

Efeitos de longo prazo do estresse neonatal com lipopolissacarídeo em ratos

Long-term effects of neonatal stress using lipopolysaccharide in rats

Adroaldo Lunardelli¹, Carolina Luft², Leonardo Pedrazza¹,
Márcio Vinícius Fagundes Donadio³

RESUMO

Introdução: Diversos modelos experimentais têm sido utilizados para demonstrar que intervenções no início da vida podem gerar alterações permanentes que perduram ao longo da vida. A administração de lipopolissacarídeo (LPS) no período neonatal gera um estímulo imunológico estressante capaz de alterar muitas respostas fisiológicas ao estresse na vida adulta.

Objetivo: Revisar a literatura acerca das influências, em longo prazo, que a administração de LPS no período neonatal pode gerar na vida adulta em modelos experimentais.

Materiais e Métodos: O presente estudo consiste em uma revisão integrativa da literatura com base na busca de artigos científicos disponíveis nas bases de dados *Medline/PubMed* e *Science Direct*, utilizando os descritores *neonatal programming*, *neonatal stress*, *neonatal LPS* e *neonatal lipopolysaccharide*. Foram incluídas publicações cuja temática abordasse os resultados da utilização de LPS como estressor neonatal em protocolos experimentais, sem limite de data.

Resultados: Foram selecionados 15 artigos que mostram modelos experimentais em que a injeção de LPS em ratos neonatos causa modificações funcionais da resposta do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HPA) quando adultos, incluindo elevação nos níveis plasmáticos de corticosterona. Ainda, há diminuição das concentrações circulantes de citocinas pró-inflamatórias, hiperalgesia, aumento na sensibilidade ao estresse e aumento do comportamento de ansiedade e depressão.

Conclusão: Os resultados demonstram que a administração neonatal de LPS consiste em um modelo experimental efetivo de *programming*, provocando uma série de alterações imunológicas e comportamentais na vida adulta.

Palavras-chave: animais recém-nascidos; inflamação; modelos animais; estresse fisiológico.

ABSTRACT

Introduction: Several experimental models have been used to demonstrate that interventions early in life can lead to permanent changes that persist throughout life. In this context, the administration of lipopolysaccharide (LPS) in the neonatal period generates a stressful immune stimulation, which is able to change many physiological responses to stress in adulthood.

Objective: To review the literature about the long-term influences in the adult life of the LPS administration during the neonatal period in experimental models.

Materials and Methods: This study consists of an integrative literature review based on the search of scientific articles available in *Medline/Pubmed* and *Science Direct* databases, using the following keywords: *neonatal programming*, *neonatal stress*, *neonatal LPS* and *neonatal lipopolysaccharide*. We have included manuscripts whose content included the use of LPS as a neonatal stressor in experimental protocols, without limits of date.

Results: We selected 15 articles demonstrating that experimental models injecting LPS in neonatal rats results in functional modifications of the hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis as adults, including increased levels of plasma corticosterone. Indeed, there are decreased inflammatory cytokine levels, hyperalgesia, increased sensitivity to stress and increased anxiety and depression behaviors.

Conclusion: The results demonstrate that neonatal LPS administration consists of an effective experimental model of *programming*, leading to a series of immunological and behavioral changes in adulthood.

Keywords: newborn animals; inflammation; animal models; physiological stress.

¹Farmacêutico. Mestre em Biologia Celular e Molecular. Laboratório de Pesquisa em Biofísica Celular e Inflamação, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUCRS), Brasil.

²Acadêmica em Ciências Biológicas. Laboratório de Pesquisa em Biofísica Celular e Inflamação, PUCRS, Brasil.

³Fisioterapeuta. Doutor em Fisiologia pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Pesquisador do Centro Infantil, Instituto de Pesquisas Biomédicas, PUCRS. Professor do Programa de Pós-Graduação em Pediatria e Saúde da Criança e da Faculdade de Enfermagem, Nutrição e Fisioterapia, PUCRS, Brasil.

INTRODUÇÃO

Diversos modelos experimentais têm sido utilizados para demonstrar que intervenções no início da vida, sejam elas pré ou neonatais, podem gerar alterações permanentes que perduram ao longo da vida. O conceito de *programming* tem sido desenvolvido para explicar o processo pelo qual um organismo se adapta aos eventos ambientais através da geração de alterações estáveis no fenótipo. Isto geralmente ocorre em períodos iniciais de desenvolvimento, fazendo com que a exposição a um ambiente adverso possa perturbar o processo de proliferação e diferenciação celular e tenha efeitos duradouros sobre a saúde do indivíduo¹.

O estresse imune pré-natal induzido por lipopolissacarídeo (LPS) ou citocinas, aumenta a ingestão de comida em ratos e leva à obesidade e a distúrbios associados à síndrome metabólica, como o aumento de leptina sérica e resistência à insulina no adulto². Também, modelos como a manipulação no período neonatal têm sido amplamente estudados com a descrição de inúmeras alterações, incluindo diminuição do medo ao explorar ambientes novos³, resposta menos acentuada na secreção de glicocorticóides^{4,5}, diminuição da função reprodutiva^{1,6,7}, diminuição do número de células no *locus coeruleus*⁸, redução da densidade de receptores de angiotensina II na área pré-óptica medial e no núcleo paraventricular⁹, além de importante redução na função renal e nos mecanismos de regulação do equilíbrio hidroeletrolítico¹⁰. De qualquer forma, independente do modelo utilizado, parece bem estabelecido que intervenções nestes períodos importantes provoquem este efeito de *programming*, ou seja, uma “marca” no desenvolvimento de diferentes sistemas que permanece ao longo da vida.

Este parece também ser o caso de modelos que reproduzem situações de inflamação e/ou infecção durante o período neonatal e alteram a responsividade de importantes sistemas na vida adulta¹¹. O período neonatal é um estágio muito importante no desenvolvimento neurológico¹², pois se caracteriza por grande plasticidade e capacidade de reorganização¹³. A administração de LPS no período neonatal gera um

estímulo imunológico estressante¹⁴ capaz de estimular a expressão de citocinas e causar alterações cerebrais em certas regiões do hipocampo de ratos adultos¹⁵, além de ativar o eixo hipotálamo-pituitária-adrenal (HPA) em neonatos¹⁶. Já é sabido que a injeção de LPS em ratos neonatos causa elevações nos níveis plasmáticos de corticosterona e aumenta a sensibilidade do eixo HPA quando adultos, o que altera muitas respostas fisiológicas ao estresse na vida adulta¹⁷. Além disso, a administração de LPS neonatal aliado a uma exposição estressante quando adulto resulta em aumento significativo no comportamento de ansiedade¹⁶.

À parte das evidências em modelos experimentais, nos seres humanos, uma experiência adversa no início da vida, como negligência emocional, pode levar a um aumento da probabilidade do indivíduo desenvolver ansiedade, depressão, doença crônica ou mesmo vício em drogas na vida futura¹⁸. Achados semelhantes foram demonstrados em modelos de primatas com privação parental ou social durante o período neonatal, produzindo adultos socialmente desajustados, tímidos, deprimidos e com alterações na função neuroimune e no eixo HPA¹⁸. Dessa forma, o período neonatal constitui-se em uma fase importante do neurodesenvolvimento para a compreensão da etiologia e da trajetória do desenvolvimento de desordens neuropsiquiátricas na vida adulta, como a ansiedade e a depressão¹².

Assim, o entendimento das repercussões e mecanismos pelos quais variações no período neonatal podem gerar alterações estáveis que perduram ao longo da vida consiste em tema atual e de grande relevância. A alta prevalência de crianças que passam por situações adversas no período neonatal, incluindo processos inflamatórios, justifica a preocupação em conhecer os efeitos dessas intervenções sobre a resposta a situações adversas na vida adulta. Com base nisso, este estudo tem como objetivo revisar a literatura acerca das influências, em longo prazo, que a administração de LPS no período neonatal pode gerar na vida adulta em modelos experimentais.

MATERIAIS E MÉTODOS

O presente estudo consiste em uma revisão

integrativa da literatura com base na busca de artigos científicos disponíveis em diferentes bases de dados. A busca eletrônica nas bases de dados *Medline/PubMed* e *Science Direct*, que fornecem informação técnico-científica de reconhecida qualidade, foi realizada no mês de junho de 2013 utilizando os descritores/unitermos, em língua inglesa, *neonatal programming*, *neonatal stress*, *neonatal LPS* e *neonatal lipopolysaccharide*. Adotou-se como critérios de inclusão as publicações - sem limite de data - cuja temática abordasse os resultados da utilização de LPS como estressor neonatal em protocolos experimentais. Primeiramente, foram analisados títulos e resumos dos resultados das buscas, sendo aqueles estudos que contemplassem a temática proposta selecionados, incluídos e lidos de forma minuciosa. Foram excluídos da seleção estudos realizados em seres humanos e revisões de literatura. A análise minuciosa seguiu referencial teórico, incluindo a leitura exploratória, seletiva, analítica e interpretativa do material empírico¹⁹.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Através das buscas realizadas e de acordo com os critérios descritos anteriormente, foram selecionados e incluídos 15 artigos nesta revisão. Estes são tabulados na tabela 1, que apresenta os trabalhos que fazem uso de LPS como indutor de *programming* neonatal.

A endotoxina LPS é um componente pirogênico imunologicamente ativo da parede celular de bactérias gram negativas endêmica à maioria das espécies de mamíferos. Os vertebrados têm receptores específicos de LPS na superfície de macrófagos, sendo que a administração de LPS imita a resposta comportamental, neuroquímica e neuroendócrina produzida pelo sistema imune em resposta à infecção²⁰. Um único desafio com LPS no período neonatal é capaz de gerar alterações de longo prazo (que permanecem até a vida adulta) na resposta de sistemas fisiológicos²¹. Modelos experimentais de indução de *programming* tem utilizado uma aplicação de LPS no décimo^{2,17,21} ou décimo quarto²²⁻²⁴ dia de vida. No entanto, outros estudos fazem duas aplicações, nos dias 3 e 5^{16,25-31} ou nos dias 7 e 9³² após o nascimento. De maneira geral, os trabalhos

fazem uso de ratos *Wistar*, *Long-Evans*, *Fischer-344*, *Lister-hooded* ou *Sprague-Dawley*.

Uma infecção bacteriana, tal como a mimetizada pela aplicação de LPS, manifesta a resposta central a um desafio imunológico. Patógenos (como o LPS) se ligam a receptores *toll-like* (por exemplo, o receptor de *toll-like* 4, TLR4) em monócitos, macrófagos e adipócitos. Esta ativação inicia uma cascata que contribui para a iniciação da resposta febril e liberação local de prostaglandina E2 (PGE2) a partir do fígado, que atua sobre o vago gerando uma sinalização para o sistema nervoso central e causando elevação inicial de glicocorticoides através do eixo HPA. Posteriormente, há uma série de eventos que culminam com a fosforilação do inibidor I κ B, liberando o fator nuclear NF- κ B que é translocado para o núcleo, onde inicia a transcrição de citocinas pró-inflamatórias, tais como a interleucina 1 β (IL-1 β), interleucina 6 (IL-6) e fator de necrose tumoral α (TNF- α), bem como as citocinas anti-inflamatórias como o antagonista do receptor de IL-1 e interleucina 10 (IL-10). As citocinas são liberadas para a corrente sanguínea e estimulam a enzima ciclooxigenase 2 (COX-2), que regula a conversão de ácido araquidônico para prostaglandina E2 (PGE2). Esta sequência de eventos atua sobre o sistema nervoso central induzindo uma série de respostas fisiológicas que culminam com a produção de febre e ativação mais pronunciada do eixo HPA na luta contra o patógeno invasor³³.

Em relação ao estudo dos possíveis efeitos cumulativos de eventos perinatais, parece haver necessidade de uma abordagem mais integradora. Neste sentido, a utilização de estratégias como um “duplo estímulo” fornece uma plataforma a partir da qual se pode investigar a inter-relação dinâmica entre múltiplos mecanismos, postulando que um primeiro estímulo (genético ou ambiental) durante períodos críticos do desenvolvimento atrapalha a ontogenia dos sistemas neurais, que estabelece uma susceptibilidade a um segundo estímulo na vida adulta¹⁶. Animais adultos submetidos à administração de LPS têm concentrações circulantes das citocinas pró-inflamatórias, IL-1 β , IL-6 e TNF- α , significativamente atenuadas quando tratados com LPS no período

TABELA 1 - Resumo dos principais estudos que fazem uso de LPS como indutor de *programming* experimental neonatal.

Autor	Ano	Animal	Idade (dias) aplicação LPS	LPS (tipo e concentração)	Principais achados
Iwasa et al. ²	2010	<i>Sprague-Dawley</i>	10	100 µg/Kg	Aumento no peso corporal, aumento na injeção de alimento, diminuição de citocinas no hipotálamo e aumento de leptina sérica.
Iwasa et al. ¹⁷	2009	<i>Sprague-Dawley</i>	10	100 µg/Kg	Prevenção da supressão do hormônio luteinizante e atenuação do aumento de citocinas hipotalâmicas.
Iwasa et al. ²¹	2009	<i>Sprague-Dawley</i>	10	100 µg/Kg	Prolongamento do ciclo estral, aumento na expressão hipotalâmica de urocortina 2 e receptores de corticotropina.
Spencer et al. ²²	2010	<i>Sprague-Dawley</i>	14	<i>Escherichia coli</i> 100 µg/Kg	Redução da hipotermia e aumento da hipertermia.
Kentner et al. ²³	2010	<i>Sprague-Dawley</i>	14	<i>Escherichia coli</i> 100 µg/Kg	Diminuição de interleucina-6 sérica e da expressão hipotalâmica de COX-2.
Boissé et al. ²⁴	2005	<i>Sprague-Dawley</i>	14	<i>Escherichia coli</i> 100 µg/Kg	Redução da expressão de COX-2 da medula espinhal.
Walker et al. ¹⁶	2009	<i>Wistar</i>	3 e 5	<i>Salmonella enterica</i> 50 µg/Kg	Aumento no comportamento de ansiedade e de corticosterona.
Knox et al. ²⁵	2009	<i>Sprague-Dawley</i>	3 e 5	<i>Escherichia coli</i> 50 µg/Kg	Diminuição da kisspeptina hipotalâmica.
Tenk et al. ²⁶	2007	<i>Long-Evans</i>	3 e 5	<i>Escherichia coli</i> 50 µg/Kg	Potencialização da ação da atividade locomotora do quimiprole em fêmeas.
Li et al. ²⁷	2007	<i>Sprague-Dawley</i>	3 e 5	<i>Escherichia coli</i> 50 µg/Kg	Aumento do hormônio luteinizante sérico e do receptor de corticotropina pré-óptica.
Shanks et al. ²⁸	2000	<i>Sprague-Dawley</i>	3 e 5	<i>Salmonella enteritidis</i> 50 µg/Kg	Aumento de corticosterona plasmática, diminuição de corticotropina e aumento de arginina-vasopressina em núcleo paraventricular.
Walker et al. ²⁹	2010	<i>Wistar</i>	3 e 5	<i>Salmonella enterica</i> 50 µg/Kg	Aumento da corticosterona plasmática, de interleucina-1 e do fator de necrose tumoral-α no hipocampo quando estresse por contenção.
Sominsky et al. ³⁰	2013	<i>Wistar</i>	3 e 5	<i>Salmonella enterica</i> 50 µg/Kg	Aumento no comportamento de ansiedade, aumento da corticosterona. Aumento do receptor de glicocorticoide provavelmente por um estado de resistência ao glicocorticoide.
Walker et al. ³¹	2006	<i>Fischer-344</i>	3 e 5	<i>Salmonella enteritidis</i> 50 µg/Kg	Atenuação da resposta febril.
Jenkins et al. ³²	2009	<i>Listerhooded</i>	7 e 9	<i>Escherichia coli</i> 500 µg/Kg	Diminuição da parvalbumina em córtex pré-frontal.

neonatal em comparação aos controles, no qual foi aplicado solução salina no princípio da vida. Esta redução na produção de citocinas está associada à redução da fosforilação de IκB no fígado e baço, levando à diminuição da formação de NF-κB e

consequente redução na ativação de prostaglandina E2 (catalisada pela COX-2) no cérebro. Esta linha de raciocínio conduz à possibilidade de que estas alterações possam ser devidas ao prejuízo no *feedback* negativo da corticosterona. Os glicocorticoides

modificam a expressão de citocina, principalmente por suas ações sobre o NF- κ B e eixo HPA³³. Uma única aplicação de LPS durante o desenvolvimento impacta também no processamento sensorial e doloroso em indivíduos adultos, levando a diminuição dos limiares nociceptivos e aumento das respostas a estímulos dolorosos²⁴.

Uma resposta febril competente é parte crucial de defesa do hospedeiro contra infecções, sendo essencial para a sobrevivência. A febre tem um papel importante na potencialização das respostas imunológicas e na alteração da temperatura ótima para o crescimento patogênico (diminuindo sua proliferação). Assim, a diminuição da resposta térmica após a infecção, como em casos de hipotermia na sepse, conduz à menor sobrevivência. Spencer²² mostra que o desafio imunológico com a administração de LPS no período neonatal atenua a hipotermia e acentua a resposta febril em animais adultos submetidos a doses sépticas de LPS, mostrando uma resposta positiva de adaptação. Este dado conflita com outros trabalhos, que mostram atenuação da febre em situações similares³³.

Ainda, ao analisarem-se efeitos comportamentais, sabe-se que o período neonatal é um estágio muito importante na compreensão da etiologia e da trajetória do aparecimento de distúrbios neuropsiquiátricos na vida adulta, como a ansiedade e a depressão¹². Exposição neonatal de LPS em roedores está associada com o aumento do comportamento de ansiedade, independente da exposição estressora no adulto¹⁶. Ratos neonatos tratados com LPS mostram um marcado aumento na sensibilidade ao estresse quando adultos se comparados com controles tratados com salina, mostrando efeito de *programming* do eixo HPA em longo prazo como resposta ao estresse inicial. O mecanismo pelo qual o LPS desenvolve este efeito não é completamente entendido, embora a administração de LPS mimetize os eventos ocorridos durante o estresse infeccioso, incluindo resposta febril, aumento da produção de citocinas como a IL-1 β , IL-6 e TNF- α pelo aumento na atividade da COX-2 e produção de PGE2²⁵. É bem estabelecido que o sistema imune é afetado pelo *status* neurológico do hospedeiro e também afeta a condição neurológica do indivíduo³⁴, ou seja, há uma estreita interação entre os sistemas neuroendócrino e

neuroimune, havendo comunicação bidirecional entre eles²⁹. Um problema no estudo das consequências comportamentais da doença é a dificuldade de separar os efeitos do agente infeccioso em si dos efeitos da resposta imunológica a este agente²⁰.

De maneira geral, o estresse é uma resposta interna ao estímulo ou pressão que muda ou destrói a homeostasia do organismo em resposta a uma alteração ambiental¹. O eixo HPA desempenha papel primordial na regulação da função metabólica. Seu efeito constitutivo é importante componente na resposta ao estresse¹, de tal sorte que alterações neste eixo hormonal são frequentemente associadas a distúrbios de ansiedade e depressão, bem como à violência e agressão³⁵. Animais expostos à endotoxina durante a primeira semana de vida são mais responsivos ao estresse quando adultos, mostrando aumento de hormônio adrenocorticotrópico (ACTH) e corticosterona, além de diminuição de receptores de glicocorticoides no hipotálamo, córtex frontal e hipocampo²⁸. Os glicocorticoides são os primeiros mediadores no *programming* do eixo HPA, sendo assim, seus receptores (responsáveis por seus efeitos) exercem papel fundamental na resposta ao estresse. Em camundongos transgênicos, a redução de 30-50% nos níveis de receptores, resulta em significativa desordem neuroendócrina, metabólica e imunológica¹.

A doença comportamental é um estado de motivação desencadeada pela ativação do sistema imune inato periférico, caracterizada por redução na atividade locomotora nos comportamentos exploratórios³⁶. Vários modelos de estresse precoce em roedores, incluindo o estresse pré-natal e pós-natal, têm sido desenvolvidos para o estudo dos mecanismos neurobiológicos de distúrbios relacionados com ansiedade e depressão. Geralmente, o estresse precoce em animais aumenta o comportamento de ansiedade e depressão, e é acompanhado por alterações funcionais do eixo HPA³⁴. Quando adultos, ratos neonatais infectados com *E. coli* exibem certo número de alterações fisiológicas e comportamentais, incluindo a vulnerabilidade a deficiências cognitivas, redução da resposta da corticosterona ao estresse e diminuição das interações sociais³⁷, sendo este perfil particularmente aparente quando os animais são submetidos a um evento

estressor agudo adicional quando adultos. Uma das observações mais consistentes é que a exposição ao LPS nos estágios iniciais de vida resulta em prole que, na idade adulta, demonstra aumento no comportamento de ansiedade e depressão. Ademais, evidência recente indica que estes resultados comportamentais não estão limitados aos animais expostos isoladamente, mas têm sido demonstrados ao persistirem numa geração subsequente de descendentes, carregados por uma linha materna ou paterna dos animais previamente expostos ao LPS³⁰.

Com isso, esta revisão demonstra os efeitos gerados em longo prazo pela administração neonatal de LPS. Este procedimento vem sendo utilizado largamente na literatura como modelo experimental para estudo dos efeitos do *programming*. Ratos submetidos ao desafio com LPS no início da vida apresentam alterações imunológicas e comportamentais na vida adulta. O “duplo desafio” imunológico sugere alterações funcionais do eixo HPA, o que propicia concentrações circulantes das citocinas pró-inflamatórias IL-1 β , IL-6 e TNF- α significativamente atenuadas, hiperalgesia, aumento na sensibilidade ao estresse e aumento do comportamento de ansiedade e depressão. Um melhor conhecimento destes modelos e seus efeitos, à luz da literatura atual, possibilita que se avance no entendimento dos mecanismos do *programming*, propiciando melhor manejo de seus efeitos.

REFERÊNCIAS

- Xiong F, Zhang L. Role of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in developmental programming of health and disease. *Front Neuroendocrinol.* 2013;34(1):27-46.
- Iwasa T, Matsuzaki T, Kinouchi R, Fujisawa S, Murakami M, Kiyokawa M, Kuwahara A, Yasui T, Irahara M. Neonatal LPS injection alters the body weight regulation systems of rats under non-stress and immune stress conditions. *Int J Dev Neurosci* 2010;28(1):119-24.
- Padoin MJ, Cadore LP, Gomes CM, Barros HMT, Lucion AB. Long-lasting effects of neonatal stimulation on the behavior of rats. *Behav Neurosci* 2001;115:1332-40.
- Levine S. The psychoendocrinology of stress. *Ann NY Acad Science* 1993;697:61-9.
- Meaney MJ, Seema B, LaRocque S, McCormick C, Shanks N, Sharma S, Smythe J, Viau V, Plotsky PM. Individual differences in the hypothalamic-pituitary-adrenal stress response and the hypothalamic CRF system. *Ann N Y Acad Sci.* 1993;697:70-85.
- Gomes CM, Frantz PJ, Sanvitto GL, Anselmo-Franci JA, Lucion AB. Neonatal handling induces anovulatory estrous cycles in rats. *Braz J Med Biol Res.* 1999;32(10):1239-42.
- Gomes CM, Rainecki C, Paula PR, Severino GS, Helena CVV, Anselmo-Franci JA, Franci CR, Sanvitto GL, Lucion AB. Neonatal handling and reproductive function in female rats. *J Endocrinol* 2005;184:435-45.
- Lucion AB, Pereira FM, Winkelmann EC, Sanvitto GL, Anselmo-Franci JA. Neonatal handling reduces the number of cells in the locus coeruleus of rats. *Behav Neurosci.* 2003;117(5):894-903.
- Gomes CM, Donadio MV, Franskoviaki I, Anselmo-Franci JA, Franci CR, Lucion AB, Sanvitto GL. Neonatal handling reduces angiotensin II receptor density in the medial preoptic area and paraventricular nucleus but not in arcuate nucleus and locus coeruleus of female rats. *Brain Research* 2006;1067(1):177-80.
- Donadio MV, Jacobs S, Corezola KL, Melo DA, Dias HB, Reichel CL, Franci CR, Jeckel-Neto EA, Lulhner F, Lucion AB, Oliveira JR, Sanvitto GL. Neonatal handling reduces renal function in adult rats. *Kidney Blood Press Res* 2009;32(4):286-92.
- Karrow NA. Activation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis and autonomic nervous system during inflammation and altered programming of the neuroendocrine-immune axis during fetal and neonatal development: lessons learned from the model inflammation, lipopolysaccharide. *Brain Behav Immun* 2006;20(2):144-58.
- Amani M, Samadhi H, Doosti MH, Azarfarin M, Bakhtiari A, Zolbanin NM, Rahimi MM, Salari AA. Neonatal NMDA receptor blockade alters anxiety- and depression-related behaviors in a sex-dependent manner in mice. *Neuropharmacology* 2013;73:87-97.
- Benatti C, Alboni S, Capone G, Corsini D, Caggia F, Brunello N, Tascetta F, Blom JM. Early neonatal inflammation affects adult pain reactivity and anxiety related traits in mice: genetic background counts. *Int J Dev Neurosci* 2009;27(7):661-8.
- Li XF, Jones JSK, Knox AMI, Wu XQ, Tahsinsoy D, Brain SD, Lightman SL, O'Byrne KT. Neonatal lipopolysaccharide exposure exacerbates stress-induced suppression of luteinizing hormone pulse frequency in adulthood. *Endocrinology* 2007;148:5984-90.
- Jenkins TA, Harte MK, Stenson G, Reynolds GP. Neonatal lipopolysaccharide induces pathological changes in parvalbumin immunoreactivity in the hippocampus of the rat. *Behav Brain Res.* 2009;205(2):355-9.
- Walker AK, Nakamura T, Byrne RJ, Naicker S, Tynan RJ, Hunter M, Hodgson DM. Neonatal lipopolysaccharide and adult stress exposure predisposes rats to anxiety-like behaviour and blunted corticosterone responses: implications for the double-hit hypothesis. *Psychoneuroendocrinology* 2009;34(10):1515-25.
- Iwasa T, Matsuzaki T, Murakami M, Kinouchi R, Ogata R, Kuwahara A, Yasui T, Irahara M. Neonatal lipopolysaccharide exposure attenuates the homotypic stress-induced suppression of LH secretion in adulthood in male rat. *Int J Dev Neurosci.* 2009;27(4):345-9.
- Gilmer WS, McKinney WT. Early experience and depressive disorders: human and non-human primate studies. *J Affect Disord.* 2003;75(2):97-113.
- Gil AC. Como elaborar projetos de pesquisa. 4ª ed. São Paulo: Atlas; 2006.
- Hood KE, Dreschel NA, Granger DA. Maternal behavior changes after immune challenge of neonates with developmental effects on adult social behavior. *Dev Psychobiol* 2003;42(1):17-34.
- Iwasa T, Matsuzaki T, Murakami M, Kinouchi R, Shimizu F, Kuwahara A, Yasui T, Irahara M. Neonatal immune challenge affects the regulation of estrus cyclicity and feeding behavior in female rats. *Int J Dev Neurosci* 2009;27(1):111-4.

22. Spencer SJ, Field E, Pittman QJ. Neonatal programming by neuroimmune challenge: effects on responses and tolerance to septic doses of lipopolysaccharide in adult male and female rats. *J Neuroendocrinol* 2010;22(4):272-81.
23. Kentner AC, McLeod SA, Field EF, Pittman QJ. Sex-dependent effects of neonatal inflammation on adult inflammatory markers and behavior. *Neuroendocrinology* 2010;151:2689-99.
24. Boissé L, Spencera SJ, Mouihatea A, Vergnolle N, Pittman QJ. Neonatal immune challenge alters nociception in the adult rat. *Pain*;119(1-3):133-41.
25. Knox AM, Li XF, Kinsey-Jones JS, Wilkinson ES, Wu XQ, Cheng YS, Milligan SR, Lightman SL, O'Byrne KT. Neonatal lipopolysaccharide exposure delays puberty and alters hypothalamic Kiss1 and Kiss1r mRNA expression in the female rat. *J Neuroendocrinol* 2009;21(8):683-9.
26. Tenk CM, Foley KA, Kavaliers M, Ossenkopp KP. Neonatal immune system activation with lipopolysaccharide enhances behavioural sensitization to the dopamine agonist, quinpirole, in adult female but not male rats. *Brain Behav Immun* 2007;21(7):935-45.
27. Li XF, Kinsey-Jones JS, Knox AM, Wu XQ, Tahsinsoy D, Brain SD, Lightman SL, O'Byrne KT. Neonatal lipopolysaccharide exposure exacerbates stress-induced suppression of luteinizing hormone pulse frequency in adulthood. *Endocrinology* 2007;148(12):5984-90.
28. Shanks N, Windle RJ, Perks PA, Harbuz MS, Jessop DS, Ingram CD, Lightman SL. Early-life exposure to endotoxin alters hypothalamic-pituitary-adrenal function and predisposition to inflammation. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000;97(10):5645-50.
29. Walker AK, Nakamura T, Hodgson DM. Neonatal lipopolysaccharide exposure alters central cytokine responses to stress in adulthood in Wistar rats. *Stress* 2010;13(6):506-15.
30. Sominski L, Fuller EA, Bondarenko E, Ong LK, Averell L, Nalivaiko E, Dunkley PR, Dickson PW, Hodgson DM. Functional programming of the autonomic nervous system by early life immune exposure: implications for anxiety. *Plos One* 2013;8(3):1-13.
31. Walker FR, Hodyl NA, Krivanek KM, Hodgson DM. Early life host-bacteria relations and development: long-term individual differences in neuroimmune function following neonatal endotoxin challenge. *Physiol Behav.* 2006;87(1):126-34.
32. Jenkins TA, Harte MK, Stenson G, Reynolds GP. Neonatal lipopolysaccharide induces pathological changes in parvalbumin immunoreactivity in the hippocampus of the rat. *Behav Brain Res* 2009;205(2):355-9.
33. Spencer SJ, Galic MA, Pittman QJ. Neonatal programming of innate immune function. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2011;300:E11-E18.
34. Kumar V, Sharma A. Is neuroimmunomodulation a future therapeutic approach for sepsis? *Int Immunopharmacol* 2010;10(1):9-17.
35. Neumann ID, Veenema AH, Beiderbeck DI. Aggression and anxiety: social context and neurobiological links. *Front Behav Neurosci* 2010;4:1-12.
36. Frolkis I, Klein Y, Locker C, Adi N, Dahan E, Uretzky G, Shapira I, Sorkine P. Vipera aspis venom reduces lethality and down-regulates tumor necrosis factor-alpha in a rat model of LPS-induced sepsis. *Cytokine* 2010;49(3):319-24.
37. Bilbo SD, Schwarz JM. The immune system and developmental programming of brain and behavior. *Front Neuroendocrinol.* 2012;33(3):267-86.

Endereço para correspondência:

Márcio Vinícius F. Donadio
Av. Ipiranga n° 6690, 2º andar (IPB)
Porto Alegre/RS – CEP 90610-000
Telefone: +55 51 33203500 (r. 2313)
E-mail: mdonadio@puccrs.br