

Efeitos do enriquecimento ambiental sobre padrões de comportamento e ansiedade no *Status Epilepticus*

Effects of environmental enrichment on behavioral and anxiety no Status Epilepticus

Janaína Cardoso Costa¹; Bianca Nunes Pimentel²

¹ Fisioterapeuta, Mestre em Educação Física e Desporto/ Desenvolvimento da Criança na variante do Desenvolvimento Motor pela Universidade Trás os Montes e Alto Douro – UTAD, Vila Real – Portugal.

² Fonoaudióloga, Mestre em Distúrbios da Comunicação Humana pela Universidade Federal de Santa Maria – UFSM, Santa Maria, RS – Brasil.

Endereço para correspondência

Janaína Costa
Visconde de Pelotas 1313/301
97015 140 - Santa Maria, RS [Brasil]
janafisio2013@gmail.com

Resumo

Introdução: O Enriquecimento ambiental (EA) tem sido estudado em reabilitação para diversas patologias. **Objetivo:** investigar os efeitos do EA em ratos *wistar* jovens submetidos ao *status epilepticus*, sobre os padrões de comportamento e ansiedade. **Métodos:** Estudo longitudinal com 40 ratos, submetidos às crises no 15º dia e enriquecimento ambiental e, posteriormente, aos testes labirinto em cruz elevado e campo aberto. Utilizou-se o teste ANOVA two-way, considerando como significativo valor de $p < 0,05$. **Resultados:** No teste do labirinto houve relação entre levantar em duas patas ($p < 0,01$), comportamento de risco ($p < 0,01$) tempo nos braços abertos ($p < 0,01$), número de entradas nos braços fechados ($p < 0,01$), tempo nos braços fechados ($p < 0,01$) e o número de cruzamentos no campo aberto ($p = 0,01$) com *status epilepticus*. Não houve relação entre os testes e o EA. **Conclusão:** O EA não reverteu os padrões de ansiedade e comportamento afetados pelo *status epilepticus*.

Descritores: Epilepsia; Comportamento; Ansiedade; plasticidade neuronal.

Abstract

Background: Environmental Enrichment (EE) has been studied in rehabilitation for several pathologies. **Objective:** to investigate the effects of EE on young *wistar* rats submitted to *status epilepticus*, on behavior and anxiety patterns. **Methods:** Longitudinal study with 40 rats, submitted to seizures on the 15th day and environmental enrichment, and later to the labyrinth tests in high cross and open field. The two-way ANOVA test was used, considering a significant value of $p < 0.05$. **Results:** In the labyrinth test, there was a relationship between two paws ($p < 0.01$), risk behavior ($p < 0.01$) in open arms ($p < 0.01$), number of entries in closed arms ($p < 0.01$), time in the closed arms ($p < 0.01$) and the number of crosses in the open field ($p = 0.01$) with *status epilepticus*. There was no relationship between the tests and the EE. **Conclusion:** The EE did not reverse the behavior and anxiety patterns affected by the *status epilepticus*.

Key words: Epilepsy; Behavior; Anxiety; Neuronal plasticity.

Introdução

A capacidade que o cérebro tem de se moldar, alterando a sua estrutura, tanto morfológica quanto funcionalmente, respondendo a novos estímulos e fazendo novas sinapses define a reorganização funcional conhecida como plasticidade neuronal. As mudanças produzidas dependem do sexo, da idade e da habilidade para interagir e responder ao ambiente dependendo da obtenção e consolidação de experiências em processos de aprendizagem e memória¹⁻³. Essa capacidade de responder a estímulos ambientais, mais precisamente ao “enriquecimento”, pode modificar seus componentes estruturais².

O Enriquecimento Ambiental (EA) consiste na combinação de exercícios físicos, aumento da exposição às relações sociais, impactando significativamente na memória, bem como no aprendizado³⁻⁴. Trata-se de um modelo experimental em que ratos são criados em caixas cujo interior possui diversos objetos como bolas, cubos, rodas, escadas e rampas, em um período variável de tempo. Estas condições de moradia são capazes de produzir estímulos sensoriais, motores e cognitivos². São importantes como estímulos para a neuroplasticidade, ao ponto de aumentar a sobrevivência neuronal, fortalecimento da potenciação de longa duração, melhorar a aprendizagem espacial, favorecendo as respostas neuroquímicas e alterações anatômicas, quando comparados com ratos criados em ambiente padrão⁵. Existem vários protocolos experimentais com o uso de modelos animais de EA, utilizados para o estudo de diversas patologias, entre elas, a epilepsia⁶.

A epilepsia é uma condição neurológica que afeta 50 milhões de pessoas no mundo, 50% iniciam na infância ou na adolescência, aumentando a incidência por volta dos 65 anos, sendo que 85% dos casos estão em países em desenvolvimento⁷. Podem ser definidas como um grupo de doenças que possuem em comum crises epiléticas recorrentes, convulsivas ou não, causadas por descargas hipersincronizadas ocorrendo na ausência de doença tóxica metabólica ou febril⁸. Podem

ser causadas por uma doença cerebrovascular ou trauma cranioencefálico, não obstante a grande maioria das patologias que atingem a substância cinzenta pode gerar crises epileptogênicas, as quais, em grande parte, devem-se a predisposição individual, alterações bioquímicas complexas e às cargas elétricas cerebrais⁹⁻¹⁰.

As crises epiléticas podem ser classificadas em Crises Parciais (CP) ou focais, e Crises Generalizadas (CG). As CP são classificadas em parciais simples (consciência preservada) e complexas (perda da consciência). As CG envolvem ambos os hemisférios cerebrais desde o início. Crises que duram mais de 30 minutos ou crises sucessivas sem recuperação do nível da consciência definem o Status Epilepticus (SE), também chamado de “estado de mal epilético”, que constitui uma das urgências neurológicas, especialmente na infância¹¹. Sua incidência é alta nos períodos iniciais do desenvolvimento, quando o cérebro ainda está em formação, justamente por um desequilíbrio entre neurotransmissores excitatórios e inibitórios¹².

O SE induzido em períodos iniciais do desenvolvimento cerebral pode causar danos ao sistema nervoso central, alterando o desenvolvimento e a maturação levando a alterações morfológicas, bioquímicas e comportamentais na idade adulta¹³.

Dentre os modelos de indução ao SE, está o induzido por Pilocarpina¹⁴, considerado um modelo clássico de epilepsia do lobo temporal, o qual induz a uma cascata de eventos moleculares resultando em modificações neurais e crises epileptogênicas¹⁵. A pilocarpina pode ser considerada um antagonista colinérgico e a sua injeção sistêmica provoca crises espontâneas por um longo período¹⁴. É um alcaloide que induz a um estado crônico, comportamental, facilitando as descargas de neurônios hipocâmpais, por meio do bloqueio de correntes de potássio que são dependentes da ação muscarínica¹⁵.

Apesar dos diversos experimentos utilizando o EA com resultados positivos^{5-6,16-17}, além da individualidade do animal, deve ser levada em consideração a variação entre modelos expe-

rimentais de doenças e a reprodutibilidade de resultados utilizando o mesmo modelo.

Pelo exposto, o objetivo desse estudo foi investigar os efeitos do enriquecimento ambiental sobre os padrões de comportamento e ansiedade através dos testes campo aberto e labirinto em cruz elevado, em ratos *wistar* jovens submetidos ao status epilepticus.

Material e métodos

Tratou-se de uma pesquisa longitudinal, experimental, de análise quantitativa, aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa sob o nº do protocolo do Comitê de Ética de Uso de Animais (CEUA) 008/2011. Ratos *Wistar* foram acompanhados desde o 15º dia até o 64º completando 6 semanas em ambiente enriquecido e, após, foram realizados os testes de labirinto em cruz elevado e o teste do campo aberto.

Caracterização da Amostra

As ratas genitoras dos animais envolvidos no presente estudo foram alojadas uma a uma, durante os períodos de prenhez e de lactação, em gaiolas de polipropileno com tampas metálicas, medindo 18 x 45 x 30 cm, providas de camas de maravalha, bebedouros para água e cocho para ração peletizada composta por proteína bruta (220,0 g/Kg), cálcio (10,0-14,0 Kg), fósforo (8.000,0 g/kg), extrato etéreo (40,0 g/Kg), matéria fibrosa (80,0 g/Kg), matéria mineral (100,0 g/Kg) e umidade (120,0 g/Kg). Ração e água foram oferecidas *ad libitum*, durante todo o período experimental.

No 15º dia, apenas os machos de cada ninhada foram incluídos na amostra, os quais receberam uma marcação (na pata) para diferenciá-los das fêmeas. Machos e fêmeas permaneceram com as suas mães, na mesma gaiola, até o 21º dia, devido ao período de amamentação¹⁸. No 22º dia as fêmeas de cada ninhada foram submetidas à eutanásia com o auxílio de uma guilhotina própria na marca *Insight* e alojadas em sacos plásticos

Os animais foram divididos em quatro grupos com 10 ratos em cada: 1) *Status Epilepticus* sem Enriquecimento Ambiental (SE+SEA), 2) *Status Epilepticus* com Enriquecimento Ambiental (SE+EA), 3) Sem *Status Epilepticus* com Enriquecimento Ambiental (SSE+ EA), Sem *Status Epilepticus* e sem Enriquecimento Ambiental, (SSE+ SEA/controle), num total de 40 ratos.

Instrumentos e Procedimento experimental

No presente estudo utilizou-se um protocolo¹⁹ de enriquecimento ambiental em ratos submetidos à epilepsia.

Indução do Status Epilepticus

Aos 15 dias pós-natal (P15) os animais receberam uma injeção intra-peritoneal de cloreto de lítio (3mEq/kg) 12-18h antes da administração subcutânea de pilocarpina (P16) (60 mg/kg)²⁰. Os animais controles foram manipulados da mesma maneira e receberam uma injeção subcutânea de veículo (solução salina 0,9%). O volume final de injeção para pilocarpina e veículo foi de 10 ml/kg de peso corporal.

No 15º dia pós-natal, todos os ratos (somente machos) receberam tratamento com 0,636 g Cloreto de Lítio (LiCl), pesado em balança analítica, posteriormente dissolvido em 50 ml de água de Milli-Q ao dia, após foi administrado nos animais 10 ml desta solução para cada kg de peso vivo, ou seja, para cada 100 g de peso aplicar 1 ml da solução de cloreto de Lítio¹⁹. No 16º dia, administrou-se em metade dos animais uma solução de pilocarpina, e imediatamente após a injeção, os animais foram alojados em uma caixa grande aquecida por luz incandescente de modo que a caixa ficasse com temperatura aproximada de 35 a 36°C para fazer a observação do padrão convulsivo (Figura 1). O procedimento seguinte foi pesar 60 mg de cloridrato de pilocarpina em balança analítica e dissolver em 10 ml de água Milli-Q, e injetar em cada animal 1 ml de solução para cada 100g de peso. Na outra metade dos ani-

mais, injetou-se solução salina (0,9%) na proporção de 1 ml de solução para cada 100 g de peso.

Posteriormente, os animais foram colocados em caixas separadas (controle, tratados) à temperatura de 34°C (aquecimento com luz incandescente e monitoramento por meio de um termômetro presente no interior da caixa), a qual mimetizou a temperatura do ninho, para observação do comportamento convulsivo.

Após três minutos da administração da pilocarpina houve alterações comportamentais características que culminaram com o SE. Inicialmente os ratos apresentaram acinesia, seguido de agitação do corpo crânio-caudal, movimentos atáxicos e automatismos mastigatórios acompanhados de salivação, bem como defecação e micção excessiva. Esses comportamentos progrediram para tremores generalizados e, ainda, o comportamento de ficar em pé, apoiado nas patas posteriores associado à clonia das patas anteriores (fase 1). Após, estes animais apresentaram crises clônicas generalizadas e ininterruptas características do SE também chamado de fase 2. Tais crises permaneceram pelo período de três horas, as quais foram monitoradas. Alguns ratos não resistiriam às crises e acabaram morrendo.

Após, os animais foram mantidos nas caixas padrão do biotério, junto com as mães, até o 21º dia. No 22º dia metade dos animais ficaram em enriquecimento ambiental (Figura 2), 1 hora/dia, até o 64º dia, (seis semanas), neste procedimento foi utilizada a mesma sala. O peso dos animais foi verificado diariamente do 15º até o 64º dia.

Para o enriquecimento ambiental optou-se pelo protocolo de 1 hora por dia, a partir do 22º dia até o 64º dia, realizado por seis semanas, modificando este ambiente a cada semana, a fim de garantir o efeito da novidade, e sempre respeitando a idade dos ratos.



Figura 1: Animais submetidos ao *Status Epilepticus* induzido por Li Cl no 16º dia

Foram utilizados objetos como bolas de gude, rampas túneis, brinquedos de plástico para que sejam experimentadas diferentes formas e texturas, brinquedos que emitiam sons como chocalhos, espelhos e pedaços de madeira, de forma a facilitar a estimulação motora, sensorial e cognitiva².



Figura 2: Modelos de enriquecimento ambiental com objetos para livre exploração. Protocolos utilizados na primeira até sexta semana e grupo controle com animais não expostos ao ambiente enriquecido

Legenda: 1 – primeira semana; 2 – segunda semana; 3a – terceira semana; 3b – terceira semana; 4a – quarta semana; 4b – quarta semana; 5 – quinta semana; 6 – sexta semana; 7 – grupo controle.

Testes comportamentais

Foram realizados dois testes. O teste do labirinto em cruz elevado, para verificar os padrões de ansiedade, o teste do campo aberto, para análise de comportamento.

Teste do labirinto em cruz elevado

No 67º dia, os animais foram submetidos ao teste do labirinto em cruz elevado que consistiu em dois braços abertos e opostos, medindo 50x10 cm, e dois fechados em suas três faces externas por paredes de 40 cm de altura, e as plataformas com a mesma medida dos braços abertos, cruzando-os perpendicularmente, o que delimita uma área central de 10 cm² (Figura 3).

O aparelho possuía 50 cm do solo, com iluminação proveniente de lâmpada branca de 60 watts, situada 120 cm acima do mesmo. Os braços abertos não possuíam bordas.

O animal foi posicionado na plataforma central de frente para um dos braços abertos e observado durante 5 minutos. Os comportamentos registrados (tanto no momento basal quanto na sessão tratamento) foram: número de entradas nos braços abertos; número de entradas nos braços fechados; tempo de permanência nos braços abertos; tempo de permanência nos braços fechados; número de rearings (atividades de levantar); tempo de grooming (limpeza); número de espreitas nos braços fechados (risk assessment). A partir destes parâmetros foi calculado: % de tempo nos braços abertos [= (tempo no aberto X 100)/300]; % de tempo nos braços fechados [= (tempo no fechado X 100)/300]; número total de entradas [= entradas fechado + entradas no aberto]; % entradas nos braços abertos [(número de entradas no aberto X 100)/número total de entradas]; % entradas nos braços fechados [(número de entradas no fechado X 100)/número total de entradas]; e tempo de permanência na plataforma central [=300 - (tempo no aberto + tempo no fechado)]. Quanto mais ansioso estiver o animal, maior é o tempo de permanência nos braços fechados.



Figura 3: Labirinto em cruz elevado

Teste do Campo Aberto

No 70º dia do tratamento, os animais foram submetidos a uma habituação ao campo aberto que consiste de uma caixa de 40x50x60cm com o assoalho dividido em 12 quadrantes. Realizou-se em uma sessão (Figura 4).

Os seguintes parâmetros foram avaliados: o número de cruzamentos de um quadrante para outro, o número de *rearings*, a latência para saída do primeiro quadrante e o tempo gasto nos quadrados centrais, o ato de limpeza (Grooming), os bolos fecais.

Este teste foi realizado para avaliar a atividade locomotora e comportamento exploratório dos animais. O teste foi realizado num período de 15 minutos cada rato. Após cada experimentação, o instrumento foi limpo com uma solução do álcool etílico (70%).

As sessões de análises de comportamento foram realizadas após o 64º dia de enriquecimento ambiental. Os animais foram colocados na sala 1 hora antes do início de cada sessão para habituação. Todas as tarefas foram realizadas entre 14 horas e 16 horas.



Figura 4: Teste do campo aberto

Após os animais serem utilizados na pesquisa, foram administrados 1,5 a 2,0 mL de Tiopental em uma concentração de 1g (dL), por via intraperitoneal²¹ com o objetivo de sacrificá-los. Depois de detectada a morte dos mesmos, foram colocados em um saco plástico branco, fechado e identificado com a data do sacrifício; e então armazenados na geladeira até o descarte final.

Tratamento de Dados

Quanto ao Status Epilepticus, o tempo para entrar na fase 1 e fase 2 foi expresso através da estatística descritiva (média e desvio padrão). Para o peso entre os animais foi expresso através da estatística descritiva (média e desvio padrão). Para testar a normalidade das variáveis utilizou-se o teste Shapiro-Wilk ($p = 0,912$). Para avaliar o efeito do enriquecimento do ambiente e do status epilepticus sobre o comportamento e os padrões de ansiedade dos ratos, utilizou-se análise de variância com dois critérios de classificação (ANOVA two-way), dependentes foram descritas como média ± erro padrão da média em cada grupo, ajustados para os fatores fixos. Definiu-se como estatisticamente significativo valor de $p < 0,05$.

Resultados

Alterações comportamentais induzidas pela administração da Pilocarpina

O intervalo de tempo entre a aplicação da pilocarpina foi de $2,59 \pm 1,18$ para a fase 1, e de $14,37 \pm 6,38$ para a fase 2.

Quanto ao peso dos animais não houve relação entre aqueles submetidos ao status epilepticus e o grupo controle ($p=0,37$).

Teste campo aberto.

Quanto ao comportamento no campo aberto, o teste de ANOVA/ TWO-WAY, mostrou diferença significativa apenas quanto ao status epilepticus entre, o número de cruzamentos (Crossing), As médias ajustadas e o valor de probabilidade da associação encontram-se na tabela 1.

Ainda na tabela 1, observa-se que o efeito do status epilepticus e do enriquecimento ambiental sobre o tempo de latência para sair do quadrante inicial, o comportamento em 2 patas (rearing), o ato de limpeza (grooming), o número de bolos fecais não foram estatisticamente significativos. Para todas as variáveis acima descritas, o efeito da interação status epilepticus x enriquecimento ambiental não foi estatisticamente significativo.

Labirinto em Cruz Elevado

Não se observaram diferenças estatisticamente significativas quanto ao "rearing" ($11,8 \pm 4,6$ vs $8,5 \pm 5,7$, $p=0,160$), "risk" ($1,0 \pm 1,6$ vs $1,2 \pm 1,5$, $p=0,797$), tempo no braço aberto ($149,5 \pm 66,9$ vs $191,2 \pm 82,9$, $p=0,132$), tempo no braço fechado ($83,5 \pm 59,0$ vs $64,7 \pm 58,2$, $p=0,390$) e frequência de entradas no braço fechado ($3,9 \pm 1,6$ vs $0,0 \pm 2,1$, $p=0,223$) entre os ratos que foram submetidos a status epilepticus com e sem enriquecimento ambiental (figuras 17 a 21 , abaixo).

O efeito do status epilepticus sobre o comportamento em duas patas (rearing) compor-

tamento de risco (risk behavior), o tempo nos braços abertos (tempo nos braços) o número de entradas nos braços fechados, o tempo nos braços fechados, foi significativo. Para todas as variáveis acima descritas, o efeito da interação *status epilepticus vs* enriquecimento ambiental não foi estatisticamente significativo (tabela 1).

Discussão

Os benefícios do enriquecimento ambiental têm sido verificados em diferentes modelos de doença. No entanto, os resultados variam conforme as características da população estudada e protocolos utilizados. No presente estudo, ratos *Wistar* foram submetidos ao *status epilepticus* e posteriormente a um protocolo de enriquecimento ambiental, por seis semanas, com o intuito de verificar a eficácia deste sobre padrões de comportamento e ansiedade.

O peso dos animais não apresentou diferença entre os grupos, não obstante o peso se

mantve menor entre os ratos submetidos ao SE. Esses resultados ratificam estudo anterior²², que comparou ratos da linhagem C57BL, em ambiente enriquecido, com ratos controle, constatando não haver diferenças entre os diferentes grupos quanto ao peso corporal.

Em um estudo sobre as consequências comportamentais em ratos submetidos a *status epilepticus* induzido por cloreto de Lítio/ pilocarpina, os resultados foram significativos comparando o peso corporal entre os diferentes grupos, entretanto essa diferença desapareceu aos 70 dias de vida dos animais¹³. Ratos, submetidos às crises de epilepsia, passam por um período de recuperação do quadro neurológico pós-*Status epilepticus* que pode variar de 2 a 5 dias²³. Isso poderia explicar a divergência no peso nos primeiros dias pós-criSES.

Na presente pesquisa a diferença entre os resultados do teste do labirinto em cruz elevado e campo aberto foram significativos somente quando considerados os animais com e sem *status epilepticus*, conforme estudo anterior semelhante, no

Tabela 1: Média marginal estimada, desvio padrão e valor de probabilidade do efeito de *status epilepticus*, ambiente enriquecido e da interação entre eles sobre o comportamento e padrão de ansiedade (n=40)

Teste	Variáveis	Status epilepticus (A)			Ambiente enriquecido (B)			(AxB)
		Sim	Não	p	Sim	Não	p	p
Campo Aberto	Latência	2,81±0,49	2,60±0,55	0,77	2,46±0,50	2,94±0,54	0,51	0,89
	Crossing	130,35±12,46	178,38±13,97	0,01	153,90±12,80	154,83±13,67	0,96	0,35
	Rearing	40,06±4,71	47,41±5,28	0,30	47,95±4,83	39,52±5,17	0,24	0,39
	Grooming	4,32±0,58	4,03±0,66	0,75	3,70±0,60	4,65±0,64	0,28	0,72
	Bolos fecais	3,54±0,61	3,27±0,69	0,77	3,64±0,63	3,17±0,67	0,61	0,51
Labirinto em cruz elevado	Bolos fecais	1,24±0,42	0,63±0,47	0,34	0,99±0,43	0,88±0,46	0,86	0,77
	Rearing	10,11±1,16	15,51±1,30	<0,01	14,39±1,19	11,34±1,27	0,10	0,88
	Risk Behavior	1,09±0,35	2,66±0,39	<0,01	2,05±0,36	1,70±0,38	0,51	0,32
	Entrada BA	5,10±0,47	5,13±0,53	0,96	5,49±0,48	4,74±0,52	0,29	0,80
	Tempo BA	170,32±13,56	110,82±15,21	<0,01	128,38±13,92	152,76±14,88	0,24	0,40
	Entrada BF	3423±0,34	5,57±0,38	<0,01	4,92±0,35	4,06±0,38	0,09	0,97
	Tempo BF	3,42±0,34	5,56±0,38	<0,01	4,92±0,35	4,06±0,38	0,54	0,59
	Tempo centro	55,58±6,75	61,17±7,57	0,58	65,49±6,93	51,27±7,41	0,17	0,39
Grooming	0,76±0,30	1,09±0,34	0,47	0,96±0,31	0,90±0,33	0,90	0,44	

Legenda: Crossing – Número de cruzamentos; Rearing – Levantar em duas patas; Grooming – Ato de limpeza; Risk behavior – comportamento de risco; BA – braços abertos; BF – Braços fechados. Valores expressos em média e desvio padrão ou valor de probabilidade.

qual foi constatado maiores níveis de ansiedade no grupo submetido às crises¹³. No entanto, não houve diferença significativa ao comparar os grupos com e sem EA, ratificando um estudo semelhante anterior²⁴ e contrariando outro estudo pregresso nos quais se constatou uma atividade locomotora maior em ratos expostos ao ambiente enriquecido, assim como efeito ansiolítico²⁵.

Em um estudo realizado com células-tronco mesenquimais em animais submetidos ao *status epilepticus* com cloreto de lítio/ pilocarpina, a avaliação no labirinto em cruz elevado mostrou-se contrariamente ao nosso estudo, ou seja, um maior número de entrada nos braços abertos, bem como maior tempo de permanências. Esse comportamento representa uma redução no grau de ansiedade dos animais e maior atividade motora²⁶.

O enriquecimento ambiental mostrou-se eficaz em um modelo animal de Epilepsia de ausência atípica infantil, no qual após 30 dias os ratos expostos ao EA exibiram menos comportamento hiperativo e ansiedade, melhor reconhecimento olfatório e aprendizagem espacial. Entretanto, não foi capaz de reduzir significativamente a atividade epileptogênica em comparação ao grupo controle²⁷⁻²⁸. Todavia, em outras pesquisas com modelo animais de epilepsia o EA diminuiu a vulnerabilidade à epileptogênese e ansiedade límbica⁶, representando uma potencial estratégia antiepileptogênica⁵.

Os nossos resultados no teste do campo aberto mostraram-se significativos quanto ao número de cruzamentos de um quadrante a outro (crossing), apenas quando considerado os animais submetidos ao SE, mas quando considerados o comportamento de levantar (rearing), e o ato de limpeza (grooming), os dados não mostraram relação significativa. Indo ao encontro de pesquisa pregressa, em que os ratos submetidos a Status epilepticus, quando comparados ao grupo controle, quanto a atividade de levantar, e a atividade de limpeza, não houve significância estatística¹³.

Em estudo sobre epilepsias de ausência de GAERS (modelo genético de epilepsia de ausên-

cia de rato) que manifesta comportamento de ansiedade elevada, constatou-se que o EA atrasou o início da epilepsia e resultou em menos crises na idade adulta, em comparação àqueles em alojamento padrão. O enriquecimento também reduziu a frequência de convulsões quando iniciada na idade adulta. Além disso, os níveis de ansiedade foram reduzidos, e estes efeitos anti-epileptogênicos e ansiolíticos foram hereditários para a próxima geração²⁹.

Além da epilepsia, o EA tem sido utilizado em outras patologias, com resultados positivos. Em pesquisa sobre o EA no tratamento de sequelas causadas por Acidente Vascular Cerebral (AVC) em modelos animais constatou-se que a privação monocular em ratos adultos submetidos ao EA favoreceu a plasticidade na dominância ocular de forma previamente observada apenas em animais de quatro semanas de idade, além de restabelecer a plasticidade da dominância ocular já perdida em ratos adultos criados em alojamento padrão, indicando alterações adaptativas nos circuitos corticais¹⁷.

Em pacientes pós-traumatismo cranioencefálico com uma intensificação dos estímulos, equivalente ao enriquecimento ambiental com modelos animais, houve alteração significativamente maior na pontuação cognitiva durante a neuroreabilitação do paciente internado resultando em melhorias cognitivas na alta³⁰.

Conclusões

O enriquecimento ambiental não mostrou relação significativa quanto ao peso corporal dos ratos, em relação ao *Status Epilepticus*. Quanto ao teste do labirinto em cruz elevado, houve diferença quanto aos animais submetidos apenas a *status epilepticus*, no que diz respeito ao comportamento de risco, tempo de entrada nos braços fechados, número de entradas nos braços fechados e levantar em duas patas. No teste do campo aberto, registrou-se apenas diferenças entre o número de cruzamentos em animais submetidos às crises, porém não se registram diferenças

entre este e o enriquecimento ambiental em todas as tarefas do teste. Assim, o *Status Epilepticus* atuou de forma prejudicial sobre os padrões de comportamento e ansiedade dos ratos, entretanto o ambiente enriquecido não reverteu os prejuízos comportamentais.

As limitações encontradas no presente estudo referem-se ao controle do ambiente no qual os animais estavam acondicionados, pois no período da coleta não foi possível controlar a temperatura ambiente.

A linha de pesquisa do enriquecimento ambiental, utilizando modelos animais ainda é importante e necessária para investigar possíveis tratamentos com pacientes de diversas patologias. Para pesquisas futuras sobre enriquecimento ambiental torna-se necessária a realização de estudos de análise histológica, investigar as variáveis morfológicas que podem ser influenciadas pelo enriquecimento ambiental, tais como arborização dendrítica e densidade dos espinhos dendríticos, análise imunohistoquímica cerebral, avaliação de proteínas cerebrais envolvidas na neurotransmissão, bem como pesquisas com células – tronco, em animais submetidos ao *status epilepticus* e também a outros modelos de patologias em humanos.

Financiamento

Essa pesquisa não recebeu suporte financeiro.

Conflitos de interesse

Os autores declaram nenhum conflito de interesse.

Referências

- Salposky RM. Stress and plasticity in the limbic system. *Neurochemical Research*. 2003;28(11):1735-1742.
- Nithianantharajah J, Hannan AJ. Enriched environments, experience-dependent plasticity and disorders of the nervous system. *Nature Reviews Neuroscience*. 2006;7:697-709.
- Krech D, Rosenzweig MR, Bennett EL. Relations between brain chemistry and problem – solving among rats raised in enriched and impoverished environments. *Journal comparative physiology and psychology*. 1962;55:801-807.
- Gardner EB, Boitano JJ, Mancino NS, D'Amico DP. Environmental enrichment and deprivation: effects of learning, memory and extinction. *Physiology Behavior*. 1975;14:321-327.
- Fares RP, Belmeguenai A, Sanchez PE, Kouchi HY, Bodennec J, Morales A, et al. Standardized Environmental Enrichment Supports Enhanced Brain Plasticity in Healthy Rats and Prevents Cognitive Impairment in Epileptic Rats. *PLoS ONE*. 2013;8(1):1-21. doi:10.1371/journal.pone.0053888
- Yang M, Ozturk E, Salzberg MR, Rees S, Morris M, O'Brien TJ, et al. Environmental enrichment delays limbic epileptogenesis and restricts pathologic synaptic plasticity. *Epilepsia*. 2016;57(3):484-494.
- Scorza FA, Sander JW, Cendes F, Arida RM, Cavalheiro EA. A possible role of the thalamus in some cases of sudden unexpected death in epilepsy. *Epilepsia*. 2007;48(5):1036-1037.
- Engel JR. A proposed diagnostic scheme for people with epileptic seizure and with epilepsy: report of the ILAE task force on classification and terminology. *Epilepsia*. 2001; 42:796-803.
- Guerreiro CAM, Guerreiro MM, Cendes F, Lopes-Cendes I. **Considerações gerais**. In: *Epilepsia*, 3ª edição, São Paulo: Lemos Editorial, 2000:1-10.
- Grünpun H. *Distúrbios Psiquiátricos da criança*. 3. Ed. Rio de Janeiro: Livraria Atheneu, 1978:532.
- Melo AN, Nunes ML, Yacubian EMT. Crises epiléticas e epilepsias ao longo da vida: 100 questões práticas. São Paulo: Segmento Farma ed.1ª, 2006:92.
- Stafstrom EC. Neurobiological mechanisms of developmental epilepsy: translating experimental findings into clinical application. *Seminars in Pediatric Neurology*. 2007;14:164-172.
- Oliveira, D. L. Efeitos comportamentais e neuroquímicos do Status Epilepticus induzido por LiCl-pilocarpina em ratos jovens. Tese (doutorado em ciências Biológicas- Bioquímica). Universidade Federal do Rio Grande do Sul- UFRGS. Porto alegre, 2008:89.

14. Turski, W. A; Cavalheiro, E. A; Schwarz, M; Czuczwar, S. J; Kleinrok, Z; Turski, L. Limbic seizures produced by pilocarpine in rats: behavioural, electroencephalographic and neuropathological study. *Behavior Brain Research*. 1983;9:315-335.
15. Sanabria ERG, Cavalheiro EA. Epileptogenese: *contribuição dos modelos experimentais*. In: guerreiro, C. A. M; Guerreiro, M. M; Cendes, F; Lopes-Cendes, I. *Epilepsia*, 3ª edição, São Paulo: Lemos Editorial, 2000:29-57.
16. Leary JB, Bondi CO, LaPorte MJ, Carlson LJ, Radabaugh HL, Cheng JP, et al. The Therapeutic Efficacy of Environmental Enrichment and Methylphenidate Alone and in Combination after Controlled Cortical Impact Injury. *Journal of neurotrauma*. 2017; 34:444–450.DOI: 10.1089/neu.2016.4438
17. Greifzua F, Pielecka-Fortunaa J, Kalogerakia E, Kremplerb K, Favaroc PD, Schlüterc OM, et al. Environmental enrichment extends ocular dominance plasticity into adulthood and protects from stroke-induced impairments of plasticity. *PNAS*. 2014;111(3)1150–1155.
18. Kreckek J, Kreckova J. “[Development of control of water metabolism. III. Preference in water and milk selection by young rats.]” *Cesk Fysiol*, 1957; 6 (1):14-21.
19. Faverjon S, et al. Beneficial effects of enriched environment following status epilepticus in immature rats. *Neurology*. 2002;59:1356-1364.
20. Sankar R, Shin DH, Liu H, Mazarati A, Pereira de Vasconcelos A, WasterLain CG. Patterns of status epilepticus-induced neuronal injury during development and long term consequences. *Journal Neuroscience*. 1998;18: 8382-8393.
21. BRASIL. Guia Brasileiro de Boas Práticas em Eutanásia em Animais - Conceitos e Procedimentos Recomendados - Brasília, 2012.
22. Kempermann G, Gage FH. Experience-dependent regulation of adult hippocampal neurogenesis: effects of long term stimulation and stimulus withdrawal. *Hippocampus*. 1999;9(3):321-332.
23. Cavalheiro EA, Santos NF, Priel MR. The pilocarpine modelo f epilepsy in mice. *Epilepsia*. 1996;37(10): 1015-1019.
24. Iso H; Simoda S, Matsuyama T. Environmental Change during postnatal development alters behaviour, cognitions and neurogenesis of mice. *Behavior Brain Research*. 2007.179(1): 90-98.
25. Dezsi G, Ozturk E, Salzberg MR, Morris M, O'Brien MT, Jones NC. Environmental enrichment imparts disease-modifying and transgenerational effects on genetically-determined epilepsy and anxiety. *Neurobiology of Disease*. 2016;93:129–136.
26. Camozzato T. Efeito do Transplante de Celulas Tronco Mesenquimais e de Células Lisadas da Medula Óssea em Ratos submetidos ao modelo Lítio-Pilocarpina. Tese de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Medicina e Ciências da Saúde/ Área de Concentração em Neurociências. Da Pontifícia Universidade Católica do rio Grande do Sul. 2009 PUCRS. Porto Alegre.
27. Stewart LS, Cortez MA, Snead OC. Environmental Enrichment Improves Behavioral Outcome in the AY-9944 Model of Childhood Atypical Absence Epilepsy. *International Journal of Neuroscience*.2012; 122: 449–457.
28. Bezzina C, Verret L, Halley H, Dahan L, Rampon C. Environmental enrichment does not influence hypersynchronous network activity in the Tg2576 mouse model of Alzheimer’s disease. 2015 *Front. Aging Neurosci*. 7:178. doi: 10.3389/fnagi.2015.00178
29. Dezsi G, Ozturk E, Salzberg MR, Morris M, O'Brien TJ, Jones NC. Environmental enrichment imparts disease-modifying and transgenerational effects on genetically-determined epilepsy and anxiety. *Neurobiology of Disease*, 1 September 2016;93:129-136.
30. Sharma B, Tomaszczyk J, Colella B, Noack G, Green R. The use of environmental enrichment interventions for patients with moderate to severe traumatic brain injury. *Brain injury* 2014;28 5-6, 849-850.