



## Estresse juvenil de curta frequência e intensidade não afeta a substância branca cerebral de ratos

*Juvenile stress of short frequency and intensity does not affect rats' brain white matter*

**Vivian Fuguhara de Lima<sup>1</sup>, Kathia Terumi Kato<sup>1</sup>, Letícia Alexandrino Barilli<sup>1</sup>,  
Silvana Regina de Melo<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> Graduanda em Biomedicina pelo Departamento de Análises Clínicas e Biomedicina, Universidade Estadual de Maringá (UEM), Maringá (PR), Brasil; <sup>2</sup> Docente no Departamento de Ciências Morfológicas, Universidade Estadual de Maringá (UEM), Maringá (PR), Brasil.

**Autor correspondente:** Vivian Fuguhara de Lima. *E-mail:* vivianfuguhara@gmail.com

### RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos duradouros de dois tipos de estresse sobre o corpo caloso (CC). Foram estudados 42 ratos Wistar machos divididos aleatoriamente em três grupos: Grupo Controle (GC), Estresse Físico (EF, imobilização) e Estresse Psicológico (EP, exposição ao predador). Os procedimentos de estresse ocorreram durante três dias consecutivos na idade juvenil (P25-P27) e foram analisados na idade adulta (P74). Os cérebros foram coletados, processados com a técnica de Klüver-Barrera, e seções foram analisadas por meio de morfometria. Os resultados demonstraram que não houve alterações em aspectos gerais como peso dos animais, e histológicos como espessura do CC e quantidade dos núcleos gliais nesta região. O estudo sugere que os efeitos duradouros de ambos os modelos de estresse juvenil de curta frequência (3 dias) e intensidade (90 minutos/EF e 20 minutos/EP) não foram nem prejudiciais e nem protetores, o que pode ser considerado uma adaptação positiva.

**Palavras-chave:** Corpo caloso. Estresse psicológico. Imobilização. Mielina. Oligodendrócitos.

### ABSTRACT

The current study evaluates the lasting effects of two types of stress on the corpus callosum (CC). Forty-two male Wistar rats were randomly divided into three groups: Control Group (CG), Physical Stress (FS, immobilization) and Psychological Stress (PS, exposure to predators). Stress procedures occurred for three consecutive days at the juvenile stage (P25-P27) and analyzed at the adult age (P74); brains were retrieved and processed by Klüver-Barrera technique and sections were analyzed by morphometry. Results showed that there were no changes in the general aspects such as animal weight, and in the histological aspects such as CC thickness and quantity of the region's glia nuclei. Current research suggests that the lasting effects of both models of juvenile stress of short frequency (3 days) and intensity (90 minutes/FS and 20 minutes/PS) were neither detrimental nor protective, featuring a positive adaptation.

**Keywords:** Corpus callosum. Immobilization. Myelin. Oligodendrocytes. Psychologic stress.

*Recebido em Novembro 22, 2021*

*Aceito em Janeiro 30, 2022*

## INTRODUÇÃO

O corpo caloso (CC) é a principal estrutura de substância branca cerebral,

sendo o principal responsável por promover a conexão inter-hemisférica do cérebro<sup>1</sup>. Esse feixe é constituído por aproximadamente 200 milhões de axônios

mielinizados<sup>2</sup> e sua composição celular se altera com o neurodesenvolvimento. Logo após o nascimento de camundongos, há prevalência de glioblastos e, posteriormente, detecta-se o predomínio de células da glia, que correspondem principalmente aos oligodendrócitos, astrócitos e microglia<sup>3</sup>.

O oligodendrócito é o tipo celular mais numeroso no CC, sendo essencial para produção da mielina no Sistema Nervoso Central, processo denominado mielinização<sup>4</sup> e remielinização após lesão axonal<sup>5</sup>. Essa estrutura que envolve o axônio dos neurônios e, conseqüentemente, forma a bainha de mielina representa um traço evolutivo crucial, uma vez que possibilitou o aumento da velocidade de condução dos impulsos nervosos, além de auxiliar no controle do desenvolvimento e da neuroplasticidade dos circuitos neurais em adultos<sup>4</sup>.

O neurodesenvolvimento é um processo longo, sendo que em ratos de laboratório a fase juvenil ou pré-púbere corresponde às idades entre P22 e P34<sup>6</sup>, um período considerado sensível em razão da sua intensa neuroplasticidade<sup>7</sup>. O estresse nessa fase tem sido associado a alterações em diferentes regiões do cérebro, incluindo, corpo caloso, hipocampo e áreas corticais como o cíngulo anterior, pré-frontal, dorsolateral e orbitofrontal<sup>1</sup>.

É sugerido que anormalidades morfológicas e moleculares na substância branca estão envolvidas em transtornos

neuropsiquiátricos<sup>1</sup>. Além disso, o estresse está associado com a intensificação de transtornos mentais como ansiedade<sup>8</sup> e o desenvolvimento microestrutural da substância branca é suscetível a influências ambientais<sup>9</sup>.

Nesse contexto, estudos relatam alterações estruturais e no volume do CC tanto em crianças quanto adultos<sup>1</sup>. A diminuição do corpo caloso também foi descrita em primatas não humanos expostos ao estresse em fase precoce do desenvolvimento, e ainda, tais reduções de volume foram relacionadas com déficits cognitivos<sup>10</sup>. Ademais, o estresse precoce em primatas não humanos tem sido associado com alterações na microestrutura da substância branca cerebral<sup>11</sup>. Uma possível conexão desse efeito morfológico poderia ser a expressão de receptores de glicocorticoides nos oligodendrócitos e células progenitoras que medeiam o processo de diferenciação e mielinização, tornando, assim, essas células em alvos do hormônio glicocorticoide e seus cofatores<sup>12</sup>, o que pode acarretar distúrbios na produção de mielina e, conseqüentemente, no funcionamento do sistema nervoso.

Dessa forma, foram verificados os efeitos duradouros de dois modelos de estresse (físico e psicológico) de curta frequência e intensidade sobre a quantidade de células da glia em diferentes regiões do corpo caloso, bem como de sua espessura na região anterior.

## METODOLOGIA

O presente estudo experimental foi realizado para compreender os efeitos duradouros de dois tipos diferentes de estresse juvenil sobre o corpo caloso de ratos, a partir de análises histológicas.

## ANIMAIS

Ratos Wistar machos (n total = 42) com 21 dias de idade, foram adquiridos do Biotério Central da Universidade Estadual de Maringá, alojados em grupo de cinco em caixa padrão, e após adaptação no Biotério Setorial do Departamento de Ciências Morfológicas foram aleatoriamente distribuídos nos grupos experimentais: Estresse Físico (EF, n = 14), Estresse Psicológico (EP, n = 14) e Controle (GC, n = 14) e mantidos sob condições padrão com temperatura constante ( $22^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ ) e ciclo claro/escuro de (12/12h) com luzes acesas às 7h. O alimento (Nutrilab- CR1, Nuvital Nutrients, Curitiba, PR, Brasil) e água foram fornecidos *ad libitum*. Nas respectivas idades, 25 dias de vida pós-natal (P25 a P27) os animais do grupo EF e EP foram retirados do biotério setorial e em sala vizinha receberam o procedimento de estresse. Após procedimento, os animais retornaram às suas caixas de origem com seus respectivos parceiros no biotério setorial. Os animais do grupo controle permaneceram no biotério setorial e receberam apenas os cuidados inerentes à

limpeza de rotina. Ao atingir 45 dias de idade todos os animais foram reagrupados (mantendo-se seus parceiros), permanecendo quatro ou três animais por caixa até os 75 dias de idade quando foram submetidos à eutanásia. Os experimentos foram realizados de acordo com os procedimentos experimentais aprovados pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) local (protocolo nº 499.305.061.7) da Universidade Estadual de Maringá.

## DESIGN EXPERIMENTAL

### Estresse de imobilização

Este modelo foi considerado como estressor físico<sup>13</sup> e aplicado entre os dias 25 e 27 pós-natal (P25-P27). Cada animal foi colocado em um tubo de contenção de plástico (10 cm de comprimento, 4 cm de diâmetro) por 90 minutos (03 períodos de 30 minutos, separados por intervalos de 15 minutos) durante três dias. Durante as sessões de contenção, os ratos foram colocados em sala adjacente à sua colônia e todos os dias, ao término da sessão de estresse, eram devolvidos às suas caixas de origem.

### Estresse do predador

Este modelo foi considerado como estressor psicológico<sup>14</sup> e foi realizado entre P25-P27, e consistiu em duas caixas adjacentes separadas: do rato (caixa de propileno transparente com 15 cm de

comprimento x 27 cm de largura x 21 cm de altura, e orifícios nas paredes), do gato (caixa com paredes em malha de arame, 80 cm de comprimento x 80 cm de largura x 60 cm de altura). Os animais jovens foram colocados individualmente na câmara do rato por 20 minutos (02 períodos de 10 minutos, separados por intervalos de 5 minutos) durante três dias. Três gatas adultas foram utilizadas como estímulo predador, uma por dia, em conjunto com um frasco com a urina delas, o qual foi mantido durante os dias do experimento dentro da câmara da gata.

Ambos os procedimentos de estresse foram realizados sob luz branca, entre 7h e 17h e após cada sessão de estresse os aparelhos (tubos e câmara de rato) foram esterilizados com solução de etanol a 70%. O grupo controle recebeu apenas intervenções humanas relacionadas à limpeza da gaiola. Após os procedimentos de estresse, os animais foram deixados sem perturbação até o procedimento de eutanásia.

## ANÁLISES ANATÔMICAS

### Eutanásia e coloração

Na idade adulta, aos 74 dias de idade, os animais foram anestesiados (tiopental 100 mg + lidocaína 10 mg/kg, i.p., 0,1 mL/100 pc), e, em seguida, foram pesados e perfundidos intracardialmente com solução salina 0,9% tamponada (tampão fosfato pH 7,4, 0,1M) e solução

de paraformaldeído 4% tamponado (tampão fosfato pH 7,4; 0,1M). O encéfalo de cada animal foi removido, e, posteriormente, seccionado nas regiões do bulbo olfatório, nervos ópticos e medula espinal para então ser fixado na solução de paraformaldeído 4%, desidratado em etanol (70 a 100%), clarificado em xileno e incluído em parafina. As secções foram cortadas no plano coronal com espessura de 16  $\mu$ m e coradas pela técnica de Klüver-Barrera – Luxol Fast Blue contracorado com violeta cresil.

### Análise quantitativa das células da glia

Para a quantificação da glia, foram consideradas duas regiões, a anterior (Bregma 2.28 a 1.56 mm) e a posterior do CC (Bregma - 1,92 a - 4,92 mm)<sup>15</sup>, abrangendo cinco secções semisseriadas e dois campos de cada secção, totalizando dez campos para cada animal. Por meio de sistema teste de grades inserido na ocular do microscópio óptico Nova Optical Systems, na objetiva de 40X, foi realizada a contagem dos núcleos de células da glia que estavam dispostos no primeiro plano visual (focados), incluindo os que estavam nas linhas externas do campo, e foram desconsiderados os núcleos em segundo plano (desfocados) dentro do campo teste. Ademais, segundo a calibração do microscópio com o campo teste utilizado, cada unidade ocular do campo teste equivale a 12,5  $\mu$ m, assim, a área total analisada por campo foi de 15.625  $\mu$ m<sup>2</sup>. Os

resultados foram expressos como média  $\pm$  desvio padrão ( $n/10.000 \mu\text{m}^2$ ) (Figura 1a).

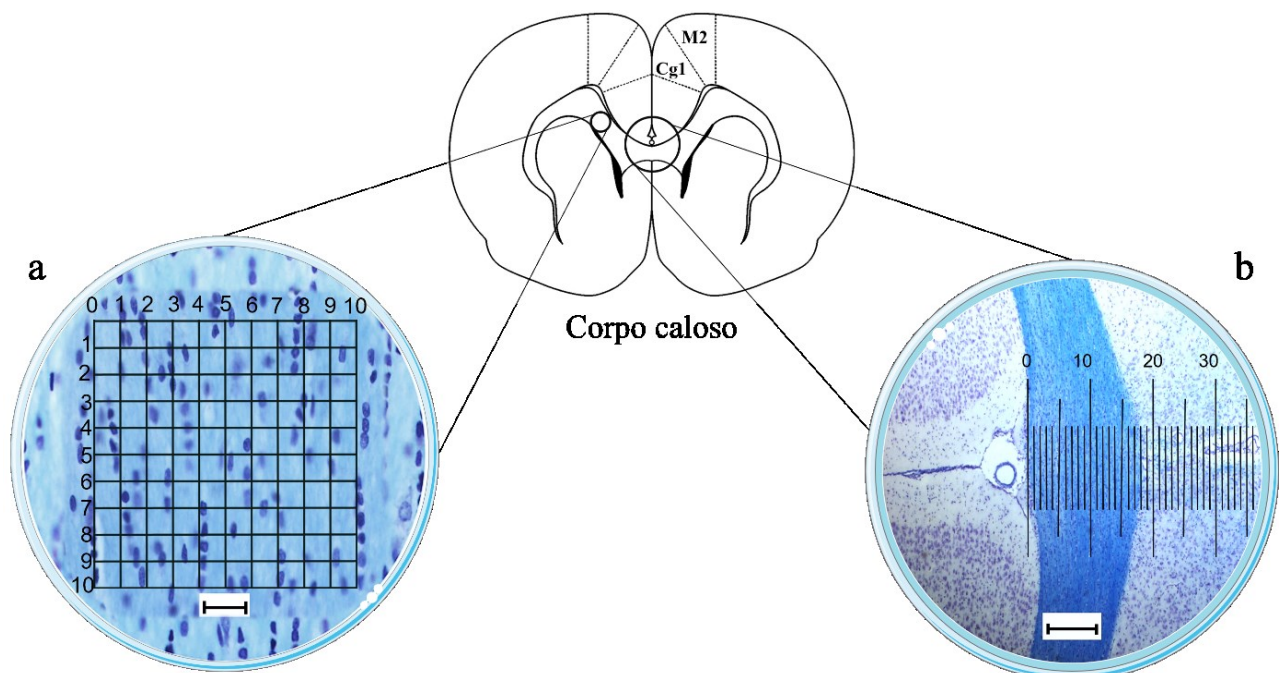
### Análise da espessura do corpo caloso

Para mensurar a espessura do corpo caloso, foram consideradas cinco secções por animal da região anterior do CC, na posição adjacente à fissura longitudinal do cérebro (Figura 1b), por meio de régua milimetrada inserida na ocular do microscópio óptico Olympus BX40. Utilizou-se para visualização da região a objetiva de 10X, em que cada unidade ocular da régua correspondeu a  $10,26 \mu\text{m}$ .

Os resultados foram expressos como média  $\pm$  desvio padrão ( $\mu\text{m}$ ).

### ANÁLISE ESTATÍSTICA

Primeiramente foi verificado o tipo de distribuição dos dados com o teste de *Shapiro-Wilk* no programa BioEstat 5.0, a qual se apresentou normal. Em seguida foi feita a análise de variância *One-Way* (ANOVA *One-way*), com *post hoc* de Tukey para comparação entre os grupos no programa *GraphPad Prism* 5.0. Foi considerado um nível de significância de 5% ( $p < 0,05$ ) e os dados foram expressos como média  $\pm$  desvio padrão.

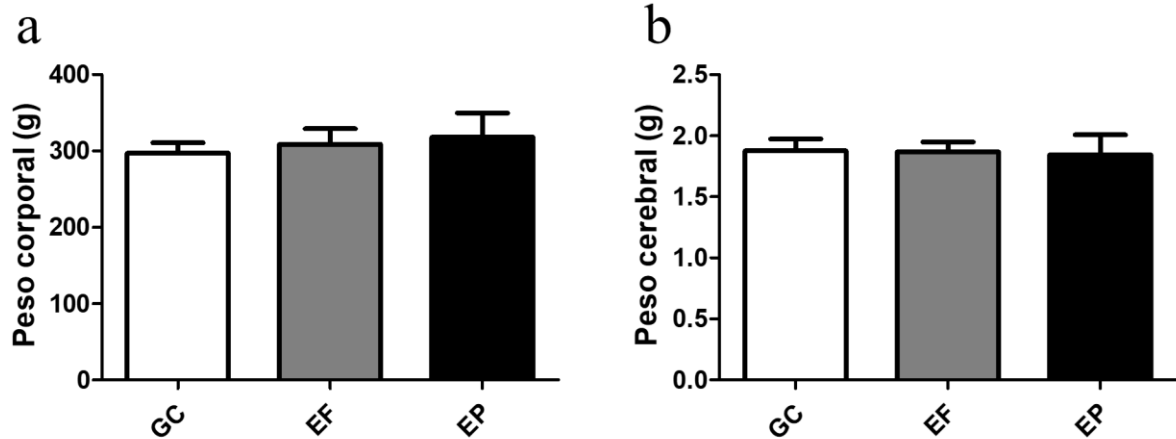


**Figura 1.** Representação esquemática da metodologia utilizada para análise quantitativa de células da glia e espessura do corpo caloso. Sistema teste 10x10 utilizado (com área total de  $15.625 \mu\text{m}^2$ ), mensurado aleatoriamente entre os dois picos do CC, as divisões **M2** (Córtex motor secundário) e **Cg1** (córtex cingulado, área 1), foram utilizadas como referência para delimitação da região analisada (**a**). Figura ilustrativa do CC com régua milimetrada evidenciando o método de análise da espessura do CC ( $n = 6-7$ ) (**b**). Técnica histológica: Klüver-Barrera. Barra de escala:  $20 \mu\text{m}$  (**a**);  $200 \mu\text{m}$  (**b**).

## RESULTADOS

### PESO CORPORAL E CEREBRAL

A análise estatística não mostrou diferença significativa entre os grupos



**Figura 2.** Gráficos representando os dados expressos como média  $\pm$  desvio padrão do peso corporal (a) e cerebral (b) de cada grupo ( $n = 14$ ), nível de significância  $p < 0,05$ . Onde se verifica não haver diferença significativa entre os grupos Controle (GC), Estresse Físico (EF) e Estresse Psicológico (EP).

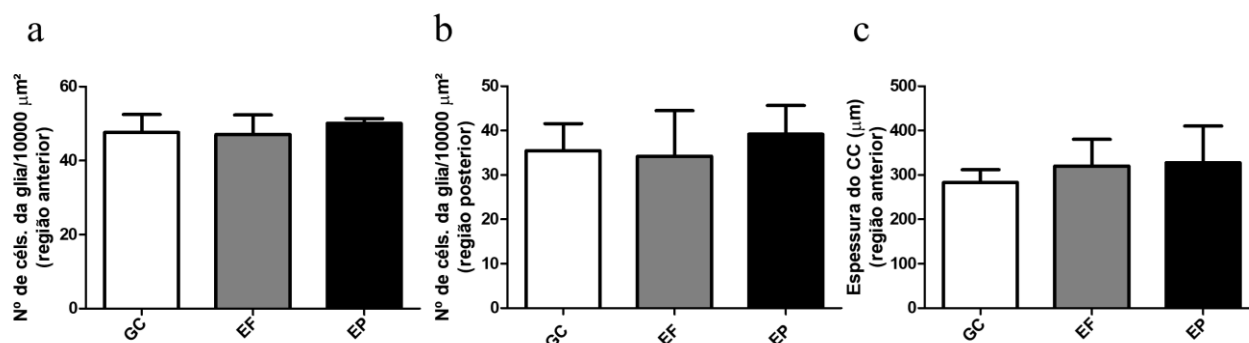
### ANÁLISE QUANTITATIVA DAS CÉLULAS DA GLIA

Na região anterior do corpo caloso, não foram encontradas diferenças estatísticas na quantidade de células gliais entre os grupos experimentais, EF ( $47,09 \pm 5,25 / 10.000 \mu\text{m}^2$ ), EP ( $50,07 \pm 1,32 / 10.000 \mu\text{m}^2$ ) e GC ( $47,64 \pm 4,83 / 10.000 \mu\text{m}^2$ ) ( $F_{2,12} = 0,7178$ ;  $p = 0,5076$ ) (Figura 3a). De modo similar, não foram observadas alterações na região posterior do CC, ao se comparar os grupos EF ( $34,24 \pm 10,22 / 10.000 \mu\text{m}^2$ ) e EP ( $39,18 \pm 6,48 / 10.000 \mu\text{m}^2$ ) com o grupo GC ( $35,49$

$\pm 6,06 / 10.000 \mu\text{m}^2$ ) ( $F_{2,12} = 0,5402$ ;  $p = 0,5962$ ) (Figura 3b).

### ANÁLISE DA ESPESSURA DO CORPO CALOSO

Não houve diferença significativa na espessura da região anterior do CC entre os grupos EF ( $320,1 \pm 60,01 \mu\text{m}$ ) e EP ( $327,6 \pm 82,46 \mu\text{m}$ ) com o grupo GC ( $283,2 \pm 28,56 \mu\text{m}$ ) ( $F_{2,16} = 1,054$ ;  $p = 0,3717$ ) (Figura 3c).



**Figura 3.** Gráficos representando os dados expressos como média  $\pm$  desvio padrão do número de células da glia em 10.000  $\mu\text{m}^2$  na região anterior (a) e posterior (b) do CC (n = 5) e da espessura do CC na região anterior em  $\mu\text{m}$  (c), evidenciando que não houve alteração entre os grupos analisados. Nível de significância  $p < 0,05$ . Grupo Controle (GC); Estresse Físico (EF) e Estresse Psicológico (EP).

## DISCUSSÃO

O presente estudo investigou os efeitos duradouros de dois modelos de estresse sobre a morfologia da substância branca cerebral, o CC, e medidas globais como peso cerebral e corporal. Em resumo, os modelos de estresse empregados na fase juvenil, imobilização e exposição ao predador, caracterizados respectivamente como físico e psicológico, não produziram alterações duradouras em todas as medidas analisadas, sugerindo que seus efeitos não foram nem prejudiciais nem protetores.

### PESO CORPORAL E CEREBRAL

Os mesmos animais aqui descritos tiveram a glândula suprarrenal analisada em estudo recente, sob o aspecto geral como peso, e espessura do córtex e medula adrenal. E de modo coerente com os resultados morfológicos no CC, o estudo apontou que a glândula suprarrenal

também não sofreu alterações tanto no peso quanto na sua morfologia com relação ao córtex e medula adrenal<sup>16</sup>. Esse dado sugere que os modelos empregados não foram nocivos a ponto de alterar medidas como peso. Nosso resultado pode ser confrontado com Saber *et al.*<sup>17</sup>, pois tais autores relataram que o peso corporal de ratos submetidos ao estresse de imobilização agudo (1 dia/6 horas) não apresentou alteração significativa, mas que o modelo de estresse crônico (10 dias/2 horas diárias) provocou diminuição do peso dos animais. Em concordância com nosso resultado está a evidência de que a alteração do peso da glândula suprarrenal ocorre quando o estresse é suficientemente tóxico e, provavelmente, está relacionado à maior produção de hormônios corticosteroides. Além disso, os autores observaram que após um período de recuperação (5 dias) houve a restauração desse parâmetro. Nesse contexto, nosso presente estudo não identificou mudanças

tanto no peso corporal quanto cerebral dos ratos, o que poderia estar associado ao período de recuperação de 47 dias e a intensidade do estresse (90 minutos de estresse físico e 20 minutos de estresse psicológico durante 3 dias consecutivos).

## CORPO CALOSO

A manutenção da espessura da região mediana do CC indica que ambos os estresses vivenciados na fase juvenil não foram suficientemente nocivos para gerar consequências morfológicas duradouras. Ao contrário, estudos em humanos relatam redução no volume do CC sob diversas formas de abuso<sup>1</sup>, sugerindo que a fase infantil é sensível e o corpo caloso é modulado pelo estresse. Mas o presente estudo aponta que a resposta morfológica ao estresse depende do tipo de estresse e sugere estar relacionado também ao tempo de recuperação. Esse trabalho é inédito em comparar os modelos de estresse nas intensidades e respostas duradouras, o que limita comparações científicas. No entanto, um estudo chama nossa atenção ao apontar que o estresse não provocou alterações morfológicas no CC. O modelo crônico proposto em Miyata *et al.*<sup>18</sup> mostrou que camundongos, ao serem imobilizados e imersos na água (21 dias/2 horas diárias), não apresentaram alteração na espessura do corpo caloso, mas foi observada redução no diâmetro dos axônios nessa região cerebral. Esse estudo constatou que

a intensidade do estresse crônico também não afetou a espessura do CC, mas acarretou alterações microestruturais nessa região do cérebro e, portanto, desperta a discussão dos mecanismos necessários para haver mudanças estruturais.

A literatura sugere que a neuroplasticidade da substância branca é dependente da frequência e intensidade do estresse, e que tem sido evidenciada por diferentes estudos. Ratos sob estresse de imobilização de longa frequência e intensidade (28 dias/4 horas diárias) apresentaram alterações estruturais na mielina, incluindo distorção, desintegração, e redução no encéfalo anterior (telencéfalo + diencéfalo) de ratos, e diminuição nos níveis da proteína básica de mielina (MBP, sigla em inglês)<sup>19</sup>. A redução da expressão dessa proteína também foi relatada após estresse por derrota social (exposição à agressão por um camundongo reprodutor “aposentado”) no córtex pré-frontal medial de camundongos jovens<sup>20</sup>.

Os resultados do presente estudo e de outros autores expostos aqui indicam que o efeito do estresse sobre a substância branca é estresse dependente, em que o tipo, a frequência e a intensidade do estresse são determinantes no tipo de resposta morfológica.



## CÉLULAS GLIAIS DO CC

Foi verificado que ambos os modelos de estresse utilizados não provocaram prejuízo na quantidade dos núcleos das células gliais, tal resultado que demonstra os efeitos duradouros da imobilização e exposição ao predador em fase juvenil sobre a quantidade geral de células da glia no corpo caloso é inédito. Na fase adulta, os oligodendrócitos são majoritários no corpo caloso, representando mais de 70% dos tipos celulares nesta região<sup>3</sup>, portanto, como este estudo analisou essa fase, pode-se inferir que a quantidade de núcleos analisados está coerente com a análise da espessura do CC, pois ambos não apresentaram alterações morfológicas. Essa conservação do número de células da glia, mais especificamente de oligodendrócitos, também foi observada em um modelo crônico de estresse de imobilização associado à imersão na água em camundongos adultos<sup>18</sup>, apontando que a intensidade do estresse de imobilização não interferiu nesse parâmetro avaliado.

Vários estudos indicam que o período de recuperação está relacionado à capacidade de regeneração do sistema nervoso. Por exemplo, ratos expostos ao modelo de estresse agudo (imobilização + exposição ao odor de predador) apresentaram redução de oligodendrócitos no hipocampo e no córtex pré-frontal somente em fêmeas após curto prazo de

recuperação (12 dias), mas a longo prazo (67 dias) foi observado redução somente no corpo amigdalóide, tanto em fêmeas quanto em machos<sup>21</sup>. Enquanto estudo em camundongos demonstrou que após 21 dias de recuperação o aumento observado logo após o estresse do espaço interfibril, ocupado principalmente por oligodendrócitos, retornou ao nível dos animais controles<sup>18</sup>.

O presente estudo contribui para compreensão da especificidade da resposta aos diferentes tipos de estresse, na substância branca cerebral, pois ainda está imaturo na literatura se há um padrão nas respostas dos oligodendrócitos. Há indicação que o estresse de imobilização crônico (7 dias/3 horas diárias) provocou aumento da oligodendrogênese em ratos<sup>22</sup>, mas o mesmo modelo com maior frequência e intensidade (14 dias/4 horas diárias) conduziu à diminuição de oligodendrócitos no hipocampo de camundongos<sup>23</sup>. Juntos, esses e o presente resultado sugerem que as respostas na substância branca não seguem padrão simples e necessitam de mais investigações. Um estudo aponta que diferentes frequências e intensidades de estresse têm diferentes impactos no comportamento e nos oligodendrócitos. Por exemplo: o estresse crônico (14 dias/1 hora diária) promoveu adaptação ao estresse (teste comportamental *hole-board*), sem afetar os oligodendrócitos. Entretanto, o estresse agudo (1 dia/1 hora e

4 horas) e crônico (14 dias/4 horas) não promoveram essa adaptação e houve diminuição no número dessas células<sup>23</sup>.

Fica evidente na literatura e comparação com os resultados desse estudo que existem vários fatores associados às respostas ao estresse, como 1) intensidade e duração do estresse; 2) período de recuperação; 3) respostas sexo-dependente; e 4) respostas dependentes da região cerebral. Assim, o presente estudo se limitou a avaliar a região do CC e utilizar técnicas de baixo custo financeiro, bem como mostrou que os resultados de estudos de curto prazo se comparados com aqueles de longo prazo podem gerar erro de interpretação, tal como a comparação entre diferentes tipos de estresse e sexo. O presente estudo utilizou modelos e tempos de exposição padronizados na literatura<sup>13,14</sup>, e seguindo a hipótese de que os modelos teriam efeitos duradouros nocivos sob aspecto geral (morfologia da substância branca e peso). Mas que foram descartadas do ponto de vista morfológico e provocaram outras perguntas. Como seriam os efeitos em curto prazo (logo após o evento estressante)? Quais seriam os efeitos fisiológicos e moleculares? As fêmeas teriam as mesmas respostas?

## CONCLUSÃO

O presente estudo aponta que o efeito duradouro do estresse de curta frequência (3 dias) e intensidade (90

minutos de estresse físico, e 20 minutos de estresse psicológico) vivenciados na fase infantil, não foi prejudicial e nem protetor. Sob o aspecto morfológico, não produziu alterações quantitativas na substância branca cerebral (região do CC) de ratos machos. Tanto na quantidade de glia e espessura do CC, o que pode ser considerado uma adaptação positiva. Dessa forma, o estudo contribui para compreensão dos efeitos do estresse na fase juvenil e colabora para a neurobiologia dos transtornos mentais.

## REFERÊNCIAS

1. Teicher MH, Samson JA. Annual Research Review: Enduring neurobiological effects of childhood abuse and neglect. *J Child Psychol Psychiatry*. 2016 Mar;57(3):241–66. doi: <https://doi.org/10.1111/jcpp.12507>.
2. Goldstein A, Covington BP, Mahabadi N, Mesfin FB. *Neuroanatomy, Corpus Callosum*. StatPearls Publishing. 2021. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK448209/>.
3. Sturrock RR. Light microscopic identification of immature glial cells in semithin sections of the developing mouse corpus callosum. *J Anat*. 1976;122(3):521–37.
4. Salzer JL, Zalc B. Myelination. *Curr Biol*. 2016;26(20):R971–5. doi: <https://doi.org/10.1016/j.cub.2016.07.074>.
5. Wang Y, Liu G, Hong D, Chen F, Ji X, Cao G. White matter injury in ischemic stroke. *Prog Neurobiol*.

- 2016;141:45–60. doi:  
<https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2016.04.005>.
6. Sengupta P. The laboratory rat: Relating its age with human's. *Int J Prev Med.* 2013;4(6):624–30.
  7. Gibb R, Kolb B. Brain plasticity in the adolescent brain. In: Benasich AA, Ribary U, organizadores. *Emergent Brain Dynamics: Prebirth to Adolescence.* Cambridge: The MIT Press; 2018. p. 143–60. (Strüngmann Forum Reports; 25).
  8. Grillon C, Duncko R, Covington MF, Kopperman L, Kling MA. Acute stress potentiates anxiety in humans. *Biol Psychiatry.* 2007;62(10):1183–86. doi:  
<https://dx.doi.org/10.1016%2Fj.biopsych.2007.06.007>.
  9. Lebel C, Deoni S. The development of brain white matter microstructure. *Neuroimage.* 2018;182(1):207–18. doi:  
<https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2017.12.097>.
  10. Sánchez MM, Hearn EF, Do D, Rilling JK, Herndon JG. Differential rearing affects corpus callosum size and cognitive function of rhesus monkeys. *Brain Res.* 1998;812(1–2):38–49. doi:  
[https://doi.org/10.1016/s0006-8993\(98\)00857-9](https://doi.org/10.1016/s0006-8993(98)00857-9).
  11. Coplan JD, Kolavennu V, Abdallah CG, Mathew SJ, Perera TD, Pantol G, *et al.* Patterns of anterior versus posterior white matter fractional anisotropy concordance in adult nonhuman primates: Effects of early life stress. *J Affect Disord.* 2016;192:167–75. doi:  
<https://doi.org/10.1016/j.jad.2015.11.049>.
  12. Matsusue Y, Horii-Hayashi N, Kirita T, Nishi M. Distribution of Corticosteroid Receptors in Mature Oligodendrocytes and Oligodendrocyte Progenitors of the Adult Mouse Brain. *J Histochem Cytochem.* 2014;62(3):211–26. doi:  
<https://doi.org/10.1369/0022155413517700>.
  13. Watanabe Y, Gould E, McEwen BS. Stress induces atrophy of apical dendrites of hippocampal CA3 pyramidal neurons. *Brain Res.* 1992;588(2):341–5. doi:  
[https://doi.org/10.1016/0006-8993\(92\)91597-8](https://doi.org/10.1016/0006-8993(92)91597-8).
  14. Blanchard RJ, Nikulina JN, Sakai RR, McKittrick C, McEwen B, Blanchard DC. Behavioral and endocrine change following chronic predatory stress. *Physiol Behav.* 1998;63(4):561–9. doi:  
[https://doi.org/10.1016/s0031-9384\(97\)00508-8](https://doi.org/10.1016/s0031-9384(97)00508-8).
  15. Paxinos G, Watson C. *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates.* 5th ed. Cambridge: Academic Press; 2004.
  16. Kato KT, Melo SR de, Dada MEG, Barbosa CP. Efeitos do estresse físico e psicológico juvenil sobre a glândula suprarrenal em ratos adultos. *Saude e pesqui (Impr).* 2020;13(1):53–61. doi:  
<https://doi.org/10.17765/2176-9206.2020v13n1p53-61>.
  17. Saber EA, Abd El Aleem MM, Aziz NM, Ibrahim RA. Physiological and structural changes of the lung tissue in male albino rat exposed to immobilization stress. *J Cell Physiol.* 2019;234(6):9168–83. doi:  
<https://doi.org/10.1002/jcp.27594>.
  18. Miyata S, Koyama Y, Takemoto K, Yoshikawa K, Ishikawa T, Taniguchi M, *et al.* Plasma corticosterone activates SGK1 and induces

morphological changes in oligodendrocytes in corpus callosum. PLoS One. 2011;6(5):e19859. doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.019859>.

<https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2020.08.030>.

19. Thamizhoviya G, Vanisree AJ. Enriched environment modulates behavior, myelination and augments molecules governing the plasticity in the forebrain region of rats exposed to chronic immobilization stress. *Metab Brain Dis*. 2019;34(3):875–87. doi: <https://doi.org/10.1007/s11011-018-0370-8>.
20. Zhang H, Yan G, Xu H, Fang Z, Zhang J, Zhang J, et al. The recovery trajectory of adolescent social defeat stress-induced behavioral, 1H-MRS metabolites and myelin changes in Balb/c mice. *Sci Rep*. 2016;6:27906. doi: <https://doi.org/10.1038/srep27906>.
21. Breton JM, Barraza M, Hu KY, Frias SJ, Long KLP, Kaufer D. Juvenile exposure to acute traumatic stress leads to long-lasting alterations in grey matter myelination in adult female but not male rats. *Neurobiol Stress*. 2021;14:100319. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ynstr.2021.100319>.
22. Chetty S, Friedman AR, Taravosh-Lahn K, Kirby ED, Mirescu C, Guo F, et al. Stress and glucocorticoids promote oligodendrogenesis in the adult hippocampus. *Mol Psychiatry*. 2014;19(12):1275–83. doi: <https://doi.org/10.1038/mp.2013.190>.
23. Kurokawa K, Tsuji M, Takahashi K, Miyagawa K, Mochida-Saito A, Takeda H. Leukemia Inhibitory Factor Participates in the Formation of Stress Adaptation via Hippocampal Myelination in Mice. *Neuroscience*. 2020;446:1–13. doi: