

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”  
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS  
DEPARTAMENTO DE PRINCÍPIOS ATIVOS NATURAIS E TOXICOLÓGICOS

**Efeitos imediatos e a longo prazo do isolamento social  
de ratos adolescentes sobre a função cardiovascular.**

Luiz Felipe Viana Hummel

Araraquara - SP

2011

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”  
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS  
DEPARTAMENTO DE PRINCÍPIOS ATIVOS NATURAIS E TOXICOLÓGICOS

## **Efeitos imediatos e a longo prazo do isolamento social de ratos adolescentes sobre a função cardiovascular.**

Luiz Felipe Viana Hummel

Monografia apresentada ao conselho de curso de graduação em Farmácia-Bioquímica como pré-requisito obrigatório para a obtenção do grau de bacharel em Farmácia-Bioquímica, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual

*Paulista “Júlio de Mesquita Filho”.*

Orientador: Prof. Dr. Carlos Cesar Crestani

Araraquara - SP

2011

## AGRADECIMENTOS

Ao considerar tudo o que se passou para que este trabalho estivesse concluído, muitas das pessoas que estiveram presentes em minha vida influenciaram no resultado final desta monografia.

Agradeço especialmente:

Aos meus pais, Paulo e Luciana, por todo o apoio que me foi dado durante toda a caminhada que fiz durante minha vida, pelo amor e atenção que sempre tiveram comigo ao longo da minha vida e principalmente nos últimos cinco anos em que estive longe de casa.

Às minhas irmãs, Ana Luiza e Ana Paula, que sempre souberam me alegrar quando estive triste e sempre foram ótimas companheiras quando precisei.

Ao Professor Carlos, por todo o apoio, pelos ensinamentos e pela seriedade com que encarou este trabalho.

Aos amigos que dividiram sua vida comigo, morando juntos e fazendo com que tudo fosse melhor aproveitado durante os últimos 5 anos.

Ao grande amigo Matheus, que me acompanhou desde o começo dessa jornada de 5 anos, tornando tudo mais agradável

Às técnicas de laboratório Beth e Rô, por tudo que me foi ensinado e pela grande ajuda.

Aos colegas de laboratório Rodrigo, Tarciso e Fábio, que além da grande ajuda, tornaram mais divertido todos os experimentos.

Aos colegas de sala, que acompanharam minha jornada desde o início, e tornaram tudo muito mais fácil. Em especial à Cyntia, Ligia, Luciano, Maíra, Milena, Naiana e Renato "2mol2".

À professora Adélia, por sua ajuda e amizade, que sempre me foram muito valiosas.

## SUMÁRIO

RESUMO .....	7
LISTA DE FIGURAS E TABELAS .....	9
I. INTRODUÇÃO .....	11
II. OBJETIVOS .....	14
III. MATERIAIS E MÉTODOS .....	14
3.1. Animais .....	14
3.2. Canulação da artéria e veia femoral .....	15
3.3. Registro da pressão arterial e frequência cardíaca .....	15
3.4. Avaliação da atividade barorreflexa .....	16
3.5. Soluções e drogas .....	17
3.6. Análise estatística .....	17
IV. PROTOCOLOS EXPERIMENTAIS .....	17
4.1. Grupos experimentais e isolamento social .....	17
4.2. Procedimento experimental .....	18
V. RESULTADOS .....	19

5.1. Efeito imediato e tardio do isolamento social durante a adolescência sobre o peso corporal, do coração e dos rins .....	19
5.2. Efeito imediato e tardio do isolamento social durante a adolescência sobre parâmetros basais de pressão arterial média, sistólica, diastólica e frequência cardíaca.....	23
5.3. Efeito imediato e tardio do isolamento social durante a adolescência sobre a resposta bradicárdica e taquicárdica do barorreflexo. ....	26
VI. DISCUSSÃO .....	31
VII. CONCLUSÕES .....	35
VIII. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	36

## RESUMO

A interação social é um importante fator ambiental que pode influenciar funções fisiológicas. Estudos em humanos e animais têm demonstrado que períodos de isolamento social, principalmente em fases iniciais da vida, estão associados com alterações na função cardiovascular. Entretanto, os mecanismos relacionados com estas alterações ainda são pouco compreendidos. Estudos têm sugerido que alterações na atividade do barorreflexo pode ser um mecanismo importante relacionado com a hipertensão, além de ser um fator de risco para o desenvolvimento de arritmias e morte súbita em diversas patologias cardiovasculares. Diante disso, o objetivo do presente estudo foi investigar os efeitos imediatos e a longo prazo do isolamento social de ratos adolescentes sobre parâmetros cardiovasculares basais e a atividade do barorreflexo.

O isolamento social consistiu na manutenção dos animais em caixas individuais por três semanas, do dia pós-natal 27 ao 42. Em um conjunto de animais os experimentos foram realizados imediatamente após o término do isolamento. Outro grupo de animais foi reagrupado em caixas coletivas, em grupos de quatro animais, após o término do isolamento e mantidos nesta condição por outras três semanas. Os grupos controle foram mantidos em caixas coletivas, em grupos de 4 animais, no mesmo biotério e pelo mesmo período que os animais isolados.

Os animais apresentaram peso corporal reduzido após o período de isolamento social, e este efeito não foi revertido após ressociação dos animais. O isolamento social também elevou os parâmetros basais de pressão arterial, mas este efeito foi revertido após o reagrupamento dos animais. O isolamento aumentou a resposta bradicárdica do barorreflexo desencadeada por aumento da pressão arterial, a qual foi

induzida pela infusão intravenosa de fenilefrina. Também houve facilitação da resposta taquicárdica reflexa desencadeada por redução da pressão arterial, a qual foi induzida pela infusão intravenosa de nitroprussiato de sódio. O efeito sobre a taquicardia reflexa foi revertida após ressocialização dos animais, mas o efeito sobre a resposta bradicárdica do barorreflexo foi observado na idade adulta após reagrupamento dos ratos.

Assim, o presente estudo fornece evidências de como o ambiente social em períodos iniciais da vida interfere com a função fisiológica do organismo. Nossos resultados indicam que a ausência crônica de interação social durante a adolescência eleva os parâmetros basais de pressão arterial, e este efeito é acompanhado de facilitação do controle barorreflexo da frequência cardíaca. O efeito sobre a pressão arterial é totalmente revertido após ressocialização dos animais, e a alteração da atividade barorreflexa é parcialmente revertida. Os efeitos do isolamento social sobre a função cardiovascular são similares àqueles observados após exposição a outros protocolos de estresse psicológico crônico. Deste modo, este modelo pode ser relevante para o estudo de patologias cardiovasculares associadas ao estresse psicossocial.

## LISTA DE FIGURAS E TABELAS

- Figura 1: Peso corporal e peso relativo (peso do órgão/peso corporal) do coração e rins de animais jovens e adultos, que foram mantidos em isolamento social por três semanas durante a adolescência.....22
- Figura 2: Pressão arterial média (PAM), diastólica (PAD), sistólica (PAS) e frequência cardíaca (FC) de animais jovens e adultos, que foram mantidos em isolamento social por três semanas durante a adolescência.....25
- Figura 3: (Superior) Análise de regressão linear do barorreflexo correlacionando variações da pressão arterial média ( $\Delta$ PAM) com a resposta reflexa de frequência cardíaca ( $\Delta$ FC) em animais jovens e adultos, que foram mantidos em isolamento social por três semanas durante a adolescência. (Inferior) Inclinação das curvas de regressão linear (Ganho) e resposta máxima de frequência cardíaca ( $\Delta$ FC) durante elevação da pressão arterial em animais jovens e adultos, que foram mantidos em isolamento social por três semanas durante a adolescência.....26
- Figura 4: (Superior) Análise de regressão linear do barorreflexo correlacionando variações da pressão arterial média ( $\Delta$ PAM) com a resposta reflexa de frequência cardíaca ( $\Delta$ FC) em animais jovens e adultos, que foram mantidos em isolamento social por três semanas durante a adolescência. (Inferior) Inclinação das curvas de regressão linear (Ganho) e resposta máxima de frequência cardíaca ( $\Delta$ FC) durante redução da pressão arterial em animais jovens e adultos, que foram mantidos em isolamento social por três semanas durante a adolescência.....30



Tabela 1: Peso corporal, do coração e dos rins de ratos jovens e adultos mantidos em isolamento social por três semanas durante a adolescência.....	21
Tabela 2: Pressão arterial média (PAM), sistólica (PAS), diastólica (PAD) e frequência cardíaca em animais jovens e adultos, que foram mantidos em isolamento social por três semanas durante a adolescência.....	24
Tabela 3: Inclinação das curvas de regressão linear para a resposta bradicárdica (ganho bradicardia) e taquicárdica (ganho taquicardia) do barorreflexo e bradicardia (bradicardia máxima) e taquicárdica (taquicardia máxima) reflexa máxima em animais jovens e adultos, que foram mantidos em isolamento social por três semanas durante a adolescência.....	28

## I. INTRODUÇÃO

Estudos têm fornecido evidências que correlacionam fatores psicossociais com a patogênese de doenças cardiovasculares (KNOX; UVNÄS-MOBERG, 1998; ROZANSKI et al, 1999). Neste sentido, estudos epidemiológicos têm apontado correlação positiva na ocorrência de estresses sociais e ambientais, bem como de transtornos psiquiátricos, e a incidência de patologias cardiovasculares (HAINES et al, 1987; KAWACHI et al, 1994; FORD et al, 1998; KNOX; UVNÄS-MOBERG, 1998). Apesar da importância do tema, os mecanismos fisiopatológicos que relacionam fatores psicossociais com doenças cardiovasculares ainda são pouco compreendidos.

A interação social é um importante fator ambiental que pode afetar funções comportamentais e fisiológicas. O isolamento social, a separação materna, o estresse de derrota social e o estresse de subordinação são modelos experimentais com validade etológica para estudos pré-clínicos do efeito de alterações no ambiente social sobre o organismo (FONE & PORKESS, 2008; MICZEK et al, 2008). Estudos em animais têm demonstrado que períodos de isolamento social estão associados com alterações comportamentais e fisiológicas, que incluem: comprometimento no processo de aprendizagem e memória, aumento nos comportamentos relacionados à ansiedade e atividade locomotora, alterações nos níveis plasmáticos do hormônio adrenocorticotrófico e glicocorticóides, aumento nos parâmetros basais de pressão arterial e frequência cardíaca, hipertrofia cardíaca e aórtica, alteração no balanço autonômico cardíaco e hiperresponsividade a estímulos aversivos, (GARDINER;

BENNETT, 1983; GAMALLO et al, 1986; CARLIER et al, 1988; SÁNCHEZ et al, 1998; HELLEMANS et al, 2004; WEISS et al, 2004; GRIPPO et al, 2007).

A juventude é um período importante para o desenvolvimento do organismo. Episódios adversos neste período, como estresse psicossocial, causam alterações importantes em aspectos comportamentais, neuroquímicos e em funções fisiológicas (SÁNCHEZ et al, 1998; SHEN; INGENITO, 1999; FONE; PORKESS, 2008). Neste sentido, foi relatado que o isolamento social de animais após o desmame aumentou comportamentos de ansiedade e atividade locomotora, reduziu o processo de memória e aprendizagem e alterou os níveis plasmáticos de glicocorticóides (Parker; Morinan, 1986; SÁNCHEZ et al, 1998; VARTY et al, 2000; HELLEMANS et al, 2004; MASLOVA et al, 2010). Foi relatado o desenvolvimento de hipertensão moderada em animais jovens submetidos ao isolamento social (SHEN; INGENITO, 1999; MASLOVA et al, 2010). Diante disso, apesar dos resultados acima fornecerem evidências importantes de alterações fisiológicas associadas ao isolamento social durante as fases iniciais da vida, os mecanismos fisiopatológicos relacionados com os efeitos sobre o sistema cardiovascular ainda são pouco compreendidos. Além disso, tem sido proposto que situações de estresse vivenciadas em períodos iniciais da vida podem afetar as funções fisiológicas e o estado emocional durante a vida adulta. Entretanto, as conseqüências a longo prazo do isolamento social durante as fases iniciais da vida sobre a função cardiovascular foram pouco estudadas.

Em ratos, tem sido proposto que a transição da juventude para a vida adulta ocorra por volta do dia pós-natal 42 (SPEAR; BRAKE, 1983). Adolescência tem sido definida como o período ontogenético entre os dias pós-natal 28 e 42 (SPEAR;

BRAKE, 1983; SPEAR, 2000), período no qual estes animais apresentam características neuro-comportamentais típicas da adolescência. Este modelo animal de adolescência tem sido demonstrado como uma ferramenta válida como proposta de comparação e extrapolação para a adolescência em humanos (SPEAR; BRAKE, 1983; LAVIOLA et al, 1999; SPEAR, 2000). Tem sido proposto que as alterações comportamentais e fisiológicas associadas com o isolamento social só são completamente observadas quando o procedimento é iniciado entre os dias pós-natal 21 e 28, no qual é um período crítico na puberdade destes animais. Além disso, as alterações comportamentais relacionadas com o isolamento social não são totalmente observadas quando o procedimento é realizado em animais adultos (FONE; PORKESS, 2008). Tem sido usado protocolos que variam de 1 a 12 semanas de isolamento para estudo dos efeitos do isolamento social sobre a atividade cardiovascular (CARLIER et al, 1988; BLANC et al, 1997; GRIPPO et al, 2007; MARLOVA et al, 2010). No presente estudo, os animais foram isolados do dia pós-natal 21 ao 42.

O barorreflexo é um mecanismo neural de controle momento a momento da pressão arterial (DAMPNEY, 1994). Barorreceptores são terminações nervosas localizadas nas paredes das artérias aorta e da carótida, que respondem a alteração na pressão arterial (SVED; GORDON, 1994). Alterações na atividade dos barorreceptores fornecem informações ao sistema nervoso central acerca dos níveis sistêmicos de pressão arterial, o qual leva a respostas reflexas de frequência cardíaca e resistência periférica, com o objetivo de manutenção da pressão arterial em uma estreita faixa de variação (SVED; GORDON, 1994). Estudos têm demonstrado que redução na atividade deste mecanismo é comum em modelos experimentais de

hipertensão e em indivíduos com hipertensão essencial (BRISTOW et al, 1969; IRIGOYEN; KRIEGER, 1998). Além disso, diminuição na atividade do barorreflexo tem sido apontada como um fator de risco para o desenvolvimento de arritmias e morte súbita em diversas patologias cardiovasculares (FARRELL et al, 1991; TAKASE et al, 1992). Apesar da importância do barorreflexo no controle da atividade cardiovascular, e seu envolvimento na fisiopatologia de distúrbios cardiovasculares, o efeito do isolamento social na atividade deste mecanismo reflexo cardiovascular nunca foi investigado.

Diante do exposto, o presente estudo testou a hipótese de que o isolamento social de ratos durante a juventude desencadeia alterações nos parâmetros cardiovasculares basais e na atividade do barorreflexo; e estas alterações permanecem, mesmo após ressocialização, até a fase adulta.

## **II. OBJETIVOS**

- Investigar os efeitos imediatos e a longo prazo do isolamento social de ratos durante a juventude sobre parâmetros cardiovasculares basais e a atividade do barorreflexo.

### **III. MATERIAIS E MÉTODOS**

#### **3.1 Animais**

Foram utilizados ratos Wistar provenientes do Biotério Central da Universidade Estadual Paulista. Os animais foram transferidos para o biotério do laboratório de farmacologia do Departamento de Princípios Ativos Naturais e Toxicologia - UNESP imediatamente após o desmame (dia pós-natal 21), e foram mantidos por sete dias em condições controladas de temperatura ( $23 \pm 2^\circ\text{C}$ ) e luz (ciclo 12/12 horas, luzes acesas às 7h), com livre acesso a alimento e água. Todos os procedimentos experimentais foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara (FCF/UNESP).

#### **3.2 Canulação da artéria e veia femoral**

Vinte e quatro horas antes dos experimentos, os animais foram anestesiados com tribromoetanol na dose de 250 mg/Kg (i.p.), e foi implantado um cateter (um segmento de 4 cm de tubo de polietileno PE-10 soldado a um segmento de 13 cm de tubo de polietileno PE-50) (Clay Adams, Parsippany, NJ, EUA) na artéria para registro da pressão arterial e frequência cardíaca. Outro cateter foi implantado na veia femoral para infusão das drogas vasoativas. Após implantação dos cateteres, estes foram exteriorizados na região dorsal do animal e fixados à pele por sutura cirúrgica. Todos os animais foram mantidos em caixas individuais após a cirurgia. Como medida profilática, após a cirurgia, os animais receberam 80.000 UI de Pentabiótico Veterinário

(Fontoura-Wyeth, Brasil) aplicados em 0,2 mL (i.m.). Os animais também receberão 2,5 mg/ kg (s.c.) do analgésico não-esteroidal flunexina meglumina (Banamine®, Schering Plough, Brazil).

### **3.3 Registro da pressão arterial e frequência cardíaca**

O cateter implantado na artéria femoral foi conectado a um transdutor de pressão. A pressão arterial pulsátil foi registrada utilizando um amplificador (Bridge Amp, ML221, ADInstruments), conectado a um sistema de aquisição de dados computadorizado (PowerLab 4/30, ML866, ADInstruments), usando um programa apropriado (Lab Chart PRO, ADInstruments). Os valores de pressão arterial média, sistólica e diastólica, bem como a frequência cardíaca foram derivadas dos sinais de pressão arterial pulsátil.

### **3.4 Avaliação da atividade barorreflexa**

O barorreflexo foi testado através da infusão intravenosa de fenilefrina (70µg/mL/kg a 0.4 mL/min), agonista seletivo dos adrenocetores  $\alpha_1$ , ou de nitroprussiato de sódio (100µg/mL/kg a 0.8 mL/min), doador de óxido nítrico, utilizando uma bomba de infusão (K.D. Scientific, EUA) (CRESTANI et al, 2006). A fenilefrina e o nitroprussiato de sódio causam, respectivamente, aumento e redução na pressão arterial. As infusões das drogas vasoativas foram randomizadas e duraram 20-30 segundos, o que resultou na injeção de uma dose total de 10-14 µg/Kg de fenilefrina e 27-40 µg/Kg de nitroprussiato de sódio.



A análise foi feita relacionando a variação de pressão arterial média (10, 20, 30 e 40 mmHg) com a variação reflexa correspondente da frequência cardíaca. Utilizando os pontos obtidos da correlação na variação da pressão arterial e frequência cardíaca foram traçadas curvas de regressão linear para as respostas de frequência cardíaca durante o efeito pressor e depressor na pressão arterial (KORNER et al, 1972; CRESTANI et al, 2006 e 2010b). As inclinações das curvas (ganho) e as alterações máximas de frequência cardíaca foram utilizadas para determinação da atividade do barorreflexo.

### **3.5 Soluções e drogas**

Fenilefrina (Sigma, St Louis, MO, EUA) e nitroprussiato de sódio (Sigma) foram dissolvidos em salina (NaCl 0,9%). O pentabiótico (Fontoura-Wyeth, Brasil) e o anti-inflamatório flunexina meglumine (Banamine®, Schering Plough, Brazil) foram utilizados como fornecido pelos fabricantes.

### **3.6 Análise estatística**

Os dados foram expressos como média  $\pm$  erro padrão da média (EPM). Os valores de pressão arterial e frequência cardíaca basais, bem como os parâmetros das curvas do barorreflexo foram analisadas utilizando análise de variância (ANOVA) bifatorial, com condição (controle vs isolado) e idade (jovens e adultos) como fatores independentes. Quando interações entre os fatores foram observadas, os grupos foram comparados utilizando o teste *post-hoc* de Bonferroni.

## **IV. PROTOCOLOS EXPERIMENTAIS**

### **4.1 Grupos experimentais e isolamento social**

Os animais foram divididos em quatro grupos experimentais: (I) controle jovem (n=8), (II) isolado jovem (n=7), (III) controle adulto (n=6) e (IV) isolado adulto (n=8). Os animais submetidos ao protocolo de isolamento social foram mantidos em caixas plásticas individuais (30 Comp. x 20 Larg x 15 Alt.) por três semanas, do dia pós-natal 27 ao 42. Os animais controle foram mantidos em caixas coletivas (50 Comp. x 40 Larg x 20 Alt.), em grupos de 4 animais, pelo mesmo período que os animais isolados. Os animais criados isolados e em caixas coletivas foram mantidos na mesma sala, de maneira que os ratos isolados mantinham contato visual, auditivo e olfativo com os demais animais (FONE; PORKESS, 2008; MARTÍN et al, 2010).

Os animais do grupo isolado adulto foram transferidos para caixas coletivas, em grupos de 4 animais, após as três semanas de isolamento durante a adolescência, e foram mantidos nesta condição por outras três semanas.

### **4.2 Procedimento experimental**

Os animais dos grupos controle jovem e isolado jovem foram submetidos à cirurgia para implantação de cateteres na artéria e veia femoral no último dia de isolamento. Os experimentos foram realizados 24 horas após o procedimento cirúrgico. Este protocolo objetivou investigar os efeitos imediatos do isolamento social.

Os animais do grupo isolado adulto e controle adulto foram submetidos à cirurgia para implantação de cateteres na artéria e veia femoral após período de ressocialização de 3 semanas, e os experimentos foram realizados 24 horas

após. Estes grupos tiveram o objetivo de investigar os efeitos a longo prazo do isolamento social durante a adolescência.

No dia do experimento, os animais foram transferidos para a sala de experimento e mantidos por 60 minutos, para habituação às condições de som e iluminação, antes do início dos experimentos. Em seguida, os animais foram conectados ao sistema de registro cardiovascular, e foi realizado registro dos parâmetros basais de pressão arterial e frequência cardíaca por 30 minutos. Todos os animais receberam infusão de fenilefrina e nitroprussiato de sódio, de maneira randomizada, para estudo da atividade do barorreflexo. Após o término dos experimentos, todos os animais foram sacrificados e o coração e os rins foram removidos e pesados.

## V. RESULTADOS

### 5.1 Efeito imediato e a longo prazo do isolamento social durante a adolescência sobre o peso corporal, do coração e dos rins.

A análise dos dados de peso corporal indicou efeito significativo do isolamento ( $F_{(1,25)}=18$ ,  $P<0.0003$ ) e da idade ( $F_{(1,25)}=20$ ,  $P<0.0002$ ), mas não demonstrou interação entre os fatores ( $F_{(1,25)}=0.2$ ,  $P>0.05$ ). Análise *post-hoc* indicou que o isolamento social durante a adolescência reduziu o peso corporal tanto dos animais jovens ( $P<0.01$ ) quanto dos adultos ( $P<0.05$ ), quando comparado com os respectivos grupos controle (Figura 1 e Tabela 1).

A análise do peso absoluto do coração não indicou efeito do isolamento ( $F_{(1,25)}=2$ ,  $P>0.05$ ), mas mostrou efeito da idade ( $F_{(1,25)}=147$ ,  $P<0.0001$ ). Análise do peso relativo do coração também não demonstrou efeito do isolamento ( $F_{(1,25)}=0.6$ ,  $P>0.05$ ), mas indicou efeito da idade ( $F_{(1,25)}=58$ ,  $P<0.0001$ ) (Tabela 1 e Figura 1).

A análise do peso absoluto dos rins não indicou efeito do isolamento ( $F_{(1,25)}=3$ ,  $P>0.05$ ), mas mostrou efeito da idade ( $F_{(1,25)}=176$ ,  $P<0.0001$ ). Análise do peso relativo dos rins também não demonstrou efeito do isolamento ( $F_{(1,25)}=0.6$ ,  $P>0.05$ ), mas indicou efeito da idade ( $F_{(1,25)}=50$ ,  $P<0.0001$ ) (Tabela 1 e Figura 1).

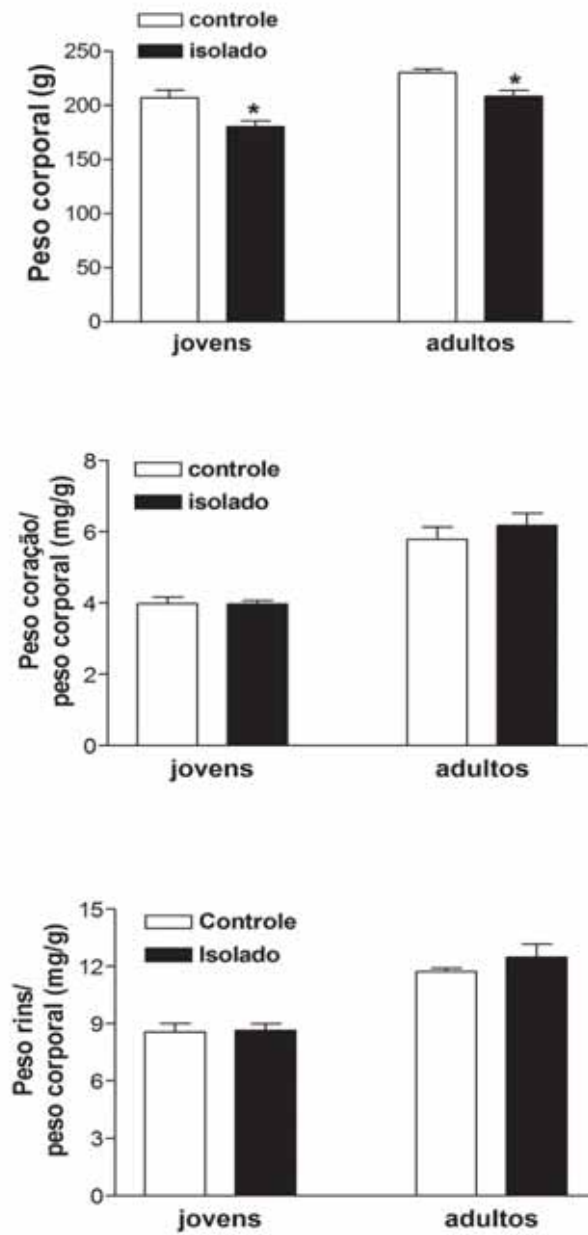
**Tabela 1-** Peso corporal, do coração e dos rins de ratos jovens e adultos mantidos em isolamento social por três semanas durante a adolescência.

Grupo		Peso corporal (g)	Coração		Rim	
			Peso absolute (mg)	Peso relative <sup>a</sup>	Peso absolute (mg)	Peso relativo <sup>a</sup>
<b>Jovem</b>						
Controle	n=8	207±6	814±21	3.9±0.2	1812±78	8.5±0.5
Isolado	n=7	180±5*	714±12	3.9±0.1	1557±68	8.7±0.3
<b>Adulto</b>						
Controle	n=6	230±3	1333±81	5.7±0.3	2700±44	11.7±0.2
Isolado	n=8	207±5*	1300±53	6.2±0.3	2662±84	12.4±0.6

Valores são a média ± EPM

<sup>a</sup> Peso do órgão (mg) / peso corporal (g)

\*  $P < 0.05$  vs respectivo controle. ANOVA bifatorial acompanhado do teste *post hoc* de Bonferroni.



**Figura 1** - Peso corporal e peso relativo (peso do órgão/peso corporal) do coração e rins de animais jovens e adultos, que foram mantidos em isolamento social por três semanas durante a adolescência. \* $P < 0.05$  vs respectivo controle, ANOVA bifatorial acompanhado do teste *post hoc* de Bonferroni.

## 5.2 Efeito imediato e tardio do isolamento social durante a adolescência sobre os parâmetros basais de pressão arterial média, sistólica, diastólica e frequência cardíaca.

A análise dos parâmetros basais de pressão arterial média indicou significativo efeito do isolamento ( $F_{(1,25)}=12$ ,  $P<0.002$ ) e interação entre os fatores ( $F_{(1,25)}=6$ ,  $P<0.02$ ), porém sem efeito da idade ( $F_{(1,25)}=2$ ,  $P>0.05$ ). Análise *post-hoc* indicou que o isolamento social durante a adolescência elevou a pressão arterial média nos animais jovens ( $P<0.001$ ), mas este efeito foi revertido nos animais adultos após ressocialização ( $P>0.05$ ) (Figura 2 e Tabela 2).

A análise pressão arterial diastólica indicou efeito significativo do isolamento ( $F_{(1,25)}=6$ ,  $P<0.02$ ), da idade ( $F_{(1,25)}=6$ ,  $P<0.02$ ) e uma interação entre os fatores ( $F_{(1,25)}=9$ ,  $P<0.005$ ). Análise *post-hoc* indicou que o isolamento social durante a adolescência elevou a pressão arterial diastólica nos animais jovens ( $P<0.001$ ), mas este efeito foi revertido nos animais adultos após ressocialização ( $P>0.05$ ) (Figura 2 e Tabela 2).

Foi observado significativo efeito do isolamento ( $F_{(1,25)}=8$ ,  $P<0.01$ ) e interação entre os fatores ( $F_{(1,25)}=5$ ,  $P<0.03$ ), porém sem efeito da idade ( $F_{(1,25)}=3$ ,  $P>0.05$ ) nos parâmetros basais de pressão arterial sistólica. Análise *post-hoc* indicou que o isolamento social durante a adolescência elevou a pressão arterial sistólica nos animais jovens ( $P<0.001$ ), mas este efeito foi revertido nos animais adultos após ressocialização ( $P>0.05$ ) (Figura 2 e Tabela 2).

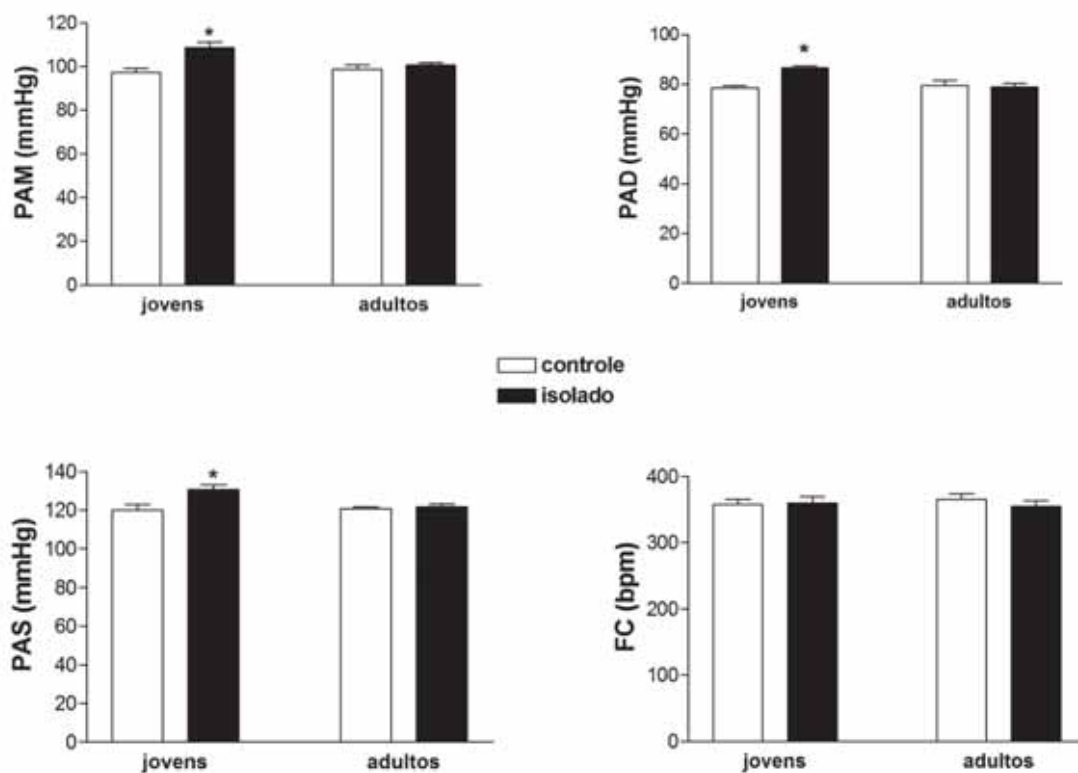
**Tabela 2** – Pressão arterial média (PAM), sistólica (PAS), diastólica (PAD) e frequência cardíaca em animais jovens e adultos, que foram mantidos em isolamento social por três semanas durante a adolescência.

<b>Group</b>	<b>PAM (mmHg)</b>	<b>PAS (mmHg)</b>	<b>PAD (mmHg)</b>	<b>FC (bpm)</b>
<b>Jovens</b>				
Controle	98±2	119±3	78±1	357±8
Isolado	108±3*	130±2*	87±1*	359±9
<b>Adultos</b>				
Controle	99±2	120±1	79±3	365±8
Isolado	100±1	121±2	78±2	354±8

Valores são a média ± EPM

\*  $P < 0.05$  vs respectivo controle. ANOVA bifatorial acompanhado do teste *post hoc* de Bonferroni.





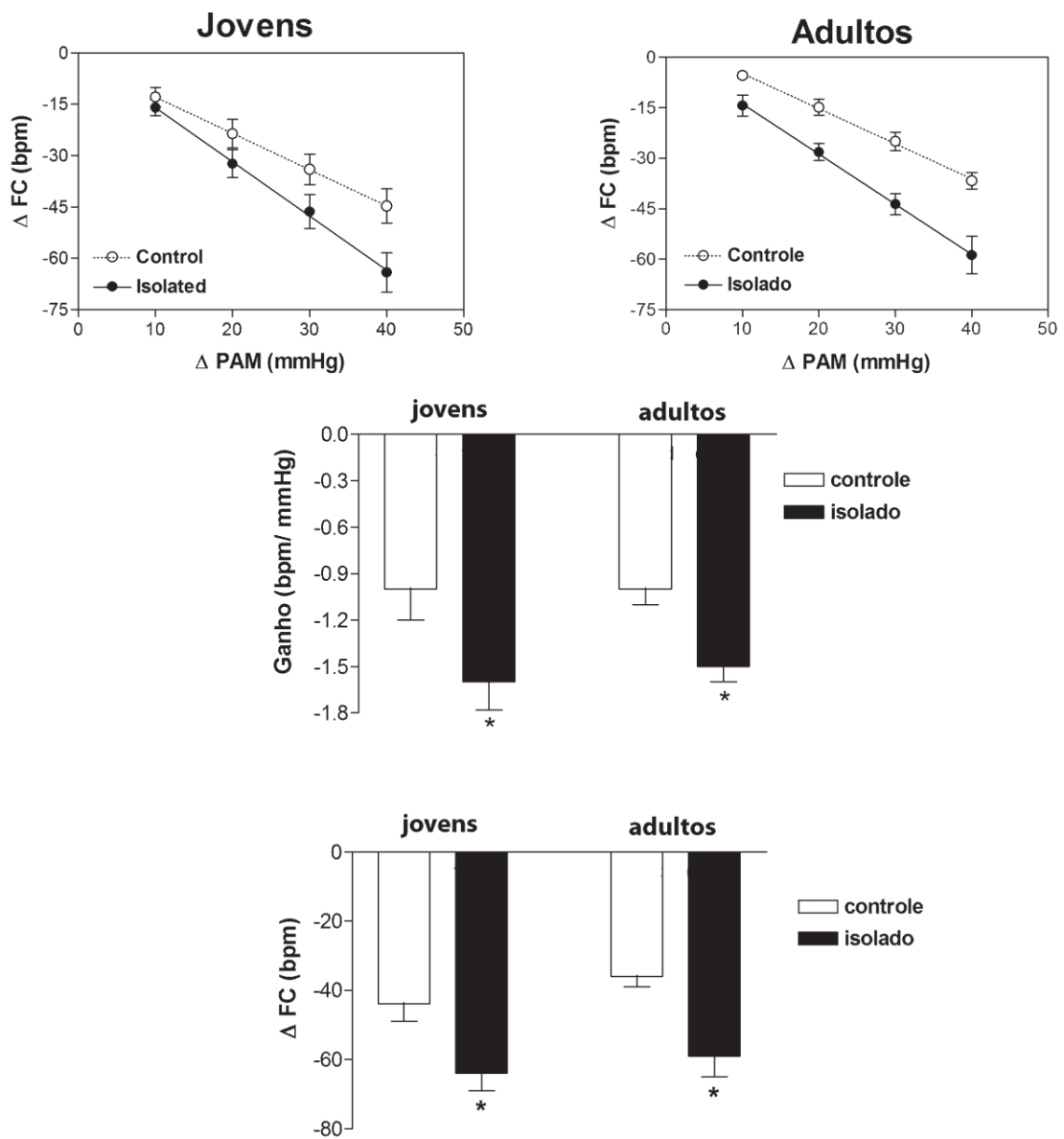
**Figura 2** – Pressão arterial média (PAM), diastólica (PAD), sistólica (PAS) e frequência cardíaca (FC) de animais jovens e adultos, que foram mantidos em isolamento social por três semanas durante a adolescência. \*P<0.05 vs respectivo controle, ANOVA bifatorial acompanhado do teste *post hoc* de Bonferroni.

A análise dos parâmetros basais de frequência cardíaca não indicou efeito do isolamento ( $F_{(1,25)}=0.2$ ,  $P>0.05$ ) e da idade ( $F_{(1,25)}=0.02$ ,  $P>0.05$ ) (Figura 2 e Tabela 2).

### **5.3 Efeito imediato e tardio do isolamento social durante a adolescência sobre a resposta bradicárdica e taquicárdica do barorreflexo.**

A análise do ganho da resposta bradicárdica desencadeada por aumento da pressão arterial indicou significativo efeito do isolamento ( $F_{(1,25)}=12$ ,  $P<0.002$ ), porém sem efeito da idade ( $F_{(1,25)}=0.1$ ,  $P>0.05$ ). Teste *post-hoc* indicou que o isolamento social durante a adolescência aumentou o ganho da resposta bradicárdica do barorreflexo nos animais jovens ( $P<0.05$ ) e adultos ( $P<0.05$ ), quando comparado com os respectivos grupos controle (Figura 3 e Tabela 3).

A análise da resposta máxima de bradicardia também indicou efeito do isolamento ( $F_{(1,25)}=18$ ,  $P<0.0003$ ), porém sem efeito da idade ( $F_{(1,25)}=0.1$ ,  $P>0.05$ ). Teste *post-hoc* indicou que o isolamento social durante a adolescência aumentou a resposta máxima de bradicardia nos animais jovens ( $P<0.05$ ) e adultos ( $P<0.01$ ), quando comparado com os respectivos grupos controle (Figura 3 e Tabela 3).



**Figura 3** - **(Superior)** Análise de regressão linear do barorreflexo correlacionando variações da pressão arterial média ( $\Delta PAM$ ) com a resposta reflexa de frequência cardíaca ( $\Delta FC$ ) em animais jovens e adultos, que foram mantidos em isolamento social por três semanas durante a adolescência. **(Inferior)** Inclinação das curvas de regressão linear (Ganho) e resposta máxima de frequência cardíaca ( $\Delta FC$ ) durante elevação da pressão arterial em animais jovens e adultos, que foram mantidos em isolamento social por três semanas durante a adolescência.

**Tabela 3** – Inclinação das curvas de regressão linear para a resposta bradicárdica (ganho bradicardia) e taquicárdica (ganho taquicardia) do barorreflexo e bradicardia (bradicardia máxima) e taquicárdica (taquicardia máxima) reflexa máxima em animais jovens e adultos, que foram mantidos em isolamento social por três semanas durante a adolescência.

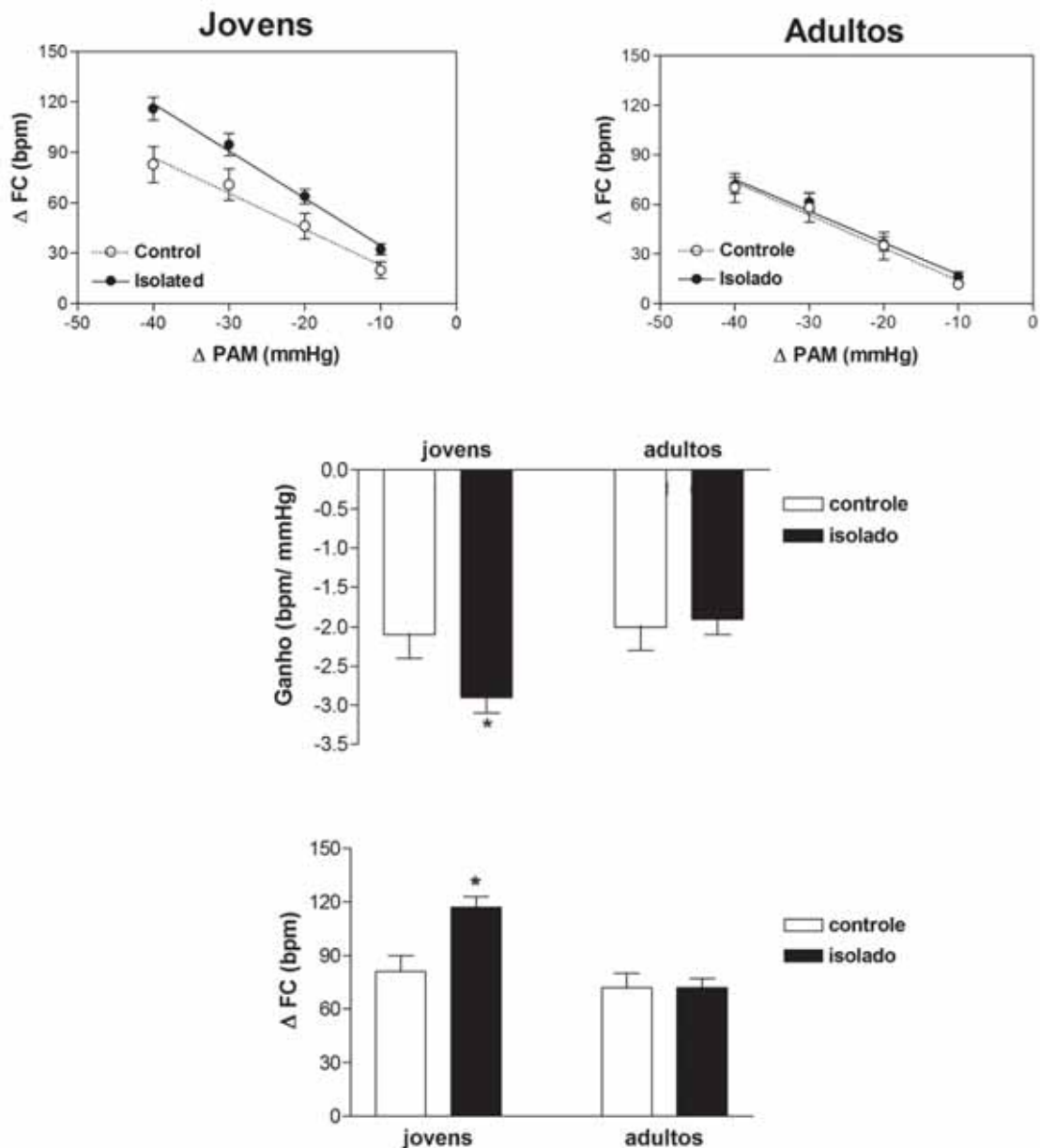
<b>Group</b>	<b>Ganho bradicardia (bpm/mmHg)</b>	<b>Bradicardia a máxima (bpm)</b>	<b>Ganho taquicardia (bpm/mmHg)</b>	<b>Taquicardia máxima (bpm)</b>
<b>Jovens</b>				
Controle	-1.0±0.2	-44±5	-2.0±0.2	81±9
Isolado	-1.6±0.2*	-65±5*	-2.9±0.2*	117±6*
<b>Adultos</b>				
Controle	-1.0±0.1	-36±3	-1.9±0.3	72±8
Isolado	-1.5±0.1*	-59±6*	-2.0±0.2	72±5

Valores são a média ± EPM

\*  $P < 0.05$  vs respectivo controle. ANOVA bifatorial acompanhado do teste *post hoc* de Bonferroni.

A análise do ganho da resposta taquicárdica desencadeada por redução da pressão arterial indicou significativo efeito do isolamento ( $F_{(1,25)}=5$ ,  $P<0.03$ ) e da idade ( $F_{(1,25)}=5$ ,  $P<0.03$ ), porém sem interação entre os fatores ( $F_{(3,25)}=1$ ,  $P>0.05$ ). Teste *post-hoc* indicou que o isolamento social durante a adolescência aumentou o ganho da resposta taquicárdica do barorreflexo nos animais jovens ( $P<0.05$ ), e o efeito foi revertido nos ratos adultos após ressocialização dos animais ( $P>0.05$ ) (Figura 4 e Tabela 3).

A análise da resposta máxima de taquicardia também indicou efeito do isolamento ( $F_{(1,25)}=6$ ,  $P<0.02$ ) e da idade ( $F_{(1,25)}=14$ ,  $P<0.001$ ), porém sem interação entre os fatores ( $F_{(3,25)}=1$ ,  $P>0.05$ ). Teste *post-hoc* indicou que o isolamento social durante a adolescência aumentou a resposta máxima de taquicardia nos animais jovens ( $P<0.01$ ), e o efeito foi revertido nos ratos adultos após ressocialização dos animais ( $P>0.05$ ) (Figura 4 e Tabela 3).



**Figura 4** - **(Superior)** Análise de regressão linear do barorreflexo correlacionando variações da pressão arterial média ( $\Delta$ PAM) com a resposta reflexa de frequência cardíaca ( $\Delta$ FC) em animais jovens e adultos, que foram mantidos em isolamento social por três semanas durante a adolescência. **(Inferior)** Inclinação das curvas de regressão linear (Ganho) e resposta máxima de frequência cardíaca ( $\Delta$ FC) durante redução da pressão arterial em animais jovens e adultos, que foram mantidos em isolamento social por três semanas durante a adolescência. \* $P < 0.05$  vs respectivo controle, ANOVA bifatorial acompanhado do teste *post hoc* de Bonferroni.

## VI. DISCUSSÃO

A questão do estresse psicossocial na patogênese da hipertensão tem sido sujeito de intensa discussão na literatura médica (ROZANSKI et al, 1999; GRIPPO, 2009). No presente estudo, foi observado que o isolamento social dos animais durante a adolescência causou aumento significativo da pressão arterial. Este resultado corrobora dados prévios da literatura mostrando que o isolamento social aumenta a pressão arterial sistólica (GARDINER; BENNETT, 1983; CARLIER et al, 1988; MASLOVA et al, 2010). Outro estudo não observou efeito do isolamento social por oito dias sobre a pressão arterial (BLANC et al, 1997). Diferenças no protocolo experimental podem explicar a diferença. Além disso, o isolamento social foi realizado em animais adultos. Tem sido proposto que as alterações comportamentais e fisiológicas associadas com o isolamento social em ratos só são completamente observadas quando o procedimento é iniciado na primeira semana após o desmame (dia pós-natal 21-28), e não são totalmente observados em animais adultos (FONE; PORKESS, 2008).

Interessantemente, o efeito do isolamento social sobre a pressão arterial foi revertido após a ressocialização dos animais. Este dado contrasta com resultados de Maslova e colaboradores (2010), que relataram que o aumento na pressão arterial sistólica após isolamento social durante a adolescência persistiu até a fase adulta. Diferenças nos procedimentos experimentais podem explicar as diferenças. No estudo por Maslova e colaboradores (2010) a pressão arterial sistólica foi medida em animais anestesiados usando um método esfigmográfico indireto.

Os mecanismos fisiopatológicos envolvidos no aumento da pressão arterial induzido pelo isolamento social não estão totalmente esclarecidos. No presente estudo, nós investigamos o possível envolvimento de alterações na frequência cardíaca basal e na atividade do barorreflexo. Aumento na frequência cardíaca de repouso tem sido descrito em humanos com transtornos afetivos e em modelos animais de depressão (PITZALIS et al, 2001; GRIPPO et al, 2002). No entanto, o isolamento social não alterou os parâmetros basais de frequência cardíaca. Este dado contrasta com resultados prévios que relataram taquicardia de repouso após quatro semanas de isolamento em *Prairie vole* fêmeas adultas (GRIPPO et al, 2007), um roedor altamente sensível ao isolamento social. Os autores reportaram no mesmo estudo que o aumento na frequência cardíaca decorre de uma simpatoexcitação cardíaca associada a uma diminuição no tônus vagal. Diferenças na espécie utilizada e no protocolo de isolamento podem explicar as diferenças entre nossos dados e estes resultados prévios. De qualquer maneira, os dados do presente estudo sugerem que o aumento na pressão arterial não decorre de alterações cronotrópicas cardíacas.

Alterações na atividade do barorreflexo têm sido propostas como um mecanismo fisiopatológico envolvido no desenvolvimento da hipertensão (GRASSI et al, 2006). Neste sentido, diminuição na atividade do barorreflexo tem sido relatado em humanos hipertensos e em modelos animais de hipertensão (IRIGOYEN; KRIEGER, 1998; GRASSI et al, 2006). Além disso, alterações na atividade do barorreflexo têm sido relatadas em humanos com transtornos afetivos (PITZALIS et al, 2001; GRIPPO, 2009). Do nosso conhecimento, este é o primeiro estudo a investigar o efeito do isolamento social sobre a atividade do barorreflexo. Nós observamos aumento na resposta bradicárdica desencadeada pelo aumento na pressão arterial associada à



infusão de fenilefrina, bem como na resposta taquicárdica induzida por queda na pressão arterial associada à infusão de nitroprussiato de sódio. Considerando o possível envolvimento de comprometimentos na atividade do barorreflexo na patogênese da hipertensão, os nossos resultados não suportam o envolvimento de alterações no controle barorreflexo da frequência cardíaca no aumento da pressão arterial desencadeado pelo isolamento social. No entanto, nossos dados sugerem uma facilitação nas respostas cardíacas reflexas após o isolamento social. Nós também observamos que o efeito sobre a resposta taquicárdica do barorreflexo foi revertido após ressocialização dos animais. Por outro lado, o isolamento social durante a adolescência causou alterações a longo prazo na bradicardia reflexa, que foi observada após ressocialização dos animais.

As respostas bradicárdicas e taquicárdicas do barorreflexo são principalmente mediadas por aumento na atividade parassimpática e simpática cardíaca, respectivamente (HEAD; McCARTY, 1987; CRESTANI et al, 2010a, 2010b). Deste modo, nossos dados sugerem que o isolamento social facilita as respostas simpáticas e parassimpáticas do barorreflexo. Aumentos no controle parassimpático cardíaco e na resposta bradicárdica do barorreflexo tem sido proposto ser um fator protetor para o organismo (DE FERRARI et al, 1992; SCHWARTZ et al, 1992; BILLMAN, 2002). No entanto, facilitação da atividade simpática cardíaca predispõe a ocorrência de arritmias, insuficiência cardíaca e isquemia do miocárdio, o que pode levar a morte súbita (DYER et al, 1980; CARNEY et al, 1993; PALATINI; JULIUS, 1997; BILLMAN, 2002).

As alterações no controle reflexo da frequência cardíaca podem envolver modificações nos componentes aferente, central e eferente do barorreflexo.

Foi relatado que o isolamento social por 9 semanas iniciado após o desmame causou alterações na expressão de canais de potássio-voltagem dependentes do tipo Eg1 e Eg2 no tronco cerebral e em estruturas prosencefálicas límbicas (MARTIN et al, 2010). Regiões no tronco cerebral e estruturas límbicas estão envolvidas no controle barorreflexo da frequência cardíaca (DAMPNEY, 1994; NOSAKA, 1996; RESSTEL; CORRÊA, 2006). Deste modo, redução na expressão de canais de potássio pode alterar a excitabilidade neural nestas regiões e afetar a atividade do barorreflexo. Estudos prévios relataram alteração no balanço autônomo cardíaco após quatro semanas de isolamento social em *Prairie vole* fêmeas adultas (GRIPPO et al, 2007). Foi relatado aumento na atividade simpática e redução no componente vagal cardíaco (GRIPPO et al, 2007). A facilitação simpática pode explicar o aumento na resposta taquicárdica do barorreflexo observado no presente estudo após o isolamento social.

Nós observamos que o peso corporal dos animais isolados foi menor após o protocolo de isolamento social. Estudos prévios apresentam dados controversos sobre o efeito do isolamento social sobre a ingestão alimentar e o ganho de peso em animais. Alguns estudos relatam ausência de efeito (GRIPPO et al, 2007; FONE; PORKESS, 2008; RYU et al, 2009; MASLOVA et al, 2010), ao passo que outros tem observado aumento na ingestão alimentar e no ganho de peso (PEREZ et al, 1997; NAKHATE et al, 2011). As razões para a discrepância não estão claras, mas podem resultar de diferenças no tempo de isolamento, na espécie utilizada ou na utilização de animais jovens ou adultos.

Estudos tem demonstrado redução no consumo calórico e no ganho de peso durante protocolos de estresse crônico, como o estresse por restrição repetido e o estresse variável (MARTÍ et al, 1994; CHOI et al, 2008). Deste modo, o isolamento

social pode ter produzido um estresse psicológico crônico nos animais, o que reduziu o ganho de peso. Esta ideia é reforçada por dados mostrando aumento nos níveis plasmáticos do hormônio adrenocorticotrófico e de glicocorticoides após o isolamento social (WEISS et al, 2004; HEIDBREDEDER et al, 2000). O isolamento social altera vários mecanismos neuroquímicos no sistema nervosa central em regiões envolvidas na regulação da ingestão alimentar (FONE; PORKES, 2008), o que pode explicar a alteração no peso corporal observada no presente estudo.

A ressocialização dos animais não reverteu o efeito do isolamento social sobre o peso corporal. Alguns dados tem sugerido que o reagrupamento dos animais após um período de isolamento reduz a ingestão alimentar e pode afetar o peso corporal (LOPAK; EIKELBOOM, 2000, 2004). No entanto, a diferença no peso corporal entre os grupos controle e isolados imediatamente após o protocolo de isolamento e após a ressocialização são similares (27g vs 22g), o que sugere que as diferenças após a ressocialização decorrem de alterações durante o protocolo de isolamento social.

## VII. CONCLUSÕES

O presente estudo fornece evidências de como o ambiente social em períodos iniciais da vida interfere com a função fisiológica do organismo. Os nossos resultados sugerem que a ausência crônica de interação social durante a adolescência induz alterações relevantes na função cardiovascular, e algumas dessas alterações não são revertidas na fase adulta após ressocialização. As alterações reportadas no presente estudo incluíram:

1. Redução no peso corporal após período de isolamento social. O efeito do isolamento sobre o peso corporal não foi revertida após ressocialização dos animais.
2. Os animais criados isoladamente apresentaram aumento nos parâmetros basais de pressão arterial. No entanto, a pressão arterial retornou para os parâmetros normais após ressocialização dos animais.
3. A manutenção dos animais em ambiente individual facilitou o controle barorreflexo da frequência cardíaca. Foi observado aumento na resposta taquicárdica reflexa decorrente de reduções na pressão arterial, bem como na resposta bradicárdica do barorreflexo observada durante aumentos na pressão arterial. Este efeito sobre a bradicardia reflexa foi observado mesmo após ressocialização dos animais. Facilitação da resposta taquicárdica do barorreflexo pode predispor o organismo a ocorrência de problemas cardíacos. No entanto, este efeito é revertido após ressocialização.

Os efeitos do isolamento social sobre a função cardiovascular são similares àqueles observados após exposição a outros protocolos de estresse psicológico crônico. Deste modo, este modelo pode ser relevante para o estudo de patologias cardiovasculares associadas ao estresse psicossocial.

## VIII. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BILLMAN, G.E. Aerobic exercise conditioning: a nonpharmacological antiarrhythmic intervention. *J Appl Physiol*. v.92, n.2, p.446-54, 2002.

BLANC, J.; BAUDRIE, V.; TULEN, J.; PONCHON, P.; GAUDET, E.; ELGHOZI, J.L. Social isolation affects the pattern of cardiovascular responses to repetitive acoustic startle stimuli. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. v.24, n.1, Jan, p.40-5. 1997.

BRISTOW, J.D.; HONOUR, A.J.; PICKERING, G.W.; SLEIGHT, P.; SMYTH, H.S. Diminished baroreflex sensitivity in high blood pressure. *Circulation*, v.39, n.1, Jan, p.48-54. 1969.

BUSNARDO, C.; TAVARES, R.F.; RESSTEL, L.B.; ELIAS, L.L.; CORREA, F.M. Paraventricular nucleus modulates autonomic and neuroendocrine responses to acute restraint stress in rats. *Auton Neurosci*. v.158, n.1-2, p.51-7. 2010.

CARLIER, P.G.; CRINE, A.F.; YERNA, N.M.; RORIVE, G.L. Cardiovascular structural changes induced by isolation-stress hypertension in the rat. *J Hypertens Suppl*. v.6, n.4, Dec, p.S112-5. 1988.

CARNEY, R.M.; FREEDLAND, K.E.; RICH, M.W.; SMITH, L.J.; JAFFE, A.S. Ventricular tachycardia and psychiatric depression in patients with coronary artery disease. *Am J Med.* v.95,n.1, p.23-8. 1993.

CHOI, D. C.; FURAY A.R.; EVANSON N.K.; OSTRANDER M.M.; ULRICH-LAI Y.M.; HERMAN J.P. Bed nucleus of the stria terminalis subregions differentially regulate hypothalamic-pituitary-adrenal axis activity: implications for the integration of limbic inputs. *J Neurosci*, v.27, n.8, Feb 21, p.2025-34. 2007.

CHOI, D.C.; EVANSON, N.K.; FURAY, A.R.; ULRICH-LAI, Y.M.; OSTRANDER, M.M.; HERMAN, J.P. The anteroventral bed nucleus of the stria terminalis differentially regulates hypothalamic-pituitary-adrenocortical axis responses to acute and chronic stress. *Endocrinology*. v.149, n.2, p. 818-26, 2008.

CONWAY, J.; Vascular reactivity in experimental hypertension measured after hexamethonium. *Circulation*, v.17, n.4, Part 2, Apr, p.807-10. 1958.

CRESTANI, C.C.; TAVARES, R.F.; ALVES, F.H.; RESSTEL, L.B.; CORREA, F.M. Effect of acute restraint stress on the tachycardiac and bradycardiac responses of the baroreflex in rats. *Stress*, v.13, n.1, p.61-72. 2010a.

CRESTANI, C.C.; ALVES, F.H.; BUSNARDO, C.; RESSTEL, L.B.; CORREA, F.M. N-methyl-D-aspartate glutamate receptors in the hypothalamic paraventricular nucleus

modulate cardiac component of the baroreflex in unanesthetized rats. *Neurosci Res.* v.67,n.4, p.317-26, 2010b.

CRESTANI, C.C.; ALVES, F.H.; TAVARES, R.F.; CORRÊA, F.M. Role of the bed nucleus of the stria terminalis in the cardiovascular responses to acute restraint stress in rats. *Stress.* v.12, n.3, p.268-78, 2009.

DAMPNEY, R.A. Functional organization of central pathways regulating the cardiovascular system. *Physiol Rev.* v.74, n.2, Apr, p.323-64. 1994.

DAMPNEY, R.A.; HORIUCHI, J.; MCDOWALL, L.M. Hypothalamic mechanisms coordinating cardiorespiratory function during exercise and defensive behaviour. *Auton Neurosci.* v.142, n.1-2, Nov 3, p.3-10. 2008.

DE FERRARI, G.M.; VANOLI, E.; CERATI, D.; SCHWARTZ, P.J. Baroreceptor reflexes and sudden cardiac death: experimental findings and background. *G Ital Cardiol.* v.22. n.5, p.629-37, 1992.

DYER, A.R.; PERSKY, V.; STAMLER, J.; PAUL, O.; SHEKELLE, R.B.; BERKSON, D.M.; LEPPER, M.; SCHOENBERGER, J.A.; LINDBERG, H.A. Heart rate as a prognostic factor for coronary heart disease and mortality: findings in three Chicago epidemiologic studies. *Am J Epidemiol* v.112, p.736–49, 1980.



FARRELL, T.G.; PAUL, V.; CRIPPS, T.R.; MALIK, M.; BENNETT, E.D.; WARD, D.; CAMM, A.J. Baroreflex sensitivity and electrophysiological correlates in patients after acute myocardial infarction. Circulation, v.83, n.3, Mar, p.945-52. 1991

FONE, K.C.; PORKESS, M.V. Behavioural and neurochemical effects of post-weaning social isolation in rodents-relevance to developmental neuropsychiatric disorders. Neurosci Biobehav Rev. v.32, n.6, Aug, p.1087-102. 2008.

FORD, D.E.; MEAD, L.A.; CHANG, P.P.; COOPER-PATRICK, L.; WANG, N.Y.; KLAG, M.J. Depression is a risk factor for coronary artery disease in men: the precursors study. Arch Intern Med. v.158, n.13, Jul 13, p.1422-6. 1998.

GAMALLO, A.; VILLANUA, A.; TRANCHO, G.; FRAILE, A. Stress adaptation and adrenal activity in isolated and crowded rats. Physiol Behav. v.36, n.2, p.217-21. 1986.

GARDINER, S.M.; BENNETT, T. The cardiovascular and renal responses to short-term isolation in Brattleboro rats. Clin Sci (Lond). v.64, n.4, Apr, p.377-82. 1983.

GRASSI, G.; TREVANO, F.Q.; SERAVALLE, G.; SCOPELLITI, F.; MANCIA, G. Baroreflex function in hypertension: Consequences for antihypertensive therapy. Prog Cardiovasc Dis v.48, p.407-415. 2006.

GRIPPO, A.J.; MOFFITT, J.A.; JOHNSON, A.K. Cardiovascular alterations and autonomic imbalance in an experimental model of depression. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol v.282, p.R1333-R1341. 2002.

GRIPPO, A.J.; LAMB, D.G.; CARTER, C.S.; PORGES, S.W. Social isolation disrupts autonomic regulation of the heart and influences negative affective behaviors. *Biol Psychiatry*. v.62, n.10, Nov 15, p.1162-70. 2007

GRIPPO, A.J. Mechanisms underlying altered mood and cardiovascular dysfunction: the value of neurobiological and behavioral research with animal models. *Neurosci Biobehav Rev*. v.33, n.2, Feb, p.171-80. 2009

HALLBÄCK, M. Consequence of social isolation on blood pressure, cardiovascular reactivity and design in spontaneously hypertensive rats. *Acta Physiol Scand*. v.93, n.4, Apr, p.455-65. 1975.

HAINES, A.P.; IMESON, J.D.; Meade, T.W. Phobic anxiety and ischaemic heart disease. *Br Med J (Clin Res Ed)*. v.295, n.6593, Aug 1, p.297-9. 1987.

HARRISON, D.G.; FREIMAN, P.C.; ARMSTRONG, M.L.; MARCUS, M.L; HEISTAD, D.D. Alterations of vascular reactivity in atherosclerosis. *Circ Res*, v.61, n.5 Pt 2, Nov, p.II74-80. 1987.

HEIDBREDER, C.A.; WEISS, I.C.; DOMENEY, A.M.; PRYCE, C.; HOMBERG, J.; HEDOU, G.; FELDON, J.; MORAN, M.C.; NELSON, P. Behavioral, neurochemical and endocrinological characterization of the early social isolation syndrome. *Neuroscience*. V.100, n.4, p.749-68, 2000.

HELLEMANS, K.G.; BENGE, L.C.; OLMSTEAD M.C. Adolescent enrichment partially reverses the social isolation syndrome. *Brain Res Dev Brain Res*. v.150, n.2, Jun 21, p.103-15. 2004.

HERMAN, J.P.; FIGUEIREDO, H.; MUELLER, N.K.; ULRICH-LAI, Y.; OSTRANDER, M.M.; CHOI, D.C.; CULLINAN, W.E. Central mechanisms of stress integration: hierarchical circuitry controlling hypothalamo-pituitary-adrenocortical responsiveness. *Front Neuroendocrinol*, v.24, n.3, Jul, p.151-80. 2003.

IRIGOYEN, M.C.; KRIEGER, E.M. Baroreflex control of sympathetic activity in experimental hypertension. *Braz J Med Biol Res*, v.31, n.9, Sep, p.1213-20. 1998.

KAWACHI, I.; SPARROW, D.; VOKONAS, P.S.; WEISS, S.T. Symptoms of anxiety and risk of coronary heart disease. The Normative Aging Study. *Circulation*. v.90, n.5, Nov, p.2225-9. 1994.

KNOX, S.S.; UVNÄS-MOBERG, K. Social isolation and cardiovascular disease: an atherosclerotic pathway? *Psychoneuroendocrinology*. v.23, n.8, Nov, p.877-90. 1998

LAVIOLA, G.; ADRIANI, W.; TERRANOVA, M.L.; GERRA, G. Psychobiological risk factors for vulnerability to psychostimulants in human adolescents and animal models. *Neurosci Biobehav Rev*. v.23, n.7, Nov, p.993-1010. 1999.

LOPAK, V.; EIKELBOOM, R. Pair housing induced feeding suppression: individual housing not novelty. *Physiol Behav.* V.71, n.3-4, p.329-33, 2000.

LOPAK, V.; EIKELBOOM, R. Modulation of the pair housing induced feeding suppression. *Physiol Behav.* v.83, p.157–164. 2004.

MARTÍ, O.; MARTÍ, J.; ARMARIO, A. Effects of chronic stress on food intake in rats: influence of stressor intensity and duration of daily exposure. *Physiol Behav.* v.55, n.4, p.747-53, 1994.

MARTIN, S.; LINO-DE-OLIVEIRA, C.; JOCA, S.R.; WEFFORT DE OLIVEIRA, R.; ECHEVERRY, M.B.; DA SILVA, C.A.; PARDO, L.; STÜHMER, W.; BEL, E.D. Eag 1, Eag 2 and Kcnn3 gene brain expression of isolated reared rats. *Genes Brain Behav.* v.9, n.8, p.918-24, 2010.

MASLOVA, L.N.; BULYGINA, V.V.; AMSTISLAVSKAYA, T.G. Prolonged social isolation and social instability in adolescence in rats: immediate and long-term physiological and behavioral effects. *Neurosci Behav Physiol.* v.40, n.9, Nov, p.955-63. 2010.

MCDOUGALL, S.J.; LAWRENCE, A.J.; WIDDOP, R.E. Differential cardiovascular responses to stressors in hypertensive and normotensive rats. *Exp Physiol*, v.90, n.1, Jan, p.141-50. 2005.

MICZEK, K.A.; YAP, J.J.; COVINGTON. H.E. 3rd. Social stress, therapeutics and drug abuse: preclinical models of escalated and depressed intake. *Pharmacol Ther.* v.120, n.2, Nov, p.102-28. 2008.

NAKHATE, K.T.; KOKARE, D.M.; SINGRU, P.S.; SUBHEDAR, N.K. Central regulation of feeding behavior during social isolation of rat: evidence for the role of endogenous CART system. *Int J Obes (Lond)*. v.35, n.6, p.773-84, 2011.

NOSAKA, S.; Modifications of arterial baroreflexes: obligatory roles in cardiovascular regulation in stress and poststress recovery. *Jpn J Physiol*. v.46, n.4, p.271-88, 1996.

PALATINI, P.; JULIUS, S. Association of tachycardia with morbidity and mortality: pathophysiological considerations. *J Hum Hypertens* v.11, n.Suppl. 1, p.S19–S27, 1997.

PARKER, V.; MORINAN, A. The socially-isolated rat as a model for anxiety. *Neuropharmacology*. v.25, n.6, p.663–664. 1986.

PÉREZ, C.; CANAL, J.R.; DOMÍNGUEZ, E.; CAMPILLO, J.E.; GUILLÉN, M; TORRES, MD. Individual housing influences certain biochemical parameters in the rat. *Lab Anim*. v.31, n.4, p.357-61, 1997.

PITZALIS, M.V.; IACOVIELLO, M.; TODARELLO, O.; FIORETTI, A.; GUIDA, P.; MASSARI, F.; MASTROPASQUA, F.; RUSSO, G.D.; RIZZON, P. Depression but not anxiety influences the autonomic control of heart rate after myocardial infarction. *Am Heart J*. v.141, n.5, May, p.765-71. 2001

RESSTEL, L.B.; TIRAPELLI, C.R.; LANCHOTE, V.L.; UYEMURA, S.A.; DE OLIVEIRA, A.M.; CORREA, F.M. Chronic ethanol consumption alters cardiovascular functions in conscious rats. *Life Sci*, v.78, n.19, Apr 4, p.2179-87. 2006a.

RESSTEL, L.B.; CORRÊA, F.M. Involvement of the medial prefrontal cortex in central cardiovascular modulation in the rat. *Auton Neurosci.* v.126-127, p.130-8, 2006.

ROZANSKI, A.; BLUMENTHAL, J.A.; KAPLAN, J. Impact of psychological factors on the pathogenesis of cardiovascular disease and implications for therapy. *Circulation.* 27;v.99, n.16, Apr, p.2192-217. 1999.

RYU, V.; YOO, S.B.; KANG, D.W.; LEE, J.H.; JAHNG, J.W. Post-weaning isolation promotes food intake and body weight gain in rats that experienced neonatal maternal separation. *Brain Res.* v.1295, p.127-34, 2009

SÁNCHEZ, M.M.; AGUADO, F.; SÁNCHEZ-TOSCANO, F.; SAPHIER, D. Neuroendocrine and immunocytochemical demonstrations of decreased hypothalamo-pituitary-adrenal axis responsiveness to restraint stress after long-term social isolation. *Endocrinology.* v.139, n.2, Feb, p.579-87. 1998

SCHWARTZ PJ, LA ROVERE MT, VANOLI E. Autonomic nervous system and sudden cardiac death. Experimental basis and clinical observations for post-myocardial infarction risk stratification. *Circulation.* v.85, n.(1 Suppl), Jan, p.177-91. 1992.

SHEN, S.; INGENITO, A.J. Depressor effect of kappa opioid agonist on hypertension induced by isolation in the rat. *Clin Exp Hypertens.* v.21, n.3, Apr, p.275-97. 1999.

SPEAR, L.P. The adolescent brain and age-related behavioral manifestations. *Neurosci Biobehav Rev.* v.24, n.4, Jun, p.417-63. 2000.

SPEAR, L.P.; BRAKE, S.C. Periadolescence: age-dependent behavior and psychopharmacological responsivity in rats. *Dev Psychobiol.* v.16, n.2, Mar, p.83-109. 1983.

SVED, A. F.; GORDON, F. J. 1994. Amino acids as central neurotransmitter in the baroreceptor reflex pathway. *News in Physiological Science* v.9, p.243-246.

TAKASE, B.; KURITA, A.; NORITAKE, M.; UEHATA, A.; MARUYAMA, T.; NAGAYOSHI, H.; NISHIOKA, T.; MIZUNO, K.; NAKAMURA, H. Heart rate variability in patients with diabetes mellitus, ischemic heart disease, and congestive heart failure. *J Electrocardiol*, v.25, n.2, Apr, p.79-88. 1992.

ULRICH-LAI, Y.M.; HERMAN, J.P. Neural regulation of endocrine and autonomic stress responses. *Nat Rev Neurosci*, May 13. 2009.

VARTY, G.B.; PAULUS, M.P.; BRAFF, D.L.; GEYER, M.A. Environmental enrichment and isolation rearing in the rat: effects on locomotor behavior and startle response plasticity. *Biol Psychiatry.* v.47, n.1, May 15, p.864-73. 2000.

VIANNA, D.M.; CARRIVE, P. Changes in cutaneous and body temperature during and after conditioned fear to context in the rat. *Eur J Neurosci*, v.21, n.9, May, p.2505-12. 2005.

WEISS, I.C.; PRYCE, C.R.; JONGEN-RÊLO, A.L.; NANZ-BAHR, N.I.; FELDON, J. Effect of social isolation on stress-related behavioural and neuroendocrine state in the rat. *Behav Brain Res.* v.152, n.2, Jul9, p.279-95. 2004.