratos com lesão fictícia foram submetidos aos mesmos procedimentos cirúrgicos, com exceção da passagem da corrente elétrica. Ratos controle não passaram por nenhum procedimento cirúrgico. Ambos os grupos receberam 4 doses de Tramadol 5 mg/Kg (sc), uma após a cirurgia e as outras nos 3 primeiros dias de recuperação. Após a cirurgia, os ratos foram colocados em caixas pequenas (1 rato por caixa).

#### **4.3 - Testes comportamentais:**

Foram realizados testes comportamentais nos ratos após cinco dias da cirurgia de lesão da região AV3V. O número de animais utilizados está entre parênteses na figura 4.

#### **4.3.1- Labirinto em cruz elevada (LCE)**

Os testes do LCE foram usados para o estudo do comportamento tipo ansioso e alguns aspectos relacionados a desordens de pânico. *Importante, o teste é conhecido por ser baseado no comportamento do animal diante de um ambiente desconhecido, por exemplo a preferência natural de esquiva às regiões abertas e potencialmente perigosas.* A atividade exploratória foi avaliada por 5 minutos em um aparato elevado 50 cm do solo e formado por dois braços abertos (34 x 6,5 cm), que formavam uma cruz com dois braços fechados (34 x 6,5 x 15 cm). Foram analisados o número de entradas nos braços fechados e abertos bem como a porcentagem de tempo gasto no braço aberto do aparato.

#### **4.3.2- Campo aberto (CA)**

O teste do CA foi realizado em uma arena circular cercada por paredes que impedia que o animal fugisse. O assoalho da arena estava marcado com pequenos quadrados, permitindo a quantificação da atividade locomotora do animal. *Importante, esse teste sugere que a atividade motora do animal pela arena é o principal indicativo de seu estado emocional.* Foram analisados os quadrantes percorridos no centro e na periferia da arena bem como a porcentagem de locomoção central.

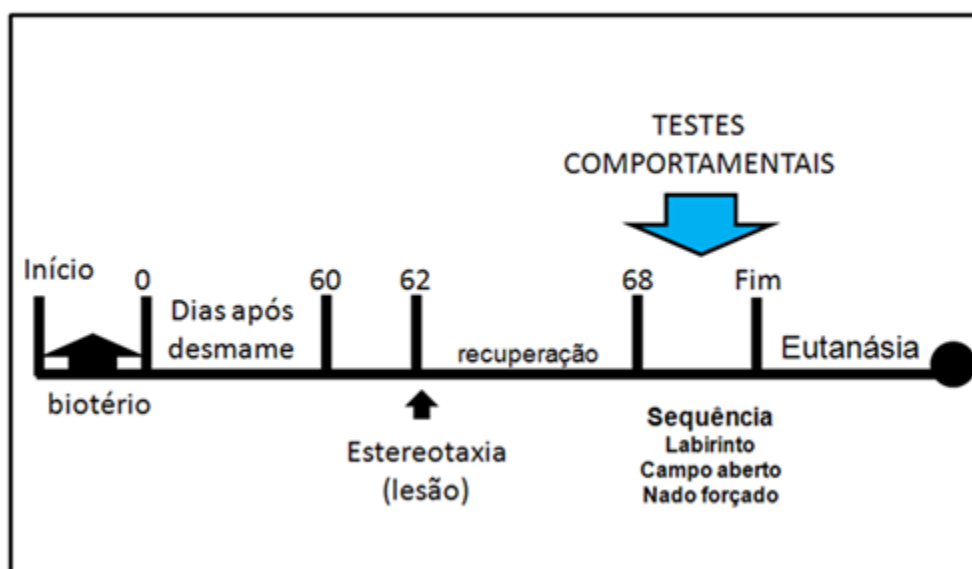
#### **4.3.3- Nado forçado (NF)**

O teste do NF foi usado para demonstrar comportamento tipo depressivo nos ratos (MARTIJENA et al., 1996; CRYAN et al, 2005). O teste abrangeu duas fases, um pré-teste e um teste. Ambos foram realizados em um recipiente cilíndrico de 33 cm de diâmetro com coluna de água de 40 cm. A temperatura da água ficou entre 25 e 27 °C e limpa antes de cada animal. Cada animal foi colocado no recipiente com água por 15 minutos. Após 24 horas, os animais foram novamente colocados na água e filmados por um tempo de 5 minutos. Nesse

teste foram observados os comportamentos de imobilidade e nado forçado e quantificado o comportamento de imobilidade, que é quando o animal boiava sem movimentos, além apenas dos necessários para conseguir manter a cabeça fora da água (PORSOLT et al., 1978).

Abaixo, segue a figura 2 com o protocolo experimental em linha, que foi aprovado pelo Comitê de Ética na Utilização de Animais da Universidade Federal de Uberlândia, CEUA/UFU, protocolo aprovado 120/17.

Figura 2 : Protocolo em linha elaborado



:

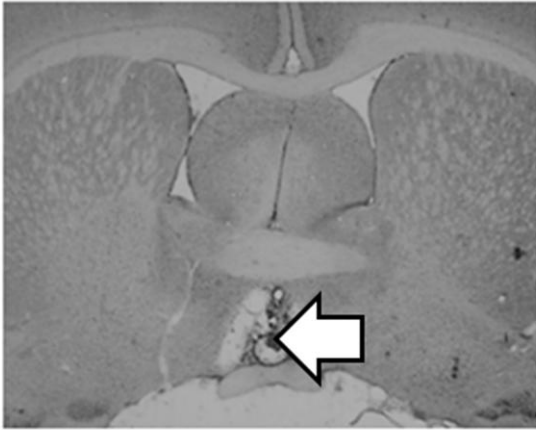
#### 4.3.4- Análises

Todos os resultados foram tabelados no programa Excel e as análises estatísticas (UMA OU DUAS VIAS) feitas usando o programa Sigma-Stat 3.5. Importante, os gráficos foram feitos utilizando o programa Sigma-Plot 10 e as barras verticais dos gráficos foram planejadas da seguinte maneira: Barras verdes, grupo controle; barras azuis, grupo com lesão fictícia; barras vermelhas, grupo com lesão eletrolítica da região AV3V.

#### 4.3.5- Eutanásia

No final dos experimentos, os animais foram anestesiados com uma overdose de tiopental

Figura 3: Lesão da região AV3V (seta)



Fonte: produção do próprio orientador

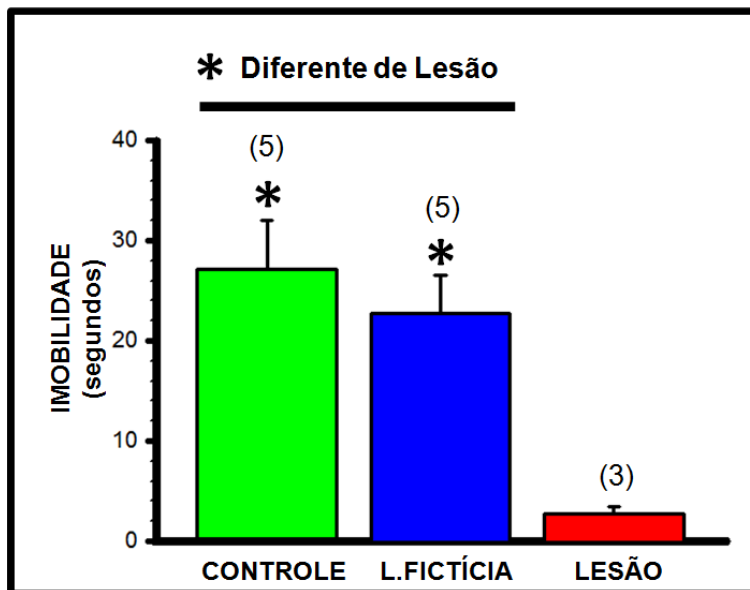
(150 mg/Kg, ip). Imediatamente após a parada cárdio-respiratória, uma injeção de salina (50 ml) seguida de 50 ml de formalina 10 % foi feita lentamente no coração dos ratos utilizando o ápice do ventrículo esquerdo como ponto de introdução da agulha (30 X 7). A seguir, os cérebros foram retirados e fixados em formalina 10 % para posterior análise histológica, que incluiu cortes

transversais de 50 µm de espessura seguida por verificação do ponto da lesão (figura 3)

### 5-RESULTADOS E DISCUSSÃO

A figura 4 representa os resultados obtidos no teste do nado forçado (NF), que estuda

Figura 4: Imobilidade observada durante o teste do nado forçado; \* p < 0,05



o comportamento tipo depressivo no rato, o número dos ratos considerados positivos para o presente estudo estão entre parênteses. Brevemente, O animal quando colocado em situação de estresse/perigo, por exemplo dentro de um cilindro com água, rapidamente aciona mecanismos ou estratégias para lidar com esta situação. Normalmente, espera-se primeiramente uma estratégia ativa de nado

sendo seguida por uma estratégia passiva de boiar (COMMONS et al., 2017), que por sua vez é considerada por muitos como uma manifestação de comportamento tipo depressivo (LUCKI, I., 1977; PORSOLT et al., 1978; CASTAGNE et al., 2011). Podemos observar que a chamada estratégia passiva foi praticamente abolida em ratos com lesão da região AV3V ( $3 \pm 0.6$  segundos vs controle:  $27 \pm 5$  segundos e L.Fictícia:  $23 \pm 4$  segundos) sugerindo esta área como facilitadora do aparecimento da depressão em ratos. Em outras palavras, quando colocados no cilindro com água, os ratos com lesão da região AV3V continuaram a nadar e praticamente não boiaram.

A região AV3V tem destacada importância no controle cardiovascular e no equilíbrio hidroeletrólítico (BRODY et al., 1978; VIEIRA et al., 2004) isto porque dentre outras razões, ela é um importante centro facilitador de respostas dependentes da ativação angiotensinérgica e colinérgica central (VIEIRA et al., 2010; VIEIRA et al., 2013). A região AV3V é constituída pelo órgão vasculoso da lâmina terminal (OVLT), que é altamente vascularizado e livre de barreira hemato-encefálica (BHE) e está localizado na parede anterior do terceiro ventrículo. Por estar livre de BHE, o OVLT tem a capacidade de detectar alterações de substâncias químicas presentes no sangue, como por exemplo, angiotensina II [(ANG II) MCKINLEY et al., 2003].

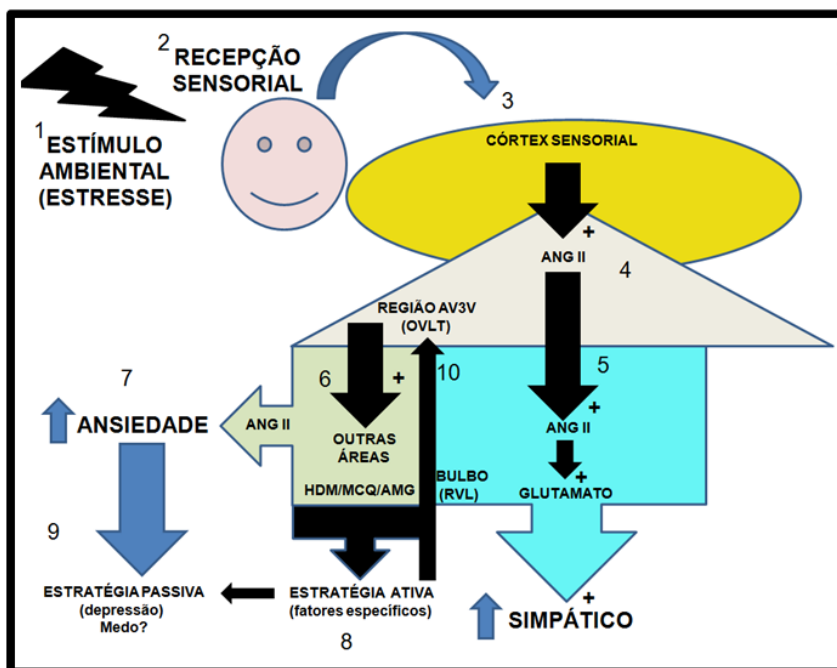
A formação da ANG II no sangue inicia-se com a liberação da enzima renina, por células da arteríola aferente renal. A renina converte o angiotensinogênio liberado pelo fígado em angiotensina I que posteriormente sofre a ação da enzima conversora de angiotensina formando ANG II. Interessante, além da formação da ANG II periférica, existe também a formação de ANG II no SNC (DE MORAES et al., 2018). Agindo no SNC, a ANG II tem sido relacionada com transtornos de ansiedade, depressão e humor (NASR et al., 2011; LIU et al., 2012) além de contribuir para diferentes respostas fisiológicas frente ao estresse (SAAVEDRA et al.,



2013), que por sua vez, pode incluir aumento da atividade simpática e do eixo hipotálamo-hipófise adrenal (YAMAGUCHI, N., 1992; ANTUNES-RODRIGUES et al., 2005).

A sugestão principal que temos para as respostas frente ao estresse associadas aos resultados do presente estudo está representada na figura 5, sendo esta merecedora de mais estudos pois o número de animais no presente ainda é pequeno. Para facilitar o entendimento, segue na sequência numérica: Em situações normais ou seja, nos ratos controle ou com lesão fictícia, estímulos internos ou externos como por exemplo dor ou mudanças ambientais,

Figura 5: Sugestão principal levantada após a finalização dos experimentos.



respectivamente (1)

poderiam ativar

mecanismos sensoriais

internos ou externos (2).

No caso do presente

estudo, os estímulos

foram as mudanças

ambientais ou seja o

contato do animal com os

aparatos usados para os

testes. Após a ativação

destes mecanismos, o

córtex seria ativado (3) que por sua vez, acionaria mecanismos angiotensinérgicos

hipotalâmicos, no caso aqueles que estão presentes no OVL, que por sua vez, faz parte da

região AV3V [(4) VIEIRA et al., 2010]. Os mecanismos dependentes de ANG II (periférica

e/ou central) poderiam aumentar a atividade simpática via atividade glutamatérgica na área

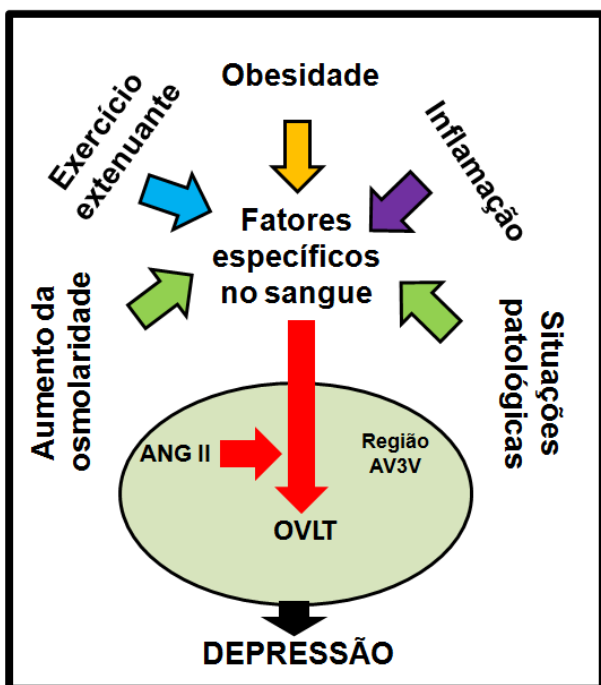
rostro ventro-lateral do bulbo, RVL [(5) VIEIRA et al., 2013] aumentando a frequência

cardíaca, a força de contração do músculo cardíaco e a pressão arterial (preparando o animal

para a situação de perigo). Ademais, mecanismos angiotensinérgicos presentes no OVLT poderiam acionar outras áreas (6) que estão envolvidas no controle de respostas comportamentais, como por exemplo, o Hipotálamo-dorsomedial (HDM), a Matéria Cinzenta Periaquedutal (MCP) e a Amígdala (AMG). Diferentes efeitos comportamentais como pânico, ansiedade (7) poderiam inicialmente serem ativados em conjunto com uma estratégia ativa de fuga (8), que a longo prazo poderia resultar em uma estratégia passiva e depressão (9).

Pelos resultados obtidos sugerimos que a integridade dos receptores angiotensinérgicos da região AV3V parece não ser importante para a estratégia ativa de fuga pois o animal com lesão se movimentou por todo o tempo dentro do cilindro. Porém, o aparecimento da estratégia passiva foi prejudicado. Como a estratégia ativa parece ser importante (figura 5) para o aparecimento da estratégia passiva (COMMONS et al., 2017), isto nos leva a sugerir que a

Figura 6: Fatores específicos no sangue facilitando o aparecimento da depressão.



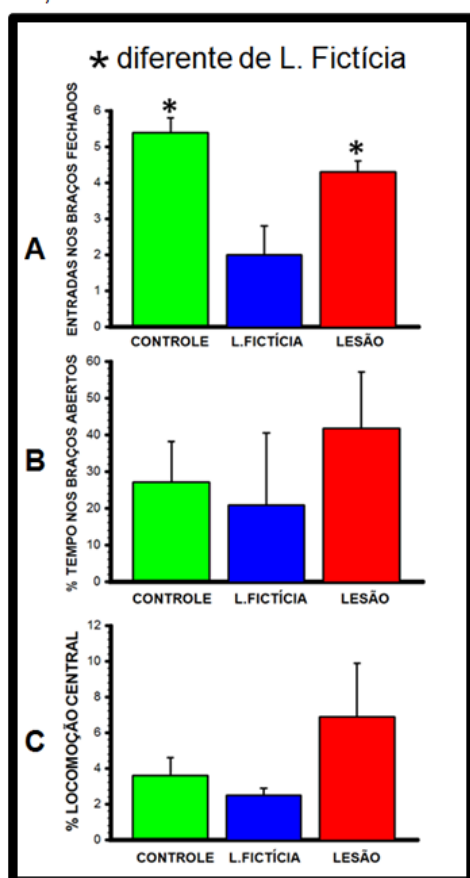
depressão observada (em situação controle ou de lesão fictícia) pode ter sido originada por fatores liberados durante a estratégia ativa, no caso seriam metabólitos oriundos da própria atividade locomotora agindo no OVLT [(figura 5) 10] por exemplo o lactato (SHEKHAR & KEIM, 1997).

Diferentes trabalhos têm sugerido o OVLT como um importante órgão circunventricular do SNC, que como característica, possui acesso a diferentes substâncias que estão no sangue

(MCKINLEY et al., 2003; GRAEBNER et al., 2015). Pelo presente resultado podemos sugerir

que se por algum motivo, seja ele experimental, que é o caso da lesão, patológico ou farmacológico o OVLT estiver com a ação diminuída, os sinais angiotensinérgicos poderão ficar prejudicados e consequentemente toda a sinalização desta região para outras áreas do SNC poderão ser atenuadas e em última análise o comportamento tipo depressivo diminuirá. Estes resultados colaboram com outros estudos (NASR et al., 2011; LIU et al., 2012) mostrando que os mecanismos angiotensinérgicos centrais são os principais responsáveis por quadros de depressão. Levando em conta que o OVLT possui receptores não somente para ANG II mais também para outros fatores que também podem estar aumentados durante diferentes situações de estresse incluindo os patológicos, o nosso estudo posiciona esta região e

Figura 7: Resultados do Labirinto em Cruz Elevada (A e B) e Campo Aberto (C), \* p = 0,007.



seus mecanismos como peça-chave para outros experimentos direcionados ao estudo da depressão (figura 6).

Os resultados acima mencionados, de certa maneira são fortalecidos, por aqueles que observamos nos testes do Labirinto em Cruz Elevada (LCE) e Campo Aberto (CA). A figura 7 representa dois testes avaliados do LCE, o número de entradas nos braços fechados (A) e a porcentagem de tempo gasto nos braços abertos (B) bem como a avaliação da porcentagem de locomoção central, do CA..

Podemos observar que o comportamento de locomoção dos ratos com lesão eletrolítica da região AV3V (avaliado pela entrada nos braços fechados)

não foi diferente quando comparado com o grupo controle (figura 7A). Interessante, a presença

do comportamento de locomoção nos ratos lesados está de acordo com a sugestão da manutenção da estratégia ativa, no caso o comportamento de natação que os ratos lesados exibiram. Ademais, houve uma tendência dos ratos com lesão da região AV3V de permanecerem nos braços abertos por mais tempo (figura 7B). Neste caso, o número pequeno de animais lesados provavelmente foi um fator limitante para o não aparecimento da diferença, que em conjunto com os resultados obtidos no CA [(porcentagem de locomoção central), figura 7C] poderia indicar uma diminuição no comportamento tipo ansioso após a lesão da região AV3V.

Uma questão que ficou ainda para ser explorada foi a respeito da diminuição das entradas nos braços fechados observadas nos ratos com lesão fictícia (figura 7A).

A lesão fictícia é realizada executando o mesmo procedimento dos ratos com lesão eletrolítica, com excessão da passagem da corrente (ver item 4.2 dos materiais e métodos). Importante, apesar de todos os procedimentos terem sido tomados para que os animais não viessem a sentir dor, essa em última análise, poderia atenuar a locomoção dos ratos pelo fato de ter potencial para provocar até mesmo depressão. Por outro lado, como a cirurgia foi feita da mesma maneira e o animal com lesão da região AV3V não apresentou imobilidade, poderíamos sugerir que os mecanismos existentes na região AV3V poderiam facilitar o aparecimento de mecanismos de nocicepção. Estes resultados poderiam, em última análise, colaborar com aqueles observados no teste da imobilidade, onde o animal com lesão da região AV3V manteve a estratégia ativa de nadar por mais tempo.

## **6 – CONCLUSÃO**

Os resultados sugerem que a integridade da região AV3V é importante para o aparecimento do comportamento tipo depressivo em ratos.

## 7 – REFERÊNCIAS

- ANTUNES-RODRIGUES, J.; MOREIRA, A.C.; ELIAS, L.L.K.; DE CASTRO, M. Neuroendocrinologia básica e aplicada. Controle neuroendócrino do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal, capítulo 13, pp. 171-191, 2005.
- BAUMANN, B.; BORNSCHLEGL, C.; KRELL, D.; BOGERTS, B. Changes in CFS spaces differ in endogenous and neurotic depression. A planimetric CT scan study. *J. Affect Disord*, 45(3):179-88, 1997.
- BEALER, S. Systemic angiotensin II alters intrinsic heart rate through central mechanisms. *Brain res Bull*, pp. 58:61-55, 2002.
- BRODY M.J.; FINK, G.D.; BUGGY, T.; HAYWOOD, J.R.; GORDON, F.J.; JOHNSON, A.K. The role of the anteroventral third ventricle (AV3V) region in experimental hypertension. *Circ Res*, 43:1-13, 1978.
- BRODY, M. J. & JOHNSON, A. Role of the anteroventral third ventricle region in fluid and electrolyte balance, arterial pressure regulation and hypertension. *Frontiers in Neuroendocrinology*, pp. 249-92, 1980.
- BUGGY, J. & JOHNSON, A.K. Preoptic-hypothalamic periventricular lesions: thirst deficits and hypernatremia. *Am J Physiol*, 233: 44-52, 1977.
- CASTAGNE, V.; MOSER, P.; ROUX, S.; PORSOLT, R.D. Rodent models of depression: forced swim and tail suspension behavioral despair tests in rats and mice. *Curr Protoc Neurosci*. 55:8.10A, 2011.

- COMMONS, K.G.; CHOLANIANS, A.B.; BABB, J.A.; EHLINGER, D.G. The rodent forced swim test measures stress-coping strategy, not depression-like behavior. *ACH Chem. Neurosc.* 8(5):955-960, 2017.
- CRYAN, J.; VALENTINO, R.J.; LUCKI, I. Assessing substrates underlying the behavioral effects of antidepressants using the modified rat forced swimming test. *Neurosci biobehav*, 29(4-5):547-69, 2005.
- DE MORAES, S.D.B.; SHANKS, J.; ZUCKER, I.H. Integrative physiological aspects of brain RAS in hypertension. *Curr Hypertens Rep.*, 20(2):10. doi: 10.1007/s11906-018-0810-1.
- DUCHEMIN, S.; BELANGER, E.; WU, R.; FERLAND, G.; GIROUD, H. Chronic perfusion of angiotensin II causes cognitive dysfunctions and anxiety in mice. *Physiology & Behavior*, 109:63-68, 2013.
- FINK, G.D.; BUGGY, J.; HAYWOOD, J.R.; JOHNSON, A.K.; BRODY, M.J. Hemodynamic responses to electrical stimulation of areas of rat forebrain containing angiotensin on osmosensitive sites. *Am.J.Physiol.*, 235:H445-H451, 1978.
- FRANGOU, S. Functional neuroimaging in mood disorders. *Psychiatry*, 5(5):176-179, 2006.
- GRAEBNER, A.K.; LYER, M.; CARTER, M.E. Understanding how discrete populations of hypothalamic neurons orchestrate complicated behavioral states. *Front Syst Neurosc.*, 9:111, 2015.
- HENDRIE, C.A. & PICKLES. A.R.. Depression as an evolutionary adaptation: Anatomical organisation around the third ventricle. *Medical Hypotheses*, 74(4):735-740, 2010.
- JOHNSON, A.K. & GROSS, P.M. Sensory circumventricular organs and brain homeostatic pathways. *The FASEB Journal*, pp. 678-686, 1993.

- KEMP, A.H.; QUINTANA, D.S.; FERMININGHAM, K.L.; MATHEWS, S.; JELINE, H.F.  
Depression, Depression, Comorbid Anxiety Disorders, and Heart Rate Variability in  
Physically Healthy, Unmedicated Patients: Implications for Cardiovascular Risk.  
PLoS ONE, 7(2): 1-8, 2012.
- KNUEPFER, M.M.; JOHNSON, A.K.; BRODY, M.J. Vasomotor projections from the  
anteroventral third ventricle (AV3V) region. *Am J Physiol*, 247:H139-45, 1984.
- LIU, F.; HAVENS, J.; YU, Q.; WANG, G.; DAVISSON, R.L.; PICKEL, V.M.;  
LADECOLA, C. The link between angiotensin II-mediated anxiety and mood  
disorders with NADPH oxidase-induced stress. *Int. J. Physiol. Pathophysiol.*  
*Pharmacol.*, 4(1):28-35, 2012.
- LUCKI, I. The forced swimming test as a model for core and component behavioral effects  
of antidepressant drugs. *Behav Pharmacol.* 8(6-7):523-32, 1977.
- MARTIJENA, I.D.; TAPIA, M.; MOLINA, V.A. Altered behavioral and neurochemical  
response to stress in benzodiazepine-withdrawn rats. *Brain Res*, 712(2): 239-44,  
1996.
- MCKINLEY, M.J.; MCALLEN, R.M.; DAVERN, R.M.; GILES, M.E.; PENSCHOW, J.;  
SUNN, N.; USCHAKOV, A.; OLDFIELD, B.J.. The sensory circumventricular  
organs of the mammalian brain. *advances in anatomy, embryology, and cell biology*,  
172:III-XII, 1-222, 2003.
- MENANI, J.V.; VIEIRA, A.A.; COLOMBARI, D.S.A.; DE PAULA, P.M.; COLOMBARI,  
E.; DE LUCA L.A JR. Preoptic-Periventricular Integrative Mechanisms Involved in  
Behavior, Fluid-Electrolyte Balance, and Pressor Responses. *Neurobiology of Body*

- Fluid Homeostasis: Transduction and Integration. *Frontiers in Neuroscience*. Boca Raton (FL): CRC Press/Taylor & Francis, cap. 4, 2014.
- NASR, S.J.; CRAYTON, J.W.; AGARWAL, B.; WENDT, B.; KORA, R. Lower frequency of antidepressant use in patients on renin-angiotensin-aldosterone system modifying medications. *Cell Mol. Neurobiol.* 31(4):615-618, 2011.
- PALAZIDOU, E. The neurobiology of depression. *British Medical Bulletin*, 101:127-145, 2012.
- PINHEIRO, G.V.; MARTINIANO, E.C.; ALCÂNTARA, G.C.; DA SILVA, J.R.A.; DA SILVA, M.S.; MONTEIRO, L.R.L.; MANGUEIRA, L.B.; MORAES, Y. M.; VALENTI, V.E.; SANTANA, M.D.R. Relação entre ansiedade e modulação autonômica cardíaca. *ABCS Health Science*, 43(3):181-185, 2018.
- PORSOLT, R.D.; ANTON, G.; BLAVET, N; JALFRE, M. Behavioural despair in rats: a new model sensitive to antidepressant treatments. *Eur J Pharmacol*, 47(4): 379-391, 1978.
- SAAVEDRA, J.M. Angiotensin II AT1 receptor blockers as treatment for inflammatory brain disorders. *Clin. Sci.* 123(10):567-590, 2013.
- SHELIN, Y.I. 3D MRI Studies of Neuroanatomic Changes in Unipolar Major Depression: The Role of Stress and Medical Comorbidity. *Society of Biological Psychiatry*, 48(8): 791-800, 2000.
- SHEKHAR, A. & KEIM, S.R. The circumventricular organs form a potential neural pathway for lactate sensitivity: Implications for a panic disorder. *The Journal of Neuroscience*, 17(24):9726-9735, 1997.



- SIMERLY, R.B. Organization and regulation of sexually dimorphic neuroendocrine pathways. *Behav Brain Res*, 92(2): 195-203, 1998.
- VIEIRA, A.A.; COLOMBARI, E.; DE LUCA JR, L.A.; DE ALMEIDA COLOMBARI, D.S.; MENANI, J.V. Cardiovascular responses to microinjection of L-glutamate into the NTS in AV3V-lesioned rats. *Brain Res*, 1025(1-2): 106-12, 2004.
- VIEIRA, A.A.; COLOMBARI, E.; DE LUCA JR, L.A.; COLOMBARI, D.S.A.; DE PAULA, P.M.; MENANI, J.V. Importance of angiotensinergic mechanisms for the pressor response to L-glutamate into the rostral ventrolateral medulla. *Brain Res*. 1322:72-80, 2010.
- VIEIRA, A.A.; COLOMBARI, E.; DE LUCA JR, L.A.; COLOMBARI, D.S.A.; DE PAULA, P.M.; MENANI, J.V. Cardiovascular responses to injections of angiotensin II or carbachol into the rostral ventrolateral medulla in rats with AV3V lesions. *Neuroscience Letters*, 556:32-36, 2013.
- YAMAGUCHI, N. Sympathoadrenal system in neuroendocrine control of glucose: mechanisms involved in the liver, pancreas, and adrenal gland under hemorrhagic and hypoglycemic stress. *Can J Physiol Pharmacol*. 70(2):167-206, 1992.

## ANEXO



Universidade Federal de Uberlândia  
Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação  
- Comissão de Ética na Utilização de Animais (CEUA) -  
Rua Ceará, S/N - Bloco 2D, sala 02 – CEP 38405-315  
Campus Umuarama – Uberlândia/MG – Ramal (VoIP) 3423  
e-mail: ceua@propp.ufu.br; www.comissoes.propp.ufu.br



### ANÁLISE FINAL Nº 129/18 DA COMISSÃO DE ÉTICA NA UTILIZAÇÃO DE ANIMAIS PARA O PROTOCOLO REGISTRO CEUA/UFU 120/17

**Projeto Pesquisa:** “Efeitos da lesão da região av3v sobre comportamento tipo ansioso e tipo depressivo de ratos”.

**Pesquisador Responsável:** Alexandre Antônio Vieira

O protocolo não apresenta problemas de ética nas condutas de pesquisa com animais nos limites da redação e da metodologia apresentadas. Ao final da pesquisa deverá encaminhar para a CEUA um relatório final.

Situação: PROTOCOLO DE PESQUISA APROVADO.

OBS: A CEUA/UFU LEMBRA QUE QUALQUER MUDANÇA NO PROTOCOLO DEVE SER INFORMADA IMEDIATAMENTE AO CEUA PARA FINS DE ANÁLISE E APROVAÇÃO DA MESMA.

Uberlândia, 22 de agosto de 2018