

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
DEPARTAMENTO DE APOIO A PESQUISA  
PROGRAMA INSTITUCIONAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA

EFEITO DO TAMANHO DO GRUPO SOBRE PARÂMETROS  
INDICADORES DE ESTRESSE EM RATOS WISTAR, *Rattus norvegicus*

EDIKA SABRINA GIRÃO MITOZO TAVARES

MANAUS

2014

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
DEPARTAMENTO DE APOIO A PESQUISA  
PROGRAMA INSTITUCIONAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA

RELATÓRIO FINAL  
PIB-B/0057/2013

EFEITO DO TAMANHO DO GRUPO SOBRE PARÂMETROS  
INDICADORES DE ESTRESSE EM RATOS WISTAR, *Rattus norvegicus*

Aluna: Edika Sabrina Girão Mitozo Tavares  
Orientadora: Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Thais Billalba Carvalho

MANAUS  
2014

**SUMÁRIO**

1 RESUMO.....	3
1 INTRODUÇÃO.....	4
2 JUSTIFICATIVA .....	6
3 OBJETIVOS.....	7
3.1 GERAL.....	7
3.2 ESPECÍFICOS .....	7
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	7
4.1 MANUTENÇÃO DOS ANIMAIS .....	7
4.2 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL.....	8
4.3 CRESCIMENTO.....	9
4.4 PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS .....	9
4.5 PARÂMETROS BIOQUÍMICOS .....	10
4.6 ÍNDICE HEPATOSSOMÁTICO .....	10
4.7 ÍNDICE GONADOSSOMÁTICO .....	10
4.8 COMPORTAMENTO EXPLORATÓRIO.....	11
4.9 ANÁLISE DOS DADOS .....	12
4.10 NOTA ÉTICA .....	12
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	12
6 REFERÊNCIAS .....	18

## RESUMO

O adensamento dos indivíduos ou o isolamento social são fatores que podem desencadear uma condição estressora durante a manutenção de roedores em cativeiro. Assim, o objetivo deste projeto foi avaliar o efeito do isolamento social e do tamanho do grupo em respostas fisiológicas e comportamentais indicadoras de estresse em ratos Wistar, *Rattus norvegicus*. Para isso, os indivíduos foram submetidos, por 15 dias, a cinco tratamentos experimentais: 1- **Grupo maior**- grupo formado por seis animais (n=5); 2- **Grupo menor**- grupo formado por três animais (n=6); 3- **Isolado com contato visual**- animal mantido em isolamento físico e com contato visual com coespecífico (n=4); 4- **Isolado sem contato visual**- animal mantido em isolamento físico e visual (n=5); 5- **Isolado com espelho** – animal mantido em isolamento físico e visual na presença de um espelho (n=4). No início e final do experimento foram realizadas medidas biométricas de cada animal do grupo para avaliar a taxa de crescimento em cada tratamento experimental. Não houve diferença nas taxas de ingestão alimentar (ANOVA de uma via,  $F= 0,851$ ;  $p= 0,522$ ) e hídrica (ANOVA de uma via,  $F= 1,44$ ;  $p= 0,280$ ) entre os tratamentos experimentais. A taxa de crescimento específico- TCE (ANOVA de uma via,  $F=0,41$ ;  $p=0,79$ ), parâmetros hematológicos (ANOVA de uma via,  $F< 1,46$ ,  $p> 0,25$ ), bioquímicos (ANOVA de uma via,  $F< 3,64$ ;  $p> 0,07$ ) e o comportamento exploratório (ANOVA de uma via,  $F< 1,40$  e  $p> 0,27$ ) também foram semelhantes entre os grupos. Os resultados evidenciam que o contato com coespecíficos e o isolamento social não induzem respostas estressoras em roedores (*Rattus norvegicus*), durante o período de 15 dias. Assim, a ausência de diferenças significativas entre os tratamentos sugere os machos da linhagem Wistar podem ser mantidos em isolamento ou adensamento social, desde que limites mínimos de espaço, alimentação, ingestão hídrica e condições ambientais abióticas sejam oferecidos conforme recomendado para a manutenção em cativeiro.

## 1 INTRODUÇÃO

Fatores que geram alterações na condição homeostática dos animais são considerados agentes estressores, pois afetam o equilíbrio biológico e interferem no bem estar, comprometendo a sobrevivência desses organismos (Masood et al., 2003; Masood et al., 2004; Contarteze et al., 2007). Convencionalmente, as respostas ao estresse são classificadas em primárias, secundárias e terciárias, de acordo com a natureza, a duração e o tipo do agente estressor.

As respostas primárias representam à percepção de uma alteração e o início das respostas neuro-endócrinas, incluindo a rápida liberação de catecolaminas e glicocorticóides para a circulação sistêmica (Contarteze et al., 2007; Shoji e Mizoguchi, 2010; Hall, 2011). As respostas secundárias incluem alterações em indicadores metabólicos e cárdio-respiratórios, tais como, glicemia, ácido láctico, glicogênio hepático e muscular, índice hepatossomático, parâmetros hematológicos e pressão arterial (Faria et al., 2006; Nandi et al., 2006). As respostas terciárias são caracterizadas pelas alterações comportamentais, diminuição do crescimento, da capacidade reprodutiva e aumento da suscetibilidade às doenças (Selye, 1998; Box, 2006). Assim, os animais apresentam respostas generalizadas frente a estímulos estressores, caracterizadas por aumento dos hormônios de estresse e mudanças fisiológicas.

A escassez de recurso, as mudanças bruscas de temperatura, o aumento da atividade física, as injúrias (choques, ferimentos e infecções) e o espaço físico limitado são algumas das situações que podem desencadear mudanças fisiológicas e psicológicas nos animais (Faria et al., 2006; Contarteze et al., 2007; Shoji e Mizoguchi, 2010). Essas condições são potencialmente agravadas em animais utilizados em experimentação, pois os indivíduos são submetidos à manutenção, ao manejo e a procedimentos laboratoriais estressantes que interferem no estado de saúde, desempenho reprodutivo e capacidade de aprendizagem (Frisone et al., 2002; Balcome, 2006; Box, 2006).

O adensamento dos indivíduos, por exemplo, é um dos fatores que deve ser considerado durante a manutenção de animais em cativeiro (Hurst et al., 1999; Arakawa, 2005). Espécies gregárias devem ser alojadas em grupos, pois o isolamento impede a exibição de comportamentos sociais típicos (Baumans, 2005). Os ratos (*Rattus norvegicus*) e os camundongos (*Mus musculus*) estabelecem hierarquia de dominância entre os coespecíficos e, portanto, a superpopulação ou o isolamento social podem desencadear situações estressoras. Além disso, o estresse social pode ter profundas consequências no cérebro (Blanchard, Mckittrick e Blanchard, 2001). Ratos mantidos isolados apresentam alterações no desenvolvimento cerebral, na liberação de neurotransmissores e no perfil comportamental (Lapiz et al., 2003; Weiss et al., 2004; Schubert et al., 2009; Yorgason et al., 2013).

De acordo com Hole (1991), a privação de contato social entre o período de pós desmame e o término da fase juvenil inibe o desenvolvimento do comportamento reprodutivo no adulto. O isolamento social também aumenta a atividade locomotora e a resposta a ambientes ou objetivos novos (neofobia), afetando diretamente o sistema nervoso autônomo (Rebouças e Schmidek, 1997; Weiss et al., 2000). Além disso, grupos muito numerosos estão sujeitos ao aumento da agressividade - devido à disputa por território -, a redução da comunicação entre os animais e a maior incidência de doenças (Valzelli e Garattini, 1972; Arakawa, 2005; Burman et al., 2008).

A socialização em roedores é importante, evitando mantê-los isolados ou em grupos com um grande número de indivíduos. Essa condição permitirá a manutenção de padrões comportamentais e de indicadores fisiológicos adequados. Dessa forma, deve ser analisada a densidade populacional máxima por gaiola, propiciando espaço físico suficiente que permita respostas dos indivíduos frente a estímulos sociais ou ambientais. Alternativamente, pode-se fornecer aos animais o enriquecimento sem contato social, caracterizado pela comunicação visual, auditiva e/ou olfatória entre coespecíficos (Neves et al., 2013). Neste contexto, os

animais são alojados isoladamente, no entanto, as vias sensoriais permitem interação social sem contato físico, o que pode atenuar o estresse associado ao isolamento e ao adensamento. Assim, o objetivo deste projeto foi avaliar o efeito do isolamento social e do tamanho do grupo em respostas fisiológicas e comportamentais indicadoras de estresse em ratos Wistar, *Rattus norvegicus*.

## **2 JUSTIFICATIVA**

Considerando que a condição de estresse está associada à mudança no equilíbrio biológico do organismo, faz-se necessário perceber as respostas mediante as alterações de diversos fatores endógenos e exógenos que podem interferir no estado de saúde e no bem estar do animal. Essa condição é particularmente relevante em animais de experimentação que estão sujeito a uma variedade de procedimentos laboratoriais estressantes.

Os roedores são comumente utilizados em experimentos de estudos científicos em diversas áreas, pois são facilmente manipuláveis e apresentam respostas fisiológicas semelhantes às esperadas em humanos. Portanto, o uso desses animais deve ser de forma ética e de cunho científico. Assim, é necessário proporcionar a animais mantidos em cativeiro condições que promovam o seu bem-estar e reduzam a exposição a situações estressoras.

Dentro deste contexto, perceber o comportamento fisiológico dos ratos frente às condições de adensamento e isolamento social é importante para buscar alternativas de manipulação e acomodação que minimizem os efeitos causados pelo confinamento desses animais em laboratório, e, conseqüentemente, promover o seu bem-estar.

### **3 OBJETIVOS**

#### **3.1 GERAL**

- Avaliar o efeito do isolamento social e do tamanho do grupo em respostas fisiológicas e comportamentais indicadoras de estresse em ratos alojados no Biotério Central da UFAM.

#### **3.2 ESPECÍFICOS**

- Comparar os parâmetros hematológicos (hematócrito, hemoglobina, número de eritrócitos e índices hematimétricos) nos animais submetidos a isolamento ou adensamento populacional.

- Testar se o isolamento social altera os níveis de glicemia, colesterol, triglicerídeos e proteínas totais, a taxa de crescimento, o índice hepatossomático e o desenvolvimento gonadal dos animais.

- Quantificar o comportamento exploratório (teste do campo aberto) nos animais submetidos a diferentes condições sociais.

### **4 MATERIAL E MÉTODOS**

#### **4.1 Manutenção dos animais**

Foram utilizados ratos da linhagem Wistar provenientes do Biotério Central da Universidade Federal do Amazonas, Manaus-AM. Esses animais foram alojados em gaiolas de polipropileno (16,5 x 40 x 33 cm) sobre cama de maravalha que foi trocada duas vezes por semana para evitar o excesso de umidade e acúmulo de excretas. As gaiolas foram dispostas em estantes abertas, com grade aramada em aço inoxidável, comedouro e bebedouro acoplados (sistema open cage; Neves et al., 2013). A temperatura foi mantida em torno de 25

°C, o fotoperíodo em 12 horas de luz (07:00-19:00 h) e os animais receberam alimentação (ração com 23% de proteína bruta) e água à vontade.

## 4.2 Delineamento experimental

Foram avaliados parâmetros comportamentais e fisiológicos associados ao estresse de indivíduos submetidos por 15 dias a quatro tratamentos experimentais: 1- **Grupo maior**- grupo formado por seis animais (n=5); 2- **Grupo menor**- grupo formado por três animais (n=6); 3- **Isolado com contato visual**- animal mantido em isolamento físico e com contato visual com coespecífico (n=4); 4- **Isolado sem contato visual**- animal mantido em isolamento físico e visual (n=5); 5- **Isolado com espelho** – animal mantido em isolamento físico e visual na presença de um espelho (n=4).

Foram utilizados animais pós-desmame (21 a 28 dias) com peso entre 60g a 100g. Para evitar o efeito da disponibilidade de espaço físico e atender as recomendações mínimas de área disponível por animal (Neves et al., 2013), em todos os tratamentos foram disponibilizados 120 cm<sup>2</sup>/animal (**Tabela 1**). No grupo isolado com contato social, duas gaiolas de mesma dimensão foram separadas por acrílico transparente, o que permitiu o contato visual entre os animais. Todos os indivíduos em isolamento não foram privados de estímulos químicos e auditivos. As condições de fotoperíodo, temperatura e limpeza das gaiolas foram semelhantes às descritas na manutenção dos animais.

**Tabela 1.** Tamanho das gaiolas utilizadas em cada tratamento experimental.

<b>Tratamento</b>	<b>Tamanho da Gaiola</b> (altura x comprimento x largura)
Grupo maior	20 x 40 x 18 cm
Grupo menor	20 x 24 x 15 cm
Isolado com contato visual	20 x 10 x 12 cm
Isolado sem contato visual	20 x 10 x 12 cm
Isolado com espelho	20 x 10 x 12 cm

No início e no término do experimento foram realizadas medidas biométricas (comprimento naso-anal e peso corporal) de cada animal do grupo para avaliar a taxa de crescimento em cada tratamento experimental. O consumo de ração total foi verificado a cada sete dias, pela diferença entre o alimento oferecido e o residual. Além disso, a ingestão hídrica foi medida utilizando-se garrafas preenchidas com 500 mL de água, nas quais a variação de volume foi verificada semanalmente, por meio de provetas graduadas (SANTOS et al., 2010).

No final do experimento os animais foram anestesiados com cetamina (0,1 ml / 100g)- xilazina (0,01 ml / 100g) por via intraperitoneal e mortos por deslocamento cervical (Neves, et al., 2013). Em seguida, foram dissecados para a realização de coleta de sangue (MONTERO et al., 1994) e retirada do fígado e das gônadas. O tempo de anestesia e coleta de sangue foi medido para detectar possível influência dessas manipulações nas variáveis fisiológicas. O sangue foi coletado por punção cardíaca (0,3 ml aproximadamente por coleta), utilizando-se seringa de 1 ml com anticoagulante (EDTA). Em seguida, o material (com exceção do destinado aos parâmetros hematológicos) foi centrifugado para coleta do plasma (3000 rpm / 15 min), o qual foi congelado a -70° C para análises bioquímicas.

### **4.3 Crescimento**

O crescimento individual dos animais foi avaliado pela taxa de crescimento específico (TCE), que é a taxa instantânea de crescimento obtida de uma unidade de peso em um período de tempo definido.  $TCE = [\ln Pf - \ln Pi / \Delta t] \times 100$  , onde: Pi= peso inicial do animal; Pf= peso final do animal;  $\Delta t$ = tempo do experimento.

### **4.4 Parâmetros hematológicos**

A contagem de eritrócitos (RBC, milhões/mm<sup>3</sup> sangue) foi realizada por meio de contagem manual em câmara de Neubauer. A concentração de hemoglobina sanguínea (Hb,

g/dL) foi analisada pelo método da cianometahemoglobina (Kampen e Zijlstra, 1964). O hematócrito (Ht, %) foi determinado pelo método do microhematócrito (Goldenfarb et al., 1971), onde os tubos capilares foram centrifugados a 13000 rpm por 6 minutos. Os índices hematimétricos absolutos, ou seja, volume corpuscular médio (VCM), hemoglobina corpuscular média (HCM) e a concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) foram calculados de acordo com Wintrobe (1934).

#### **4.5 Parâmetros bioquímicos**

As concentrações de colesterol total, glicose, proteínas totais e triglicerídeos plasmáticos foram determinadas por método colorimétrico com o uso de kits comerciais (Labtest ou Invitro).

#### **4.6 Índice hepatossomático**

O índice hepatossomático (IHS; %) representa a proporção do peso corporal alocado em fígado. Com base no peso corporal e hepático obtidos após a morte do animal foi calculado o IHS através da fórmula:  $IHS = (\text{peso fresco do fígado} / \text{peso fresco corporal}) \times 100$ , conforme realizado por Ceolin (2010) e Santos et al. (2010).

#### **4.7 Índice gonadossomático**

O índice gonadossomático (IGS; %) representa a proporção do peso corporal alocado em gônadas. Com base nos peso corporal e das gônadas obtidos após a morte do animal foi calculado o IGS através da fórmula:  $IGS = (\text{peso das gônadas} / \text{peso corporal}) \times 100$ , conforme realizado por Morais et al. (2009) e Ceolin (2010).

#### 4.8 Comportamento exploratório

No sétimo dia de experimento, os animais foram submetidos (10 minutos/dia) ao teste do campo aberto para análise do comportamento exploratório (ex. Burman et al., 2008; Arruda et al., 2011). Este ambiente foi constituído por uma arena de acrílico opaco (60 x 30 cm) subdividida em seis quadrantes de 20 x 15 cm cada (**Figura 1**). O registro da atividade locomotora foi feito por uma filmadora portátil (Sony Hanby-CAM DCR-FX 63) posicionada a pelo menos 40 cm de altura em relação ao sistema de teste. As análises das filmagens permitiram a quantificação da frequência e da duração da locomoção. Foi considerado um campo deslocado quando o animal coloca três membros na área demarcada, conforme utilizado por Arruda et al. (2011). Antes do início do experimento, foi realizado um teste preliminar (experimento piloto) para adequação do teste do campo aberto da filmagem do comportamento.



**Figura 1.** Ambiente para a avaliação da atividade exploratória (teste do campo aberto).

Extraído de Arruda et al. (2011).

## 4.9 Análise dos dados

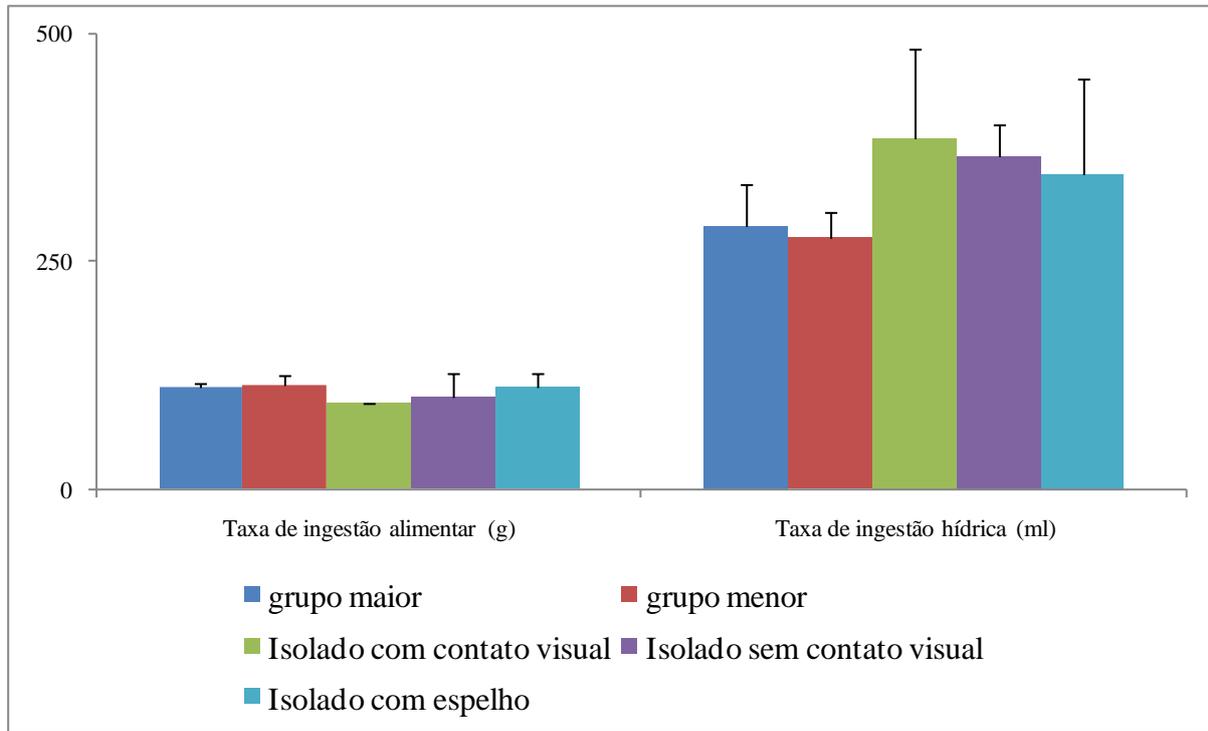
Os dados foram testados quanto à normalidade pelo teste de Shapiro-Wilk e à homogeneidade da variância pelo teste F max (Zar, 1999). De acordo com essas análises, as taxas de ingestão alimentar e hídrica, a TCE, os parâmetros hematológicos e bioquímicos, o IHS, o IGS e o comportamento exploratório foram comparados por ANOVA de uma via (teste paramétrico). Foi considerado  $\alpha \leq 0,05$  para significância estatística. Todas as análises são baseadas em Zar (1999) e Siegel e Castellan Jr. (2006).

## 4.10 Nota ética

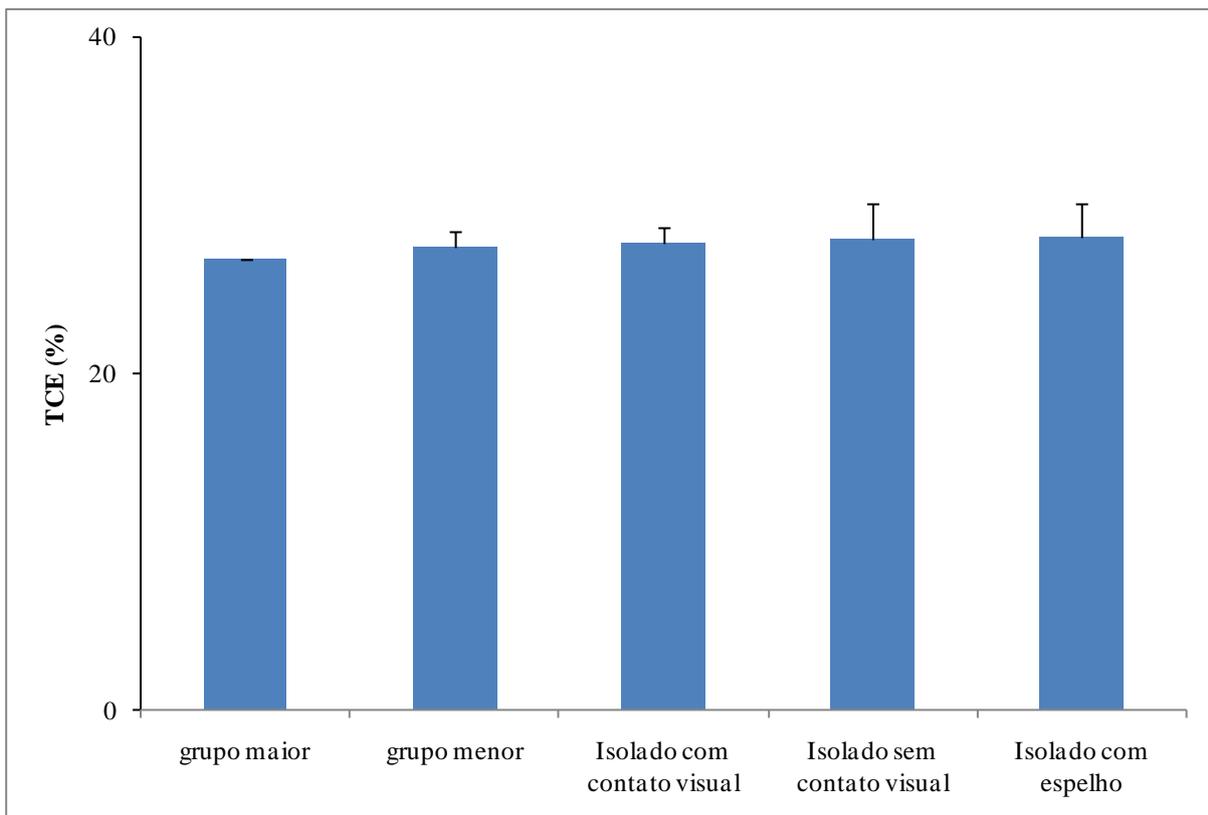
Este estudo está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotado pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e foi submetido à Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFAM, Manaus, AM.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não houve diferença nas taxas de ingestão alimentar (ANOVA de uma via,  $F=0,851$ ;  $p=0,522$ ) e hídrica (ANOVA de uma via,  $F=1,44$ ;  $p=0,280$ ) entre os tratamentos experimentais (**Figura 2**). A taxa de crescimento específico- TCE (ANOVA de uma via,  $F=0,41$ ;  $p=0,79$ ; **Figura 3**) também foi semelhante entre os grupos, evidenciando que o adensamento e o isolamento social não interferem na alimentação e, conseqüentemente, no ganho de peso dos animais.



**Figura 2.** Média ( $\pm$  DP) das taxas de ingestão alimentar e hídrica nos cinco tratamentos experimentais.



**Figura 3.** Média ( $\pm$  DP) da taxa de crescimento específico (TCE) nos cinco tratamentos experimentais.

Não houve efeito do isolamento social e do tamanho do grupo nos parâmetros hematológicos (ANOVA de uma via,  $F < 1,46$ ,  $p > 0,25$ ; **Tabela 2**). A contagem de eritrócitos (RBC) variou de  $3,56 \times 10^6/\mu\text{L}$  pertencente ao grupo isolado com contato visual e  $5,99 \times 10^6/\mu\text{L}$  no isolado sem contato visual. Os resultados de hemoglobina variaram de 6,35g/dL no grupo isolado com espelho até 10,13g/dL no grupo isolado com contato visual. A média de hematócrito foi de 38,71% do grupo de seis animais a 44,87% do grupo isolado com contato visual.

**Tabela 2.** Média ( $\pm$  DP) dos parâmetros hematológicos nos cinco tratamentos experimentais.

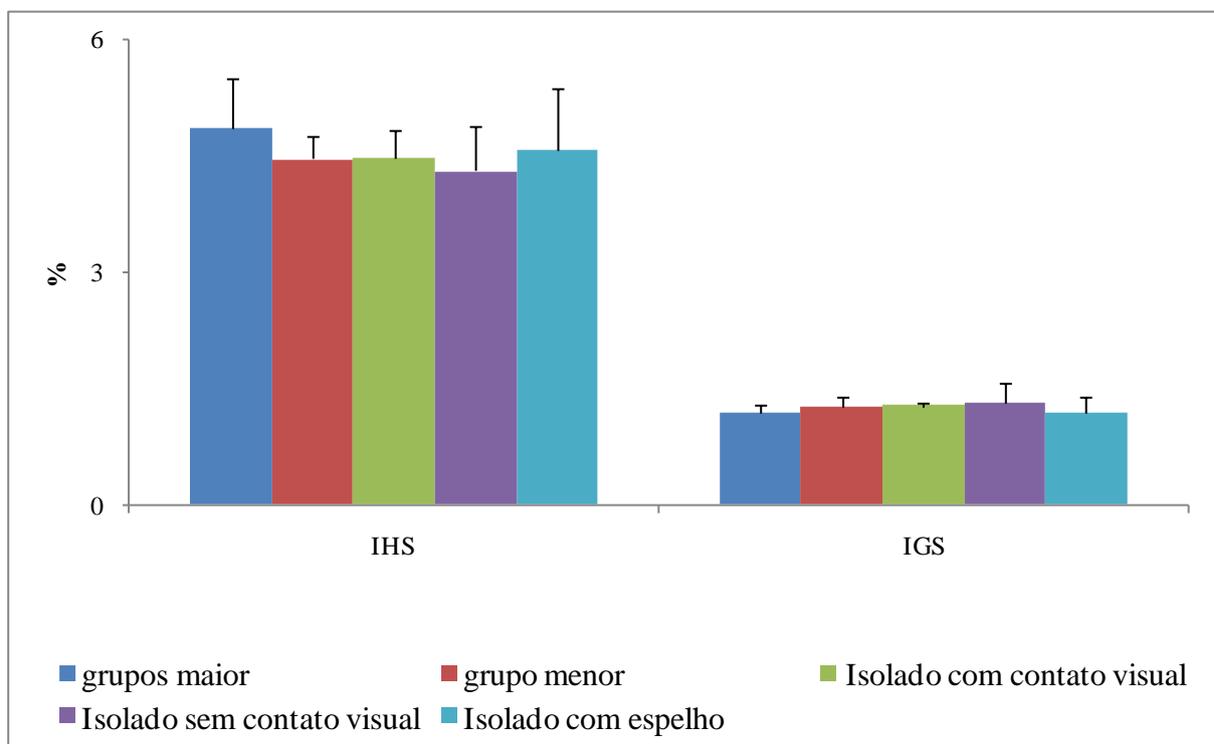
	<b>Grupo maior</b>	<b>Grupo menor</b>	<b>Isolado com contato visual</b>	<b>Isolado sem contato visual</b>	<b>Isolado com espelho</b>
<b>RBC (<math>10^6/\mu\text{L}</math>)</b>	$3,74 \pm 0,44$	$4,67 \pm 1,49$	$3,56 \pm 0,75$	$5,99 \pm 1,89$	$5,56 \pm 0,77$
<b>Hemoglobina (g/dL)</b>	$7,43 \pm 4,64$	$7,94 \pm 3,80$	$10,13 \pm 4,55$	$9,75 \pm 3,51$	$6,35 \pm 2,37$
<b>Hematócrito (%)</b>	$38,71 \pm 3,16$	$43,00 \pm 4,04$	$44,87 \pm 2,95$	$39,00 \pm 8,60$	$41,75 \pm 4,27$
<b>HCM (pg)</b>	$21,44 \pm 12,72$	$18,35 \pm 8,22$	$31,13 \pm 14,82$	$16,66 \pm 5,83$	$11,43 \pm 4,10$
<b>CHCM (%)</b>	$18,80 \pm 11,06$	$18,38 \pm 8,29$	$22,47 \pm 9,15$	$26,32 \pm 12,23$	$15,66 \pm 7,03$
<b>VCM (<math>\mu\text{m}^3</math>)</b>	$113,57 \pm 9,78$	$91,16 \pm 41,50$	$128,09 \pm 38,68$	$53,86 \pm 35,76$	$75,89 \pm 11,44$

Os valores hematológicos foram equivalentes aos valores de referência para roedores, conforme descrito por Upton e Morgan (1975), Melo *et al.* (2012) e Branco *et al.* (2011). No entanto, os índices hematimétricos (HCM e VCM) apresentaram resultados superiores aos valores basais observados em ratos machos Wistar alojados no Biotério Central da Universidade Federal do Sergipe (Melo *et al.*, 2012).

Diferenças entre os resultados obtidos podem ser recorrentes do tipo de técnica utilizada por cada método, haja vista que Melo *et al.* (2012) apresentaram valores de referência diferentes dos obtidos nesse experimento, uma vez que a técnica utilizada por ele é

automatizada. Segundo Upton e Morgan (1975), níveis de hemoglobina, hematócrito e proteínas plasmáticas acima da média estimada indicam que os animais estão sob condições de estresse que pode ter sido causada pelo próprio procedimento. Isso indica que o procedimento executado com os animais durante o experimento não teve influência sobre o nível de estresse dos animais, de forma que os resultados obtidos encontram-se dentro do limite estabelecido por Upton e Morgan (1975).

O índice hepatossomático variou de 4,31% do grupo isolado com contato visual a 4,86% do grupo formado por seis animais. Já o índice gonadossomático variou de 1,18% do grupo isolado com espelho a 1,32% do grupo isolado sem contato visual. Desta forma, os resultados obtidos neste experimento apresentaram resultados semelhantes aos descritos por Espeschit (2010), entretanto, não apresentaram diferença significativa entre os tratamentos experimentais (ANOVA de uma via, IHS-  $F=0,69$ ;  $p=0,60$ ; IGS-  $F=0,54$  e  $p=0,70$ ).



**Figura 4.** Média ( $\pm$  DP) do índice hepatossomático (IHS) e índice gonadossomático (IGS) nos cinco tratamentos experimentais.

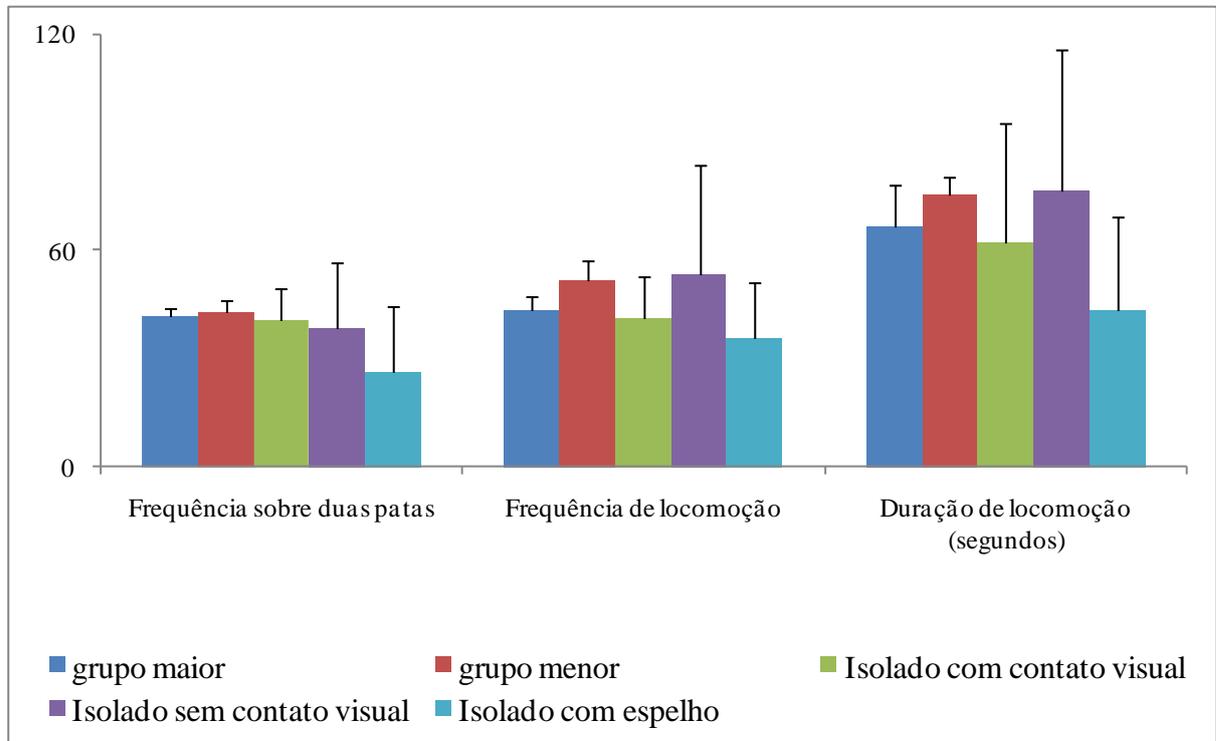
Não houve diferença significativa nos parâmetros bioquímicos (ANOVA de uma via,  $F < 3,64$ ;  $p > 0,07$ ). O maior e menor valor de glicose compreende de 180,03 mg/dL do grupo isolado com espelho e 251,30 mg/dL do grupo de seis animais, de triglicerídeos foi 60,70 mg/dL do grupo de seis animais e 97,37 mg/dL do grupo de três animais, de colesterol foi 74,30 mg/dL também no grupo maior e 103,56 mg/dL no grupo isolado sem contato visual e, por fim, de proteínas totais foi 5,67 g/dL do isolado com espelho e 7,03 g/dL do isolado com contato visual (**Tabela 3**). A literatura indica que as concentrações plasmáticas de glicose em ratos sejam em torno de 145 mg/dL (Leahy *et al.*, 1986; colesterol- média de 67,4 mg/dL; triglicerídeo – média de 89,9 mg/dL e proteína total- média de 6,2 mg/dL (Melo *et al.*, 2012).

**Tabela 3.** Média ( $\pm$  DP) dos parâmetros bioquímicos nos cinco tratamentos experimentais.

	<b>Grupo maior</b>	<b>Grupo menor</b>	<b>Isolado com contato visual</b>	<b>Isolado sem contato visual</b>	<b>Isolado com espelho</b>
<b>Glicose (mg/dL)</b>	251,30 $\pm$ 35,84	222,08 $\pm$ 72,12	193,59 $\pm$ 75,30	194,69 $\pm$ 91,33	180,03 $\pm$ 73,80
<b>Triglicerídeos (mg/dL)</b>	60,70 $\pm$ 19,48	97,37 $\pm$ 18,27	87,23 $\pm$ 13,13	61,55 $\pm$ 14,26	91,01 $\pm$ 33,57
<b>Colesterol (mg/dL)</b>	74,30 $\pm$ 15,43	75,90 $\pm$ 22,02	77,97 $\pm$ 10,18	103,56 $\pm$ 38,20	101,48 $\pm$ 49,40
<b>Proteínas totais (g/dL)</b>	5,72 $\pm$ 0,36	5,88 $\pm$ 1,18	7,03 $\pm$ 2,18	6,67 $\pm$ 1,31	5,67 $\pm$ 0,40

De acordo com Rebouças e Schmidek (1997) e Weiss et al. (2000), o isolamento social em roedores pode atuar como um estressor e aumentar a atividade locomotora. De fato, ratos exibem maior locomoção quando expostos a estresse agudo e repetitivo (Shoji e Mizoguchi, 2010). Além disso, grupos muito numerosos estão sujeitos ao aumento da agressividade - devido à disputa por território -, a redução da comunicação entre os animais e a maior incidência de doenças (Valzelli e Garattini, 1972; Arakawa, 2005; Burman et al., 2008). No entanto, neste estudo não foram observadas diferenças na frequência e duração do

comportamento exploratório registrado com a realização do teste do campo aberto (ANOVA de uma via,  $F < 1,40$  e  $p > 0,27$ ; **Figura 5**).



**Figura 5.** Média ( $\pm$  DP) do índice comportamento exploratório nos cinco tratamentos experimentais.

Os resultados evidenciam que o contato com coespecíficos e o isolamento social não induzem respostas estressoras em roedores (*Rattus norvegicus*), durante o período de 15 dias. É importante ressaltar que em todos os tratamentos foram disponibilizados  $120 \text{ cm}^2/\text{animal}$ , o que evitou o efeito da disponibilidade de espaço físico nos parâmetros fisiológicos e comportamentais e atendeu as recomendações mínimas de área disponível por animal (Neves et al., 2013). Assim, a ausência de diferenças significativas entre os tratamentos sugere os machos da linhagem Wistar podem ser mantidos em isolamento ou adensamento social, desde que limites mínimos de espaço, alimentação, ingestão hídrica e condições ambientais abióticas sejam oferecidos conforme recomendado para a manutenção em cativeiro.

## 6 REFERÊNCIAS

- Arakawa, H. 2005. Age dependent effects of space limitation and social tension on open-field behavior in male rats. *Physiology & Behavior*, 84(3): 429-436.
- Arruda, E.J.; Kitamura, J.H.; Chaves, T.P.; Silva, C.A.; Mascarim, A.L. 2011. Comportamento exploratório e ansiolítico de ratos e ratas submetidos à estimulação somatossensorial. *Rev Bras Terap e Saúde*, 2(1): 7-12.
- Balcome, J.P. 2006. Laboratory environments and rodents' behavioural needs: a review. *Laboratory Animals*, 40: 217-235.
- Baumans, V. 2005. Environmental enrichment for laboratory rodents and rabbits: requirements of rodents, rabbits, and research. *ILAR Journal*, 46(2): 162-170.
- Blanchard, R.; Mckittrick, C.; Blanchard, D. 2001. Animal models of social stress: Effects on behavior and brain neurochemical systems. *Physiology & Behavior*, 73(3): 261-271.
- Bouji, M.; Lecomte, A.; Hode, Y.; Seze, R.; Villégier, A.S. 2012. Effects of 900 MHz radiofrequency on corticosterone, emotional memory and neuroinflammation in middle-aged rats. *Experimental Gerontology*, 47(6): 444-451.
- Box, H.O. 2006. Bem estar animal. In: Yamamoto, M.E; Volpato, G.L. (Eds). *Comportamento animal*. Editora UFRN, Natal, 249-270p.
- Burman, O.; Owen, D.; Aboulsmail, U.; Mendl, M. 2008. Removing individuals rats affects indicators of welfare in the remaining group members. *Physiology & Behavior*, 93: 89-96.
- Contarteze, R.V.L.; Machado, F.B.; Gobatto, C.A.; Mello, M.A.R. 2007. Biomarcadores de estresse em ratos exercitados por natação em intensidades igual e superior à máxima fase estável de lactato. *Rev Bras Med Esporte*, 13(3): 169 – 174.
- Espeschit, A. C. R. Efeito da ingestão de farinha de trigo integral de linhaça sobre fatores de risco para doenças crônicas não transmissíveis em ratos Wistar adultos. 2010. 66 (Dissertação). Universidade Federal de Viçosa - UFV, Viçosa - MG.
- Faria, D.E.; Reis, J.E.P.; Ribeiro, L.C.; Peters, V.M.; Guerra, M.O. 2006. Comportamento de ratas (*Rattus norvegicus* Berkenhout, 1769) expostas ao extrato de Ginkgo Biloba durante a lactação. *Revista Brasileira de Zoologia*, 8(2): 91-98.
- Feil, H.C.P.B. 2010. Efeito de estresse sobre o comportamento sexual de fêmeas: participação da Angiotensina II. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 57p.

- Frisone, D.F.; Frye, C.A.; Zimmerberg, B. 2002. Social isolation stress during the third week of life has age-dependent effects on spatial learning in rats. *Behavioural Brain Research*, 128: 153-160.
- Goldenfarb, P.B.; Bowyer, F.P.; Hall, E.; Brosious, E. 1971. Reproducibility in the hematology laboratory: the microhematocrit determination. *American Journal of Clinical Pathology*, 56(1): 35-39.
- Hall, J.E. 2011. *Tratado de Fisiologia Médica*. 12ed. Elsevier, Rio de Janeiro, 969-985.
- Hole, G. 1991. The effects of social deprivation on levels of social play in the laboratory rat *Rattus norvegicus*. *Behavioural Processes*, 25: 41-53.
- Hurst, J.L.; Barnard, C.J.; Tolladay, U.; Nevison, C.M.; West, C.D. 1999. Housing and welfare in laboratory rats: effects of cage stocking density and behavioural predictors of welfare. *Animal Behaviour*, 58: 563-586.
- Kampen, E.J.; Zilstra, W.G. 1964. Standardization of haemoglobinometry In: Boroviczény, G. Erythrocytometric methods and their standardization. *Bibl. Haematol*, New York, p.68-72.
- Lapiz, M.D.S.; Fulford, A.; Muchimapura, S.; Mason, R.; Parker, T.; Marsden, C.A. 2003. Influence of postweaning social isolation in the rat on brain development, conditioned behavior, and neurotransmission. *Neuroscience and Behavioral Physiology*, 33(1): 13-29.
- Leahy, J.L.; Cooper, H.E.; Deal, D.A.; Weir, G.C. 1986. Chronic hyperglycemia is associated with impaired glucose influence on insulin secretion. *J. Clin. Invest.*, 77: 908-915.
- Masood, A.; Banerjee, B.D.; Vijayan, V.K.; Ray, A. 2003. Modulation of stress induced neurobehavioral changes by nitric oxide in rats. *Eur J Pharmacol*, 458: 135–139.
- Masood, A.; Banerjee, B.D.; Vijayan, V.K.; Ray, A. 2004. Pharmacological and biochemical studies on the possible role of nitric oxide in stress adaptation in rats. *Eur J Pharmacol*, 493: 111–115.
- Melo, M. G. D. et al. 2012. Valores de referência hematológicos e bioquímicos de ratos (*Rattus norvegicus* linhagem Wistar) provenientes do biotério central da Universidade Federal de Sergipe. *Scientia Plena*, 8(9): 2012.
- Nandi, D.; Patra, R.C.; Swarup, D. 2006. Oxidative stress índices and plasma biochemical parameters during oral exposure to arsenic in rats. *Food and Chemical Toxicology*, 44: 1579-1584.
- Neves, S.M.P.; Ong, F.M.P.; Rodrigues, L.D.; Santos, R.A.; Fontes, R.S; Santa, R.O. 2013. *Manual de cuidados e procedimentos com animais de laboratório do Biotério de Produção e Experimentação da FCF-IQ/USP*. São Paulo, 234p.

- Rebouças, R.C.R.; Schmidek, W.R. 1997. Handling and isolation in three strains of rats affect open field, exploration, hoarding and predation. *Physiology & Behavior*, 62(5): 1159-1164.
- Selye, H. 1998. A syndrome produced by diverse nocuous agents. *The Journal of Neuropsychiatry and Clinical Neurosciences*, 10: 230a – 231.
- Shoji, H.; Mizoguchi, K. 2010. Acute and repeated stress differentially regulates behavioral, endocrine, neural parameters relevant to emotional and stress response in young and aged rats. *Behav Brain Res*, 211(2): 169-77.
- Siegel, S.; Castellan Jr., N.J. 2006. *Estatística não-paramétrica para ciências do comportamento*. 2. ed. Artmed, Porto Alegre, 448p.
- Upton, P.K.; Morgan, D.J. 1975. The effect of sampling technique on some blood parameters in the rat. *Lab Anim*, 9: 85-91.
- Vanlinskaya, E. I.; Spear, L. P.; Spear, N. E. 1998. Social behavior and social motivation in adolescent rats: role of housing conditions and partner's activity. *Physiology & Behavior*, 67(4): 475-482.
- Weiss, I.C.; Di Iorio, L.; Feldon, J.; Domeney, A.M. 2000. Strain differences in the isolation-induced effects on prepulse inhibition of the acoustic startle response and on locomotor activity. *Behavior Neuroscience*, 114: 364-373.
- Weiss, I.C.; Pryce, C.R.; Jongen-Rêlo, A.L.; Nanz-Bahr, N.I.; Feldon, J. 2004. Effect of social isolation on stress-related behavioural and neuroendocrine state en the rat. *Behavioural Brain Research*, 152: 279-295.
- Yorgason, J.T.; España, R.A., Konstantopoulos, J.K., Weiner, J.L.; Jones, S.R. 2013. Enduring increase in anxiety-like behavior and rapid nucleus accumbens dopamine signaling in socially isolated rats. *European Journal of Neuroscience*. 37(6): 1022-1031.
- Zar, J.H. 1999. *Biostatistical analysis*. 4ed. Prentice-Hall, New Jersey, 663p.