

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

JACKELINE BIANC MARTINS

**MODELOS ANIMAIS PARA ESTUDOS DE TRANSTORNOS
PSIQUIÁTRICOS: UMA REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

Uberlândia – MG
2019

JACKELINE BIANC MARTINS

Modelos animais para estudos de transtornos psiquiátricos: uma revisão bibliográfica

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Instituto de Biologia da Universidade Federal de Uberlândia como requisito básico para a conclusão do Curso de Ciências Biológicas.

Orientadora: Prof^a. Dra. Erika Renata Barbosa Neiro

Uberlândia – MG
2019

MODELOS ANIMAIS PARA ESTUDOS DE TRANSTORNOS PSIQUIÁTRICOS: UMA REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Instituto de Biologia da
Universidade Federal de Uberlândia como
requisito básico para a conclusão do Curso
de Ciências Biológicas.

**Orientadora: Prof^a. Dra. Erika Renata
Barbosa Neiro**

Uberlândia, 27 de junho de 2019.

Nota: _____

Prof^a. Dr^a. Érika Renata Barbosa Neiro, UFU/MG

Prof^a. Dr^a. Elisângela Rosa da Silva, UFU/MG

Prof^a. Dr^a. Vanessa Beatriz Monteiro Galassi Spini, UFU/MG

RESUMO

Os modelos animais para transtornos psiquiátricos envolvem estudos para a esquizofrenia, a depressão, a ansiedade, os transtornos do espectro autista, entre outros, que afetam uma parcela considerável da população mundial. Embora afetem em larga escala a saúde pública, os estudos que abordam estas doenças são lentos e escassos, visto que, durante décadas, a neurobiologia esteve em grande confronto entre o estudo das funções neurais e as dificuldades éticas e práticas. Com isso, os modelos animais atravessam essa barreira e produzem resultados não-invasivos ao estudar as estruturas e funções neurais. No presente trabalho de revisão, serão abordados diferentes modelos de experimentação animal utilizados para estudos de transtornos neuropsiquiátricos e seus parâmetros, bem como a validação farmacológica, com o objetivo de enriquecimento literário sobre os modelos animais para estudos de comportamentos relacionados com ansiedade, depressão, memória e sociabilidade.

Palavras-chaves: modelos animais, comportamento do tipo ansioso, comportamento do tipo depressivo, ansiedade, depressão, memória e sociabilidade.

ABSTRACT

Animal models for psychiatric disorders involve studies for schizophrenia, depression, anxiety, autism spectrum disorders, among others, that affect a considerable portion of the world's population. Although they affect public health on a large scale, the studies that address these diseases are slow and scarce, since for decades neurobiology was in great conflict with the study of neural functions between ethical and practical difficulties. Thus, animal models cross this barrier and produce noninvasive results when studying neural structures and functions. In the present review, we will discuss different animal models experimentation used for studies of neuropsychiatric disorders and their parameters, as well as pharmacological validation, with the objective of literary enrichment on animal models to study behaviors related to anxiety, depression, memory and sociability.

Keywords: animal models, anxiety-like behaviour, depression-like behaviour, anxiety, depression, memory and sociability.

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO.....	1
2.	OBJETIVOS.....	4
3.	METODOLOGIA.....	4
4.	REVISÃO DE LITERATURA.....	5
	4.1 Modelos de Ansiedade.....	5
	4.1.1. Labirinto em Cruz Elevado.....	7
	4.1.2. Labirinto em Zero Elevado.....	10
	4.1.3. Labirinto em T Elevado.....	11
	4.1.4. Campo Aberto.....	12
	4.2. Modelos de Depressão.....	13
	4.2.1. Nado Forçado.....	15
	4.2.2. <i>Chronic Mild Stress</i>	16
	4.3. Modelos de Memória e Sociabilidade.....	17
	4.3.1. Labirinto Aquático de Morris.....	19
	4.3.2. Reconhecimento de Objeto.....	21
	4.3.3. Interação Social.....	21
5.	CONCLUSÃO.....	23
6.	REFERÊNCIAS.....	24

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Aparato utilizado para o Teste Labirinto em Cruz Elevado.....	9
Figura 2 - Aparato utilizado para o teste Labirinto em Zero Elevado.....	10
Figura 3 – Aparato utilizado para o teste Labirinto em T Elevado.....	11
Figura 4 - Aparato utilizado no teste Campo Aberto.....	12
Figura 5 - Aparato utilizado no teste Nado Forçado.....	15
Figura 6 - Aparato utilizado no teste Labirinto Aquático de Morris.....	19
Figura 7 - Aparato virtual do Labirinto Aquático de Morris mostrando o trajeto do animal através da sonda.....	20
Figura 8 - Aparato utilizado no teste de Reconhecimento de Objeto.....	22
Figura 9 - Aparato utilizado para o teste de Interação Social.....	23

1. INTRODUÇÃO

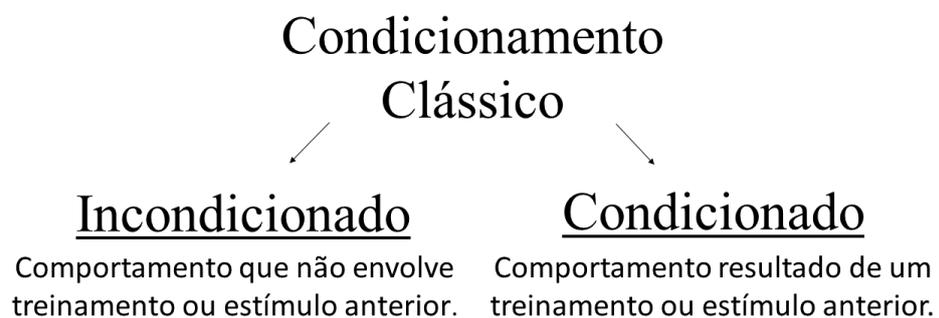
Os modelos animais para estudo de doenças psiquiátricas existentes hoje são resultados de várias pesquisas em comportamento animal baseadas em processos neurais. Segundo CRYAN & HOLMES (2005), os estudos desenvolvidos nas áreas de Etologia e Biopsicologia Comparada contribuíram em larga escala nos estudos sobre processos neurais através do comportamento animal. Essas pesquisas foram inicialmente desenvolvidas por LORENZ E SKINNER, que compararam comportamentos humanos com os de outros animais e conseqüentemente, comportamentos expressos por indivíduos que apresentavam doenças neuropsiquiátricas. Com o passar do tempo, esses estudos se tornaram importantes na medicina e os modelos animais passaram a ser utilizados inclusive para estudos envolvendo testes neurofarmacológicos (CRYAN & HOLMES, 2005).

A Teoria da Evolução de Darwin contribuiu fortemente para estudos na área de Etologia (estudos de comportamento animal comparado) onde antes, acreditava-se que o comportamento inato era imposto pelo “criador” e não um processo evolutivo. Segundo ZUANON (2007, apud LORENZ, 1965), Lorenz foi um dos primeiros cientistas a abordar o comportamento inato resultante de processos fisiológicos e juntamente com outros cientistas, desenvolver a ciência etológica.

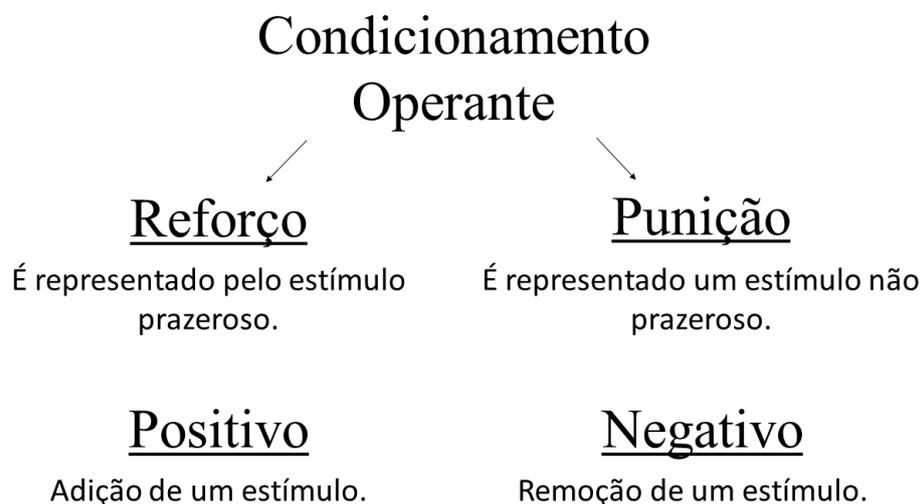
Em 1965, Lorenz refuta a ideia de que todo comportamento deve ser aprendido e sua teoria explica que parte dos comportamentos apontados como aprendidos eram congênitos, sem a necessidade de experiência prévia ou influência, separando assim, os comportamentos inatos dos comportamentos aprendidos (VICEDO, 2009).

Segundo NUZZOLILLI & DILLER (2015, apud SKINNER, 1977), Skinner postulou a ideia chamada de Behaviorismo Radical que sucedeu o Behaviorismo Metodológico de John B. Watson. O Behaviorismo Metodológico estuda o comportamento através da observação, se opondo à introspecção, ou seja, um estudo baseado na experimentação e coleta de dados. Esse modelo foi utilizado por muito tempo até apresentar falhas por se tratar apenas de observações baseadas em comportamentos externos. Dessa maneira, Skinner desenvolveu o Behaviorismo Radical se embasando na sistemática do comportamento, onde aceita todos os fenômenos comportamentais, observando tanto comportamentos internos e externos, rejeitando radicalmente o “mentalismo” por ser ininteligível e inobservável (MATOS, 1995; RACHLIN, 2018).

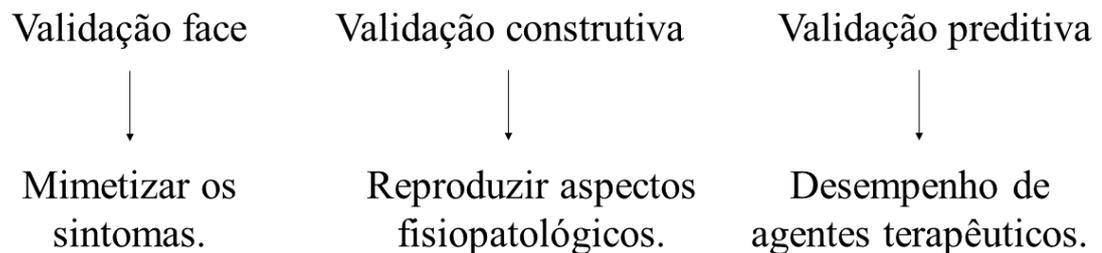
No final de sua carreira, Skinner abordou questões biológicas como a genética, a fisiologia e a evolução, resultando na Teoria do Condicionamento Operante. E, assim como Lorenz, reforçou-se o comportamento inato como um mecanismo de sobrevivência através de um estímulo. Esse assunto é estudado até os dias de hoje, onde o estímulo fornecido no experimento resulta na aprendizagem de um comportamento. Sucedendo o Condicionamento Clássico, que envolve dois tipos de estímulos: condicionado – comportamento resultado de um treinamento ou estímulo anterior – e o incondicionado – comportamento que não envolve treinamento ou estímulo anterior (MORRIS *et al.*, 2004; SKINNER, 1984; DOMJAN, 2005).



Já o Condicionamento Operante se distingue em duas vertentes: o reforço e a punição que podem ser positivos ou negativos. O reforço é representado pelo estímulo prazeroso e a punição é um estímulo não prazeroso, sendo o positivo a adição do estímulo e o negativo a remoção do estímulo. Como por exemplo, um roedor retirar sua pata após uma descarga elétrica, é um comportamento chamado de punição positiva, tornando a ação de colocar a pata no mesmo lugar, improvável (MORRIS *et al.*, 2004; SKINNER, 1984; DOMJAN, 2005).



Para avaliar a validade de um modelo animal, alguns critérios são explorados, como por exemplo, os diferentes tipos de validação: preditiva, de face e construtiva. Os modelos devem satisfazer o maior número de validações possíveis, pois maior é o seu valor, utilidade e relevância. A validade preditiva é o desempenho de agentes terapêuticos que está sendo modelada prediz no teste; a validade face é baseada nas semelhanças fenomenológicas entre o teste e o desempenho, onde procura-se mimetizar os sintomas; e, a validade construtiva é a racionalidade teórica sólida do modelo, onde exponha as mesmas informações biológicas da doença reproduzida pelo modelo (PETIT-DEMOULIERE *et al.*, 2005; WILLNER, 1984; NUNES & HALLAK, 2014).



Posteriormente, outro critério foi elaborado, a validade populacional, se tornando uma extensão da validade face, onde é baseado na taxa de ocorrência do fenótipo de uma doença de uma população epigeneticamente heterogênea animal que deve corresponder a uma situação humana (STEIMER, 2011).

É natural que tanto os animais como os humanos lidem com situações de perigo. Isso ocorre por compartilharem um mesmo ancestral, sendo usual observar estratégias de defesas semelhantes. Os humanos, além de apresentarem comportamentos, também expressam emoções, ou seja, processos mentais que foram fornecidos pelos resquícios de defesa de ancestrais. Por exemplo, DIXON (1998) menciona em seu trabalho que a defesa emocional de uma pessoa pode apresentar uma resistência à terapia, dificultando a divulgação de informações que podem ser válidas, mas que são dolorosas. Animais e humanos compartilham evidências etológicas como comportamentos de escape, submissão, ambivalência, criticidade e afins, e em excesso pode gerar consequências como, por exemplo, afastamento de meios sociais que contribuem para transtornos psiquiátricos (DIXON, 1998; GILBERT & ALLAN, 1998).

Os modelos animais para transtornos psiquiátricos envolvem estudos para a esquizofrenia, a depressão, a ansiedade, os transtornos do espectro autista, entre outros, que

afetam uma parcela considerável da população mundial. Mesmo contribuindo com uma larga escala de efeitos negativos sobre a saúde pública, os estudos que abordam estas doenças são lentos e escassos, visto que, durante décadas a neurobiologia esteve em grande confronto entre o estudo das funções neurais e as dificuldades éticas e práticas. Entretanto, os modelos animais atravessam essa barreira e produzem resultados não-invasivos ao estudar as estruturas e funções neurais. Contudo, é de extrema importância existir modelos animais aptos, dado que, alguns ainda possuem suas limitações, como validação fraca e baixa preditividade das drogas eficazes (NESTLER & HYMAN, 2010).

No laboratório, as condições de estímulo oferecidas pelo animal devem ser as mesmas observadas na natureza, dando uma alta validação ao modelo (CAMPOS *et al.*, 2013). Um dos primeiros a abordar essa validação etológica foi MONTGOMERY (1958), responsável pelo desenvolvimento do Labirinto em Y, onde o animal experimenta em um ambiente controlado o comportamento de aproximação-esquiva, gerado pela curiosidade-medo.

2. OBJETIVOS

No presente trabalho de revisão, serão abordados diferentes modelos de experimentação animal utilizados para estudos de transtornos neuropsiquiátricos e seus parâmetros, bem como a validação farmacológica, com o objetivo de enriquecimento literário sobre os modelos animais para estudos de comportamentos relacionados com ansiedade, depressão, memória e sociabilidade.

3. METODOLOGIA

O presente trabalho foi elaborado a partir de um levantamento bibliográfico nas bases de dados Scielo, MedLine e PubMed, no ano de 2019. Foram utilizadas palavras-chave como “modelos animais”, “ansiedade”, “depressão”, “memória” e “sociabilidade”, bem como outras palavras importantes ao trabalho e suas correspondentes em inglês: “model animals”, “anxiety”, “depression”, “memory” e “sociability”. Os critérios para a seleção dos artigos foram feitos com trabalhos publicados depois de 2000 até o mais recente possível para análise e descrição dos testes e antes de 2000 somente trabalhos renomados.

4. REVISÃO DE LITERATURA

4.1 MODELOS ANIMAIS PARA ESTUDOS DE ANSIEDADE

A ansiedade é geralmente descrita como estado psicológico, fisiológico e comportamental induzido em animais e em humanos por uma ameaça à sua sobrevivência, seja esse perigo real ou potencial. É caracterizada pelo medo, pela esquiva de condições sociais, pelo aumento da excitação, pela expectativa e vem acompanhada por uma ativação do sistema neuroendócrino, além da expressão de comportamentos padronizados diante da situação conflituosa em que o animal se encontra. A expressão desses comportamentos de defesa facilita o confronto em situações inesperadas, mas se tais ajustes perderem o controle podem criar dificuldades para o indivíduo ao lidar com eventos estressores e desafios do dia a dia, podendo inclusive alterar parâmetros fisiológicos, como por exemplo, níveis pressóricos, sono, entre outros (TOTH & NEWMAN, 2013; STEIMER, 2011).

A ansiedade, comumente confundida com o medo, afetam grande parte da população mundial, tornando-se um grande problema social com uma prevalência de 9,3% no Brasil segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS). O medo é caracterizado pela reação a uma situação de perigo iminente e envolve uma reação imediata, preparando o animal para uma situação de "de luta ou fuga", enquanto a ansiedade é uma reação antecipada e/ou incompreendida em determinada circunstância, estando a pessoa em completa atenção e vigilância (HILIMIRE *et al.*, 2015; APARECIDA GELFUSO *et al.*, 2014; MORROUGH *et al.*, 2015). A ansiedade é dividida pela DSM-V (MANUAL DIAGNÓSTICO E ESTATÍSTICO DE TRANSTORNOS MENTAIS, 2014) em: transtorno de ansiedade em separação, mutismo seletivo, fobia específica, transtorno de ansiedade social (SAD), transtorno de pânico, agorafobia, transtorno de ansiedade generalizada (GAD), transtorno de ansiedade induzida por substâncias ou medicamentos.

Entre as estruturas neurais cuja neurotransmissão pode estar afetada nos transtornos de ansiedade estão o córtex pré-frontal, regiões da amígdala, hipocampo, substância cinzenta periaquedutal (PAG), Núcleo Dorsal da Rafe, entre outras áreas pertencentes ou associadas ao Sistema Límbico. A comunicação entre essas estruturas é feita por neurotransmissores, como por exemplo, a serotonina (5-HT), sendo este o neurotransmissor mais bem distribuído no encéfalo. A 5-HT é produzida principalmente no Núcleo Dorsal da Rafe e sua desregulação

pode desencadear alterações comportamentais em pacientes diagnosticados com transtorno de ansiedade e depressão (APARECIDA GELFUSO *et al.*, 2014; OLIVIER, 2015; ZANGROSSI & GRAEFF, 2014; FOSSAT *et al.*, 2014; BAUER, 2015).

Além do envolvimento de estruturas encefálicas na expressão dos comportamentos inatos e condicionados e do seu envolvimento no surgimento de doenças psiquiátricas, o eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HHA) em pessoas saudáveis é caracterizado pela regulação de vários estímulos neuroendócrinos regulatórios que envolvem uma elaborada cascata de mensageiros químicos. A vasopressina (AVP) e o hormônio liberador de corticotrofina (CRH) que são produzidos no hipotálamo, estimulam a secreção do hormônio adrenocorticotrófico (ACTH) pela hipófise anterior. O ACTH estimula o córtex da glândula adrenal a liberar cortisol. Esse mecanismo ocorre através de uma alça de retroalimentação negativa. Em situações de estresse, é possível ocorrer a desregulação do eixo HHA e conseqüentemente, um desequilíbrio do cortisol que está relacionado diretamente com vários transtornos psiquiátricos, como a depressão e a ansiedade (VAN DEN BOS *et al.*, 2016; FOGELMAN & CANLI, 2018).

Segundo FISCHER *et al.* (2017), pacientes com quadros depressivos podem apresentar alta concentração de CRH, ACTH e cortisol, além da redução da sensibilidade a glicocorticoides, possivelmente por uma alteração na expressão de receptores de glicocorticoides (GR) no encéfalo, em sítios onde o CRH e o ACTH atuam.

Essas descobertas são importantes para estudos de fármacos usados em tratamentos para ansiedade e depressão. Sendo assim, para a eficácia de terapias farmacológicas para esses tratamentos, torna-se necessário o estudo das fisiopatogênias de transtornos neuropsiquiátricos dependente de modelos experimentais animais que sejam válidos e adequados. Para isso, são exigidos diversos tipos de metodologias e equipamentos para definir fenotipicamente e/ou farmacologicamente o comportamento e sua neurofisiologia (DE REZENDE PINTO *et al.*, 2012).

Em modelos animais, os comportamentos do tipo ansiosos podem ser induzidos por drogas, por situações estressoras que influenciem o animal enquanto adulto ou durante sua gestação, por situações ambientais extremas como baixas temperaturas, ou que imponham certa limitação de movimentos para o animal (estresse por contenção), entre outras. Essas situações podem ser responsáveis pelo desequilíbrio da neurotransmissão em áreas do humor, por exemplo (DE REZENDE PINTO *et al.*, 2012).

Os fármacos ansiolíticos mais utilizados são o diazepam, o bromazepam, o alprazolam e o clonazepam. Os benzodiazepínicos atuam como ampliadores do neurotransmissor ácido gama-aminobutírico (GABA), potencializando-o em todo sistema nervoso central, principalmente em áreas envolvidas com o humor. Existem mais de 50 benzodiazepínicos com diferentes efeitos clínico-farmacológicos, e essa classe é conhecida por ter um efeito imediato, sendo utilizada no transtorno de ansiedade generalizada (GAD) e outras condições crônicas. Os efeitos clínico-farmacológicos podem ser explicados pelo aumento da atividade do neurotransmissor GABA, que foi potencializada pelos receptores agonistas (que é capaz de se ligar e ativar a resposta biológica) de benzodiazepínicos, facilitando a atividade do GABA, reduzindo a ação de neurotransmissores excitatórios, entre eles a norepinefrina, a epinefrina e a dopamina (ALTAMURA *et al.*, 2013; WICK, 2013; BERNIK, 1999).

Outro tipo de fármaco que pode ser utilizado para o tratamento de transtornos de ansiedade são os anticonvulsivantes. O transtorno de ansiedade e a depressão são as condições comórbidas mais frequentes em indivíduos com epilepsia. O sucesso dos anticonvulsivantes no tratamento da epilepsia fez com que vários pesquisadores investigassem seus efeitos ansiolíticos. PACKER *et al.* (2017) utilizaram o teste do Labirinto em Cruz Elevado (LCE) descrito logo abaixo, para demonstrar os efeitos ansiolíticos da imepitoína, uma droga anticonvulsivante muito utilizada na medicina veterinária para o tratamento de cães com epilepsia idiopática. Esse fármaco possui rápida ação e é um agonista de baixa afinidade para os benzodiazepínicos. ENGEL *et al.* (2018) também utilizaram o LCE para testar a imepitoína com doses de 10 a 30 mg/kg observando um aumento na porcentagem de entradas e tempo gasto nos braços abertos, que são parâmetros que indicam baixo nível de ansiedade. Assim, concluíram que a imepitoína possui compostos ansiolíticos semelhantes aos de benzodiazepínicos.

4.1.1 TESTE DO LABIRINTO EM CRUZ ELEVADO (LCE)

O LCE é um método que avalia as respostas de ansiedade em roedores, descrito pela primeira vez por PELLOW *et al.* em 1985. O trabalho de PELLOW revela que os métodos antigos para a validação de ansiolíticos se baseavam na aplicação de choques elétricos, na privação de comida e de água com o objetivo de estimular o medo no animal, acabando por alterar respostas a drogas e até o padrão de alimentação pós-teste. Por provocarem reações

aversivas nos animais e não necessariamente respostas de medo inato, tais procedimentos experimentais foram considerados inapropriados, principalmente no que dizia respeito à validação farmacológica. Assim, PELLOW e colaboradores (PELLOW *et al.*, 1985) procuraram descrever um método que fosse simples, rápido e efetivo, capaz de gerar respostas comportamentais espontâneas nos animais. A criação do LCE baseou-se no método de MONTGOMERY (1958) e HANDLEY & MITHANI (1984). O método de MONTGOMERY, foi descrito como Labirinto em Y Elevado, onde há uma estimulação de novidade, provocada por medo e ao mesmo tempo comportamento de exploração, consequentemente, comportamento de aproximação, gerando conflito entre aproximação e esquiva (MONTGOMERY, 1958). Já HANDLEY & MITHANI (1984), desenvolveram o Labirinto em X Elevado, onde dois braços são abertos e dois são fechados, assim como no LCE, sendo um dos primeiros modelos a testar drogas ansiolíticas.

Por sua simplicidade e pela invocação do medo natural nos animais, o uso do LCE tornou-se fundamental para estudos na área de neuropsicofarmacologia. O teste permite o estudo dos efeitos de fármacos ansiolíticos e ansiogênicos, de drogas de abuso, de compostos naturais como geleia real, resveratrol, ômega-3, além de hormônios, sobre os comportamentos do tipo ansiosos expressos pelos animais submetidos ao modelo (COIMBRA *et al.*, 2017; DE REZENDE PINTO *et al.*, 2012).

A estrutura do LCE pode ser feita de madeira, acrílico ou polietileno e permanece a uma altura de 30 a 50 cm do solo. Consiste em dois braços abertos e dois braços fechados perpendiculares (Figura 1), de 25 a 35 cm de comprimento por 5 a 10 cm de largura e 15 cm de altura das paredes dos braços fechados. COIMBRA *et al.* (2017) afirmam que a adaptação das paredes opacas por paredes transparentes no aparato pode aumentar os níveis de sensibilidade à ansiolíticos. Assim, o animal é colocado no centro da estrutura e é observado por cerca de 5 a 10 minutos. Os parâmetros mais utilizados para o estudo dos comportamentos do tipo ansiosos em roedores são o número de entrada nos braços abertos e nos braços fechados, a porcentagem de tempo gasto nos braços abertos e nos braços fechados (DE REZENDE PINTO *et al.*, 2012).

Figura 3. Aparato utilizado para o teste Labirinto em Cruz Elevado



Fonte: Ari (2019)

Nos últimos anos, os parâmetros comportamentais considerados como representativos de ansiedade no LCE foram ampliados, sendo considerados também a expressão da *tigmotaxia* (o animal se protege em superfícies verticais, como nos braços fechados), comportamentos exploratórios (o animal observa por cima dos braços abertos qualquer tipo de movimento), *head dipping* (o animal faz uma exploração mais arriscada, olhando pra baixo na extremidade do espaço aberto), exploração do braço final (o animal explora o fim do braço aberto), postura *stretch-attend* (o animal alonga e encurta o corpo como sinal de aproximação-esquiva), aproximação *flat-back* (o animal se movimenta para frente lentamente puxando o corpo), *rearing* (o animal se levanta e suporta o corpo em duas patas traseiras), espionagem (o animal observa o centro do aparato com o corpo dentro do braço fechado), *grooming* (o animal realiza autolimpeza com a utilização da língua e das patas), imobilização ou congelamento motor (o animal fica completamente imóvel) (COIMBRA *et al.*, 2017; SORREGOTTI *et al.*, 2013; DOW *et al.*, 2011).

É amplamente discutido pela literatura especializada na área da etologia que os comportamentos do tipo ansiosos expressos pelos animais no LCE se dão pela aversão aos espaços abertos e elevados do chão. Quando os roedores são confinados nos braços abertos, demonstram respostas comportamentais e fisiológicas ligadas ao medo como congelamento

motor, defecação e o aumento de corticosteroides no plasma sanguíneo. O maior motivo considerado na literatura para a aversão aos espaços abertos no labirinto é a *tigmotaxia* – instinto natural de defesa do animal onde ele se protege em superfícies verticais. Outros motivos considerados são o medo de altura e da novidade, embora TREIT *et al.* (1993) tenham testado várias alturas e esse fato parece não ter sido determinante para a aversão aos braços abertos (FILGUEIRAS, 2014; TREIT *et al.*, 1993).

4.1.2 TESTE DO LABIRINTO EM ZERO ELEVADO (LZE)

O labirinto em zero elevado é um modelo baseado no LCE, desenvolvido por SHEPHERD (1994), que busca eliminar a ambiguidade dos braços quando o animal é colocado no centro do aparato. A estrutura também é elevada do chão, mas em formato circular (Figura 2), com estrutura formada por acrílico, opaco, na qual possui alternância de quadrantes com espaços abertos e com espaços fechados, sendo iluminados ou escuros. O modelo segue a mesma premissa e os mesmos parâmetros abordados no LCE, na qual o animal é colocado em um dos quadrantes fechados (CAMPOS *et al.*, 2013; BRAUN *et al.*, 2011), sendo que os fármacos que atenuaram a esquiva nos espaços abertos foram a anfetamina e o clordiazepóxido (ENNACEUR & CHAZOT, 2016).

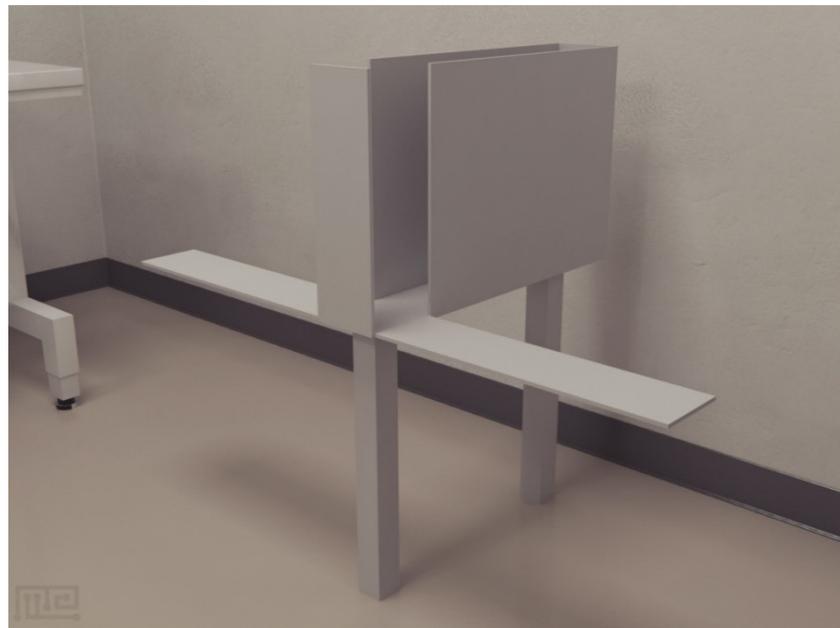
Figura 4 - Aparato utilizado para o teste Labirinto em Zero Elevado



4.1.3 LABIRINTO EM T ELEVADO (LTE)

O Labirinto em T Elevado (LTE), também baseado no LCE, foi desenvolvido por FREDERICO GRAEFF *et al.* (1994, APUD CAMPOS *et al.*, 2013), na qual, o principal objetivo foi elaborar um modelo que eliminasse a ambiguidade de escolha entre o braço fechado e aberto que podem generalizar a ansiedade, separar esses diferentes tipos de medo e ansiedade e gerando dois tipos de comportamentos de defesa: esquiva e fuga. O aparato possui o formato em T, com um braço fechado e dois braços abertos perpendiculares entre si (Figura 3), elevados aproximadamente 50 cm do chão. A diferença do LTE com o LCE é o comportamento observado, na qual, pode possuir dois tipos de respostas, tanto condicionadas ou de esquiva inibitória (quando o animal é colocado na porção distal do braço fechado, na interseção dos dois braços abertos, o animal tende a permanecer no braço fechado), como incondicionadas ou de fuga (quando o animal é colocado no final de um dos dois braços abertos, o animal tende a correr para o braço fechado) (GRAEFF, 2003; CRUZ *et al.*, 2012).

Figura 3 – Aparato utilizado para o teste Labirinto em T Elevado



Fonte: Site - Maze Engineers. Disponível em: < <https://mazeengineers.com/portfolio/elevated-t-maze/> > Acesso em junho de 2019.

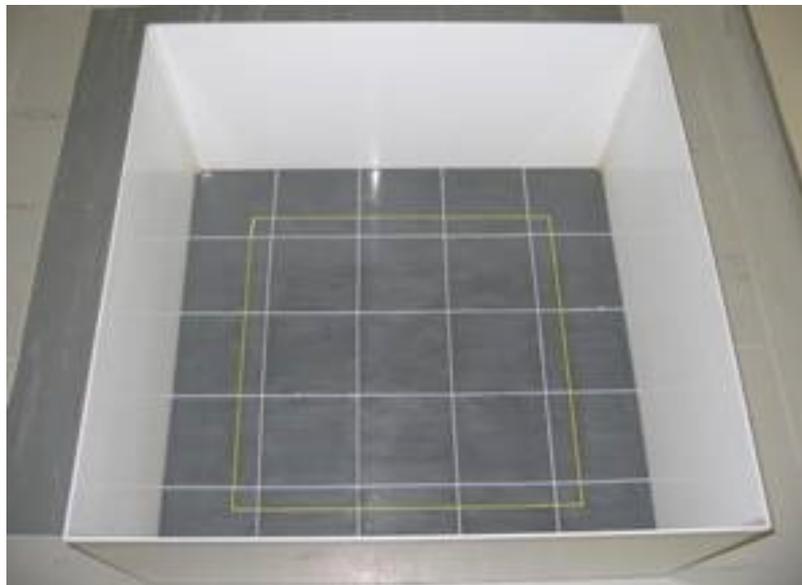
São realizadas duas medidas de aprendizagem: a primeira medida é quando o animal é colocado na extremidade distal do braço fechado e mede-se o tempo gasto do animal em sair do braço com as quatro patas por três tentativas; a segunda medida é quando o animal é colocado na extremidade de um dos braços abertos por quatro tentativas e mede-se o tempo

gasto de fuga do animal. Pesquisas realizadas com drogas ansiolíticas indicam que o comportamento de esquiva inibitória é reduzida, associando com o transtorno de ansiedade generalizada (TAG), já o comportamento de fuga somente é reduzido quando tratado com fármacos antidepressivos, associando com transtorno de pânico (GRAEFF, 2003; CRUZ *et al*, 2012).

4.1.4 CAMPO ABERTO (CA)

O CA foi introduzido pela primeira vez por CALVIN HALL em 1934. Inicialmente, HALL (1934, APUD WALSH & CUMMINS, 1976) se baseava em apenas um parâmetro para observar o comportamento dos roedores, a defecação, sendo o aparato circular aberto com paredes ao redor para evitar a fuga. Atualmente, o aparato pode possuir formatos quadrados e retangulares, com demarcações no assoalho em forma de quadrantes (Figura 3) para quantificar a movimentação do roedor. O comportamento mais observado é a *tigmotaxia*, em que o animal permanece próximo a superfícies verticais, devido à sensação tátil das vibrissas (CRUZ *et al.*, 2012; STANFORD, 2007).

Figura 4 - Aparato utilizado no teste Campo Aberto



Fonte: Smith (2012)

A *tigmotaxia* acaba sendo o fator mais importante no CA, sendo possível a quantificação do efeito ansiogênico do comportamento. Sem as vibrissas, o animal perde essa sensação tátil das superfícies verticais e acaba tendo aumento de atividade na região central do aparato, gerando uma interpretação equivocada dos resultados. Segundo SIMON *et al.*

(1994), o comportamento de *tigmotaxia* pode ser comparado com *agorafobia* – medo de espaços abertos – estando o animal sempre alerta e preparado para fuga. Outra variável apresentada que tem ser induzida pelo experimentador é a privação de água e de comida que pode produzir um aumento da exploração nas regiões centrais, e a última variável é a iluminação, que deve acompanhar o ciclo claro-escuro do ambiente em que o animal está inserido (PRUT, 2003; WALZ *et al.*, 2016; LEPPANEN *et al.*, 2005).

Usualmente, o experimento dura cerca de 6 minutos e o roedor é colocado no centro do aparato ou próximo as paredes, observando-se a movimentação horizontal através das demarcações do assoalho, movimentos verticais de *rearing* (o animal se levanta e suporta o corpo em duas patas traseiras), e *grooming* (o animal realiza autolimpeza com a utilização da língua e das patas). Os efeitos ansiolíticos que são observados são o aumento do tempo gasto na região central do aparato e a diminuição de níveis de latência de entradas na região central (PRUT, 2003; STANFORD, 2007; COLLA *et al.*, 2015).

Em alguns casos, o aparato pode apresentar uma gaiola que se abre para o CA, tornando-se possível a observação do parâmetro exploração e o conflito com eventos de estresse, visto que, o estresse causa inibição no comportamento de exploração (STANFORD, 2007). Segundo RAMOS (2008), é possível realizar testes múltiplos com a junção do CA, LCE e da caixa claro-escuro (*light-dark box*) e afirma que nenhum modelo é ideal, sendo possível observar diferentes comportamentos em roedores. Os testes múltiplos podem contribuir para uma melhor aprendizagem comportamental, conseqüentemente, melhores resultados.

Os fármacos normalmente testados no campo aberto são a classe dos benzodiazepínicos e seus compostos ansiolíticos, neurotransmissores como a serotonina, compostos estimulantes como a anfetamina e cocaína, sedativos e anticonvulsivantes (PRUT, 2003; SHAW *et al.*, 2007; ENGEL *et al.* 2018).

4.2 MODELOS ANIMAIS PARA ESTUDO DA DEPRESSÃO

Atualmente a depressão é a enfermidade psiquiátrica que mais ocorre no mundo e o maior transtorno associado ao suicídio, que se tornou uma preocupação de saúde pública ao

ser associada com altas taxas de mortalidade. A Organização Mundial de Saúde (2009) ressaltou que no ano de 2030 a depressão será a maior causa de incapacidade e a maior taxa entre as doenças no mundo. No Brasil, a ansiedade e depressão lideram o *ranking* das doenças psiquiátricas nos últimos 10 anos. Uma das hipóteses para a etiologia da depressão, entre outros transtornos de humor, seria a desregulação de sistemas de neurotransmissores. Pesquisas apontam que pacientes com depressão possuem baixa concentração de monoaminas, como a serotonina e norepinefrina no Sistema Nervoso Central. A serotonina, é um importante neurotransmissor que atua na saciedade, sono, humor, agressividade e sua desregulação pode alterar todos esses comportamentos. Sendo assim, vários fármacos antidepressivos vêm sendo desenvolvidos para aumentar a permanência das monoaminas no encéfalo e aumentar a neuroplasticidade, que é um termo genérico para a capacidade do encéfalo em se adaptar às condições ambientais internas ou externas (LIN *et al.*, 2015; YANG *et al.*, 2015; KRAUS 2017; DE MATOS FEIJÓ *et al.*, 2010).

A depressão é um transtorno de humor relacionado ao estado emocional/mental do indivíduo, como a perda de um ente querido, do emprego, situações sociais frustrantes, como a inadimplência e podendo ser desencadeado por outros tipos de transtornos, como a ansiedade, a esquizofrenia, a doença de Alzheimer e doenças, como o câncer, a diabetes, etc. Os sintomas para esse transtorno, segundo a DSM-V são a anedonia, que é a perda de sensações prazerosas, como também a perda de apetite, do sono, desmotivação, anergia, irritabilidade, angústia, tristeza e a intenção de suicídio. Pode causar prejuízos sociais e sofrimento, prejudicando a rotina do indivíduo. A depressão também pode ser causada por eventos puramente fisiológicos, como o câncer, alterações do sistema endócrino (hipo/hipertireoidismo) e eventos estressores, que podem por exemplo, desregular o eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HHA) e desencadear uma série de alterações no organismo (DISNER *et al.*, 2011; YANG *et al.*, 2015; HUANG *et al.*, 2016; RAMAKER & DULAWA, 2017; O MANUAL DE DIAGNÓSTICO E ESTATÍSTICO DE TRANSTORNOS MENTAIS, 2014).

As possíveis regiões encefálicas envolvidas na etiologia da depressão são a amígdala, o tálamo, o hipocampo, o córtex do cíngulo, o córtex pré-frontal e o striatum, sendo essas estruturas reguladoras dos efeitos sintomáticos do transtorno. Assim como na ansiedade, o eixo HHA pode apresentar uma alteração e estar relacionado à depressão. Neurotransmissores como a serotonina e a norepinefrina atuam no hipotálamo e influenciam a liberação do hormônio liberador de corticotropinas (CRH), que na hipófise anterior irá levar a secreção do hormônio adrenocorticotropico (ACTH), estimulando a produção de

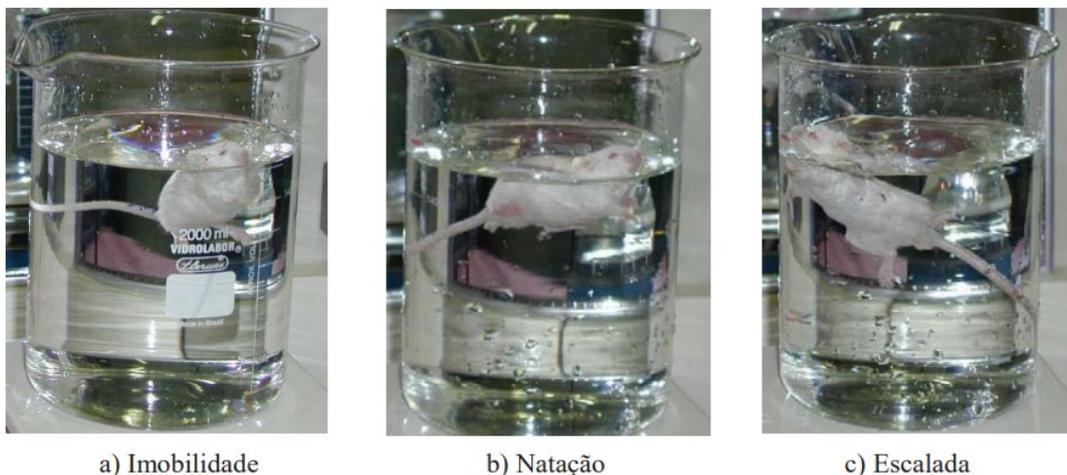
glicocorticoides pelas adrenais. Os glicocorticoides, como o cortisol, podem contribuir para a alteração do volume hipocampal, afetando a memória do indivíduo, além de comprometer outras áreas importantes do encéfalo que regulam a emoção e a recompensa, afetando também o córtex pré-frontal, levando a degeneração de astrócitos e perda de neuroglia (YANG *et al.*, 2015; KRAUS, 2017; BRUMMELTE & GALEA, 2015).

Os modelos animais para o tratamento da depressão exigem muita investigação, acuidade, atenção, validação e interpretação rígida, pois a pesquisa em humanos é limitada, sendo os animais de laboratório essenciais e necessários para a descoberta de novas drogas e terapias (KRISHNAN & NESTLER, 2011; RAMAKER & DULAWA, 2017).

4.2.1 TESTE DO NADO FORÇADO (NF)

O NF foi desenvolvido por PORSOLT *et al.* em 1978, com a finalidade de estudar comportamentos do tipo depressivos em roedores. O modelo se baseia em um aparato cilíndrico, preenchido com água em temperatura ambiente de aproximadamente 25° C onde o animal é colocado (Figura 5). O experimento é iniciado com um pré-teste, sendo o animal posicionado no aparato por 15 minutos e após 24 horas é realizado o teste com duração de 5 minutos. O teste é realizado com o intuito de investigar o nado ou a imobilidade passiva com o passar do tempo. A imobilidade é uma característica onde o animal mantém apenas os movimentos necessários para se sustentar com o nariz para fora da água e é um dos comportamentos do tipo depressivo observados nesse modelo, podendo a aplicação de antidepressivos ser realizada entre o pré-teste e o teste (BOGDANOVA *et al.*, 2017; ENGINAR *et al.*, 2016; NAZARI *et al.*, 2016).

Figura 5 - Aparato utilizado no teste Nado Forçado



Com o passar dos anos, o NF sofreu algumas adaptações, como por exemplo, DETKE & LUCKI (1995, APUD BOGDANOVA *et al.*, 2017), abordam que, além do comportamento de imobilidade, há a escalada e o nado (Figura 5), observados principalmente em ratos. Através da análise desses comportamentos, é possível observar padrões de antidepressivos que inibem seletivamente a captação de norepinefrina (NE) e serotonina (5-HT), aumentando sua concentração no encéfalo, impedindo a execução de comportamentos do tipo depressivos. Os inibidores da captação de NE diminuem a imobilidade e aumentam a escalada sem alterar o nado, já os inibidores da captação de 5-HT, diminuem a imobilidade e aumentam o nado sem alterar a escalada (ENGINAR *et al.*, 2016).

O NF pode ser utilizado para testar efeitos antidepressivos do baclofeno, um agonista de receptores do GABA_B que induz comportamentos do tipo depressivo nos roedores (NAZARI *et al.*, 2016). Também foram utilizados para testar efeitos antidepressivos, o vortioxetina e a fluoxetina, dois antidepressivos da classe de inibidores seletivos da recaptação de serotonina (RATAJCZAK *et al.*, 2019).

De acordo com PETIT-DEMOULIERE *et al.* (2005), o NF possui uma boa validação referente à face e preditividade, entretanto, uma pobre validação construtiva, o que torna uma desvantagem, dado que, um bom modelo deve satisfazer todas as validações. Mesmo com baixa validação construtiva, ainda assim, o NF ainda é usado para testar efeitos de antidepressivos para tratamento. HOLMES (2003, APUD PETIT-DEMOULIERE *et al.*, 2005) caracteriza o NF como um modelo de comportamentos de estresse induzido que não tem nenhuma relação com os sintomas depressivos expressados por humanos, mas que é sensível a fármacos monoaminérgicos.

O NF é um modelo é bastante utilizado e isso se dá pelo motivo de que o teste proporciona o desenvolvimento de vários agentes, se tornando a maior vantagem do modelo, tendo uma excelente validação preditiva (COMMONS *et al.*, 2017).

4.2.2 CHRONIC MILD STRESS (CMS)

O *chronic mild stress* é um modelo que predispõe o animal a estressores gerando, consequentemente, alterações comportamentais semelhantes aos sintomas depressivos em humanos. Foi desenvolvido por KATZ *et al.* em meados dos anos 80, sendo que o estresse

aplicado sobre os animais era extremamente severo, como por exemplo, a privação de comida por 48 horas (WILLNER, 2005).

Conforme a progressão da ética na época, os métodos severos tiveram de ser adaptados para procedimentos menos invasivos, chamados de “moderadamente estressantes”. O modelo foi adaptado por WILLNER (2005, APUD MARCO *et al.*, 2016), na qual o animal é disposto a micro estressores aleatórios no período de 6 semanas, podendo ser eles: confinamento em um espaço fechado durante 1 hora, confinamento em uma gaiola inclinada em um ângulo de 30° por 3 horas, acomodação em uma cama úmida por 8 horas, privação de alimentos por 18 horas com 1 hora de exposição de alimentos inacessíveis, privação de água por 18 horas com 1 hora de exposição de uma garrafa vazia e ciclo de claro-escuro invertidos por 48 horas a cada 7 dias (MARCO *et al.*, 2016).

De acordo com WILLNER (2017), o teste *chronic mild stress* é considerado o modelo para depressão que possui maior validação face, construtiva e preditiva, quanto qualquer outro modelo. É um modelo que possui muito sucesso em seus resultados na descoberta de novos fármacos, como por exemplo, o escitalopram e a venlafaxina, antidepressivos da classe dos inibidores seletivos da serotonina e, serotonina e noradrenalina, respectivamente. E, o comportamento induzido por estresse do tipo depressivo e ansioso pode ser avaliado por outros testes como o labirinto em cruz elevado e o nado forçado.

4.3 MODELOS ANIMAIS PARA ESTUDO DA MEMÓRIA E DA SOCIABILIDADE

A memória é um dos mecanismos indispensáveis para a vida, para lembrar o passado e planejar o futuro, e mesmo que tenha suas imperfeições, é fundamental para alinhar todos os fragmentos de informações juntas. E quando instável, os organismos são incapazes de realizar suas funções, e conseqüentemente, a qualidade de vida (CRYSTAL & WILSON, 2015; SCHACTER & ADDIS, 2007; MORE *et al.*, 2016).

Existem vários trabalhos que abordam a memória retrospectiva, que são ações advindas do passado, e atualmente, os pesquisadores procuram estudar a memória prospectiva, que é fundamentada na ação de intenções futuras advindas de lembranças, como por exemplo, lembrar-se de como desliga o telefone, lembrar-se de tomar uma medicação, ou

seja, ações de extrema importância para a rotina de um indivíduo (GORDON *et al.*, 2011; CRYSTAL & WILSON, 2015; IHLE *et al.*, 2017).

É provável que uma memória seja esquecida quando outra memória se sobrepõe a ela, por exemplo, o indivíduo pode esquecer-se de tomar seu remédio se estiver preocupado com uma apresentação na faculdade (HARRISON *et al.*, 2014). Essa alta demanda na rotina é mais árdua em indivíduos que possuem déficits na memória prospectiva, como por exemplo, na Doença de Parkinson, onde o indivíduo necessita de várias funções da memória prospectiva, como o planejamento do movimento. Outras doenças também são citadas em trabalhos sobre a memória prospectiva, tais como, Alzheimer e Huntington, assim como o envelhecimento, onde se apresenta maior incidência dessas doenças (KLIEGEL, 2011; MORE *et al.*, 2016).

Os modelos animais envolvendo estudos da memória são essenciais para o desenvolvimento de drogas que procuram tratar seus déficits, porém esses estudos são escassos e os que existem não explicam com detalhes toda a fisiopatologia da doença. Na Doença de Alzheimer, por exemplo, pode haver déficits na regulação de neurotransmissores como a acetilcolina em áreas importantes do encéfalo, tais como o córtex pré-frontal e o hipotálamo, sendo que a baixa dosagem desses neurotransmissores pode ter efeitos na memória e aprendizagem, causando falha na memória (MORE *et al.*, 2016).

Assim como a memória, as interações sociais são importantes para o desenvolvimento do indivíduo e as alterações nessas interações são capazes de gerar estresse emocional e psicológico. Em algumas patologias como o transtorno do espectro autista, a esquizofrenia, o medo, a ansiedade e a depressão, os indivíduos são comumente representados como introvertidos, por manterem comportamentos e comunicações sociais retraídos, dado que, todo tipo de sociabilidade se torna um desafio (HOLLIS & KABBAJ, 2018; KAZDOBA *et al.*, 2016; BLANCO-GANDÍA *et al.*, 2015).

O comportamento social em modelos animais é de extrema importância em experimentos como forma de se entender as psicopatologias que alteram a sociabilidade. Alguns sintomas são pertinentes ao quadro clínico dessas doenças, como a anedonia (incapacidade de sentir prazer), a alogia (ausência de pensamento), a avolição (falta de vontade) e o retraimento social. Esses comportamentos são facilmente avaliados em roedores por terem uma breve semelhança ao comportamento humano, como por exemplo, uma ação provocada por um novo objeto e gerando estímulo de exploração (KANARIK & HARRO, 2018; OSBORNE *et al.*, 2017; RAWAS & SARIA, 2016).

4.3.1 LABIRINTO AQUÁTICO DE MORRIS (LAM)

O labirinto do aquário do Morris foi desenvolvido por RICHARD G. MORRIS em 1981 como um modelo animal para avaliar a aprendizagem espacial e a memória. O aparato consiste em um tanque circular preenchido com água, podendo-se adicionar leite em pó para tornar a água opaca, sendo a estrutura na cor branca para roedores pretos e na cor preta para roedores brancos. O tanque possui em seu assoalho uma marcação que o divide em quatro quadrantes e uma plataforma submersa ao tanque (GALLAGHER *et al.*, 2015; BROMLEY-BRITS *et al.*, 2011; BARNHART *et al.*, 2015).

Figura 6 - Aparato utilizado no teste Labirinto Aquático de Morris

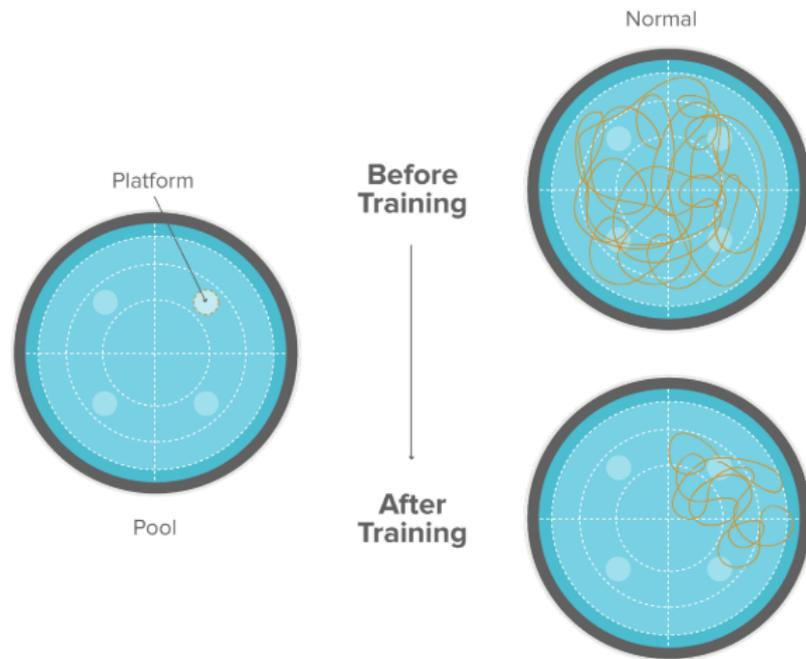


Fonte: Site - Maze Engineers. Disponível em: <<https://mazeengineers.com/portfolio/morris-water-maze/>> Acesso em junho de 2019.

São feitos vários pré-testes (normalmente 4/dia) de duração máxima de 2 minutos para ratos e 1 minuto para camundongos, onde o roedor é colocado dentro do aparato para iniciar o trajeto e o experimentador deve orientar o animal até uma plataforma que é inserida em pontos aleatórios, o intervalo entre os pré-testes pode variar entre 5 a 15 segundos (caso o animal não consiga chegar até a plataforma) e 5 a 15 minutos (caso o animal consiga chegar até a plataforma). No teste, é necessário a implantação de uma sonda no animal (Figura 7) para visualizar o caminho em que o animal percorre e o tempo em que ele demora para achar a plataforma. Em alguns estudos, é discutida a importância de ter um tempo maior no teste com a sonda, para que o resultado não seja apenas uma referência da memória de curto prazo. VORHEES & WILLIAMS (2006), mencionam em sua revisão outras adaptações de testes

que podem ser realizadas, e muitos estudos afirmam que os roedores jovens têm mais facilidade em encontrar a plataforma e nadam mais rápido do que os mais velhos, sendo necessário a utilização de animais adultos (TOMÁS PEREIRA & BURWELL, 2015; BROMLEY-BRITS *et al.*, 2011).

Figura 7 - Aparato virtual do Labirinto Aquático de Morris mostrando o trajeto do animal através da sonda



Fonte: Site - Maze Engineers. Disponível em: < <https://mazeengineers.com/portfolio/virtual-reality-morris-water-maze/> >
Acesso em junho de 2019.

O modelo é altamente utilizado para estudos neurobiológicos de áreas associadas ao Sistema Límbico, como por exemplo, transtornos neurocognitivos como o Alzheimer e contribui para evidenciar fatores genéticos e ambientais que podem influenciar o desenvolvimento neural (GALLAGHER *et al.*, 2015; BROMLEY-BRITS *et al.*, 2011; BARNHART *et al.*, 2015).

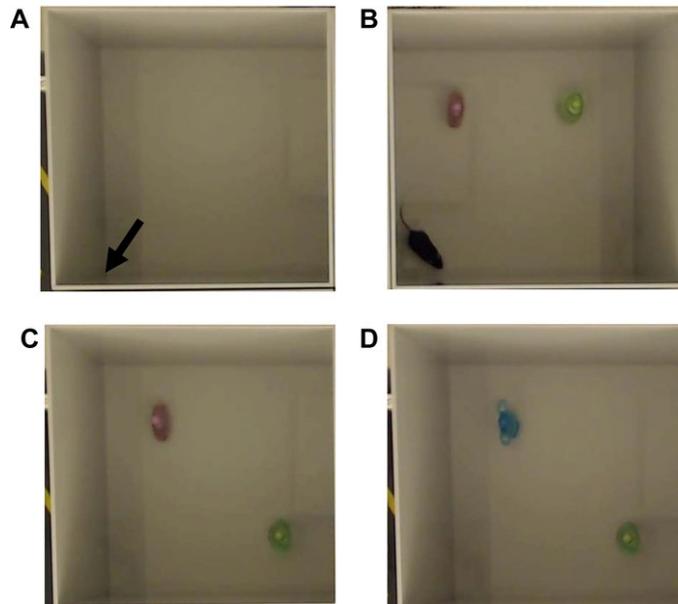
A aprendizagem espacial exercida pelo animal contribui para uma melhor exploração, na qual envolve uma procura maior de informações referente ao ambiente. Essa exploração do ambiente é uma ferramenta capaz de esquematizar a memória espacial executada pelos roedores durante os experimentos (KUPFERSCHMID *et al.*, 2017; VORHEES & WILLIAMS, 2006).

4.3.2 TESTE DE RECONHECIMENTO DE OBJETO (RO)

Roedores apresentam um instinto nato de exploração, sendo o reconhecimento de objeto um teste cujo objetivo é estimular no animal comportamentos provocados pela novidade, como a exploração. Foi desenvolvido para experienciar a preferência dos animais, pelo o objeto novo ou familiar, bem como analisar fármacos de tratamento para déficits de memória (ANTUNES & BIALA, 2012; LUCON-XICCATO & DADDA, 2016), na qual foi originalmente estabelecido por ENNACEUR & DELACOUR em 1988 para ser utilizado em roedores pelo seu instinto inato de exploração, não sendo necessário o uso de privação de comida ou água e a aplicação de choques elétricos (LUEPTOW, 2017).

É apresentado dois objetos novos que o animal nunca teve contato (Figura 8), instigando o comportamento de exploração. Logo após, um dos objetos é trocado por outro novo, provocando um novo instinto de exploração. Esses processos possuem a finalidade de calcular o tempo gasto entre o reconhecimento de um objeto novo e o reconhecimento de um objeto familiar e posteriormente, a preferência entre os objetos, e tais comportamentos podem sofrer alterações de acordo com os fármacos utilizados, como por exemplo a cocaína, ou com as lesões encefálicas, como em regiões do hipocampo e corticais. O comportamento de preferência ao objeto novo pode significar que o animal possui uma memória do objeto familiar, envolvendo um estímulo de exploração, podendo-se também, testar a memória de curto (armazenamento de informação por pouco tempo, podendo ser segundos ou minutos) e longo prazo (armazenamento de informação por um tempo maior, podendo ser horas, anos ou por toda a vida) (ANTUNES & BIALA, 2012; LUEPTOW, 2017; SOUSA & SALGADO, 2015). Pela sua simplicidade e rapidez, o teste pode facilmente ser adaptado para outros animais, além dos roedores, como cachorros, cavalos, macacos, corvos, gatos e papagaios (LUCON-XICCATO & DADDA, 2016; LUEPTOW, 2017).

Figura 8 - Aparato utilizado no teste de Reconhecimento de Objeto. A) O aparato se objetos onde a seta preta indica onde o animal será inserido. B) Dois objetos novos são inseridos. C) Um dos objetos é movido de lugar. D) Um dos objetos é substituído por um novo.



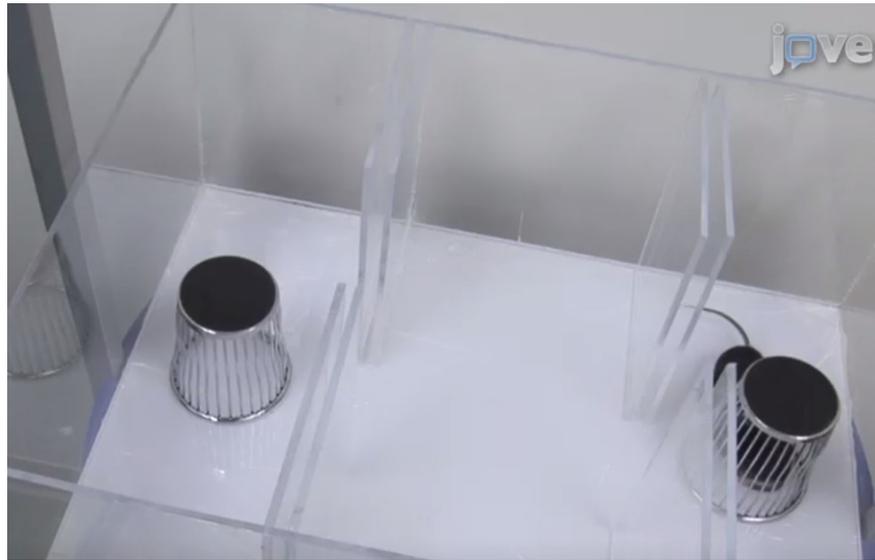
Fonte: Denninger et al. (2018)

O teste de reconhecimento de objeto é bastante utilizado para testar fármacos que podem aumentar ou diminuir a memória e a aprendizagem, bem como testar a genética e as alterações neurais (LUEPTOW, 2017). Drogas como a cocaína e a metanfetamina podem causar déficits na memória de curto prazo quando testadas em roedores em período pré-natal em mães grávidas. Já a cafeína é capaz de prevenir a conturbação da memória de curto e longo prazo (ANTUNES & BIALA, 2012).

4.3.3 TESTE DE INTERAÇÃO SOCIAL (IS)

A interação social é importante para o bem-estar de todos os indivíduos e seu déficit é capaz de se tornar um problema social. O modelo é composto por um aparato com três câmaras (Figura 9) com aproximadamente 19 x 45 cm cada divididas por paredes de acrílico, contendo espaços para o animal ultrapasse de câmara para câmara. Os espaços podem possuir baixa ou alta luminosidade, consistindo em um animal sendo exposto a outro animal desconhecido, avaliando sua preferência em interagir ou se isolar. O teste é sensível a compostos ansiolíticos, como os agonistas do GABA, e a compostos ansiogênicos, como o CRH (hormônio liberador da corticotropina) (KOOB & ZIMMER, 2012; RICCERI *et al.*, 2016; KAIDANOVICH-BEILIN *et al.*, 2011).

Figura 9 - Aparato utilizado para o teste de Interação Social



Fonte: Kaidanovich-Beilin et al. (2011)

A ansiedade é uma condição que diminui a interação social, sendo que a intensidade da luz no aparato e a familiaridade do animal com o aparato podem alterar seu comportamento. Existem quatro condições em que o teste pode ser realizado: baixa luminosidade, campo familiarizado, alta luminosidade e campo não familiarizado e pode ser realizado em pares de machos, fêmeas ou macho e fêmea (RICCERI et al., 2016). Os primeiros compostos utilizados na farmacologia antes dos benzodiazepínicos foram os barbitúricos. Os compostos barbitúricos podem desencadear um comportamento de interação em todas as condições e compostos de benzodiazepínicos em baixa luminosidade e campo familiarizado (FILE et al., 2014; OSBORNE et al., 2017).

5. CONCLUSÃO

Os modelos animais são imprescindíveis para os estudos dos transtornos neuropsiquiátricos. Os comportamentos de ansiedade, depressão e os déficits de memória e sociabilidade podem ser modelados em animais, principalmente em roedores por serem animais pequenos, de fácil manipulação e que possuem um sistema fisiológico muito parecido com o humano. Entretanto, faz-se necessário saber não antropomorfizar esses comportamentos. Os roedores não se sentem culpados ou com instinto suicida, muito menos apresentam ansiedade ou depressão, se tornando sintomas impossíveis de serem modelados em animais. Porém pela alta conectividade de sistemas e estruturas encefálicas, alguns

comportamentos podem ser modelados, como a falta de apetite, o medo, a insegurança, anedonia, fadiga, insônia, entre outros comportamentos relacionados.

A maioria dos aparelhos utilizados nos testes são simples, baratos e de fácil manuseio, entretanto, requer dedicação e paciência do profissional para qualquer variável que possa surgir. Portanto, modelos com boa validação são capazes de produzir avanços para compreensão dos transtornos neuropsiquiátricos.

6. REFERÊNCIAS

ALTAMURA, Alfredo Carlo et al. Understanding the pharmacokinetics of anxiolytic drugs. *Expert opinion on drug metabolism & toxicology*, v. 9, n. 4, p. 423-440, 2013.

AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION et al. DSM-5: Manual diagnóstico e estatístico de transtornos mentais. Artmed Editora, 2014.

ANTUNES, M.; BIALA, Grazyna. The novel object recognition memory: neurobiology, test procedure, and its modifications. *Cognitive processing*, v. 13, n. 2, p. 93-110, 2012.

APARECIDA GELFUSO, Erica et al. Anxiety: a systematic review of neurobiology, traditional pharmaceuticals and novel alternatives from medicinal plants. *CNS & Neurological Disorders-Drug Targets (Formerly Current Drug Targets-CNS & Neurological Disorders)*, v. 13, n. 1, p. 150-165, 2014.

ARCOVERDE NUNES, Emerson; CECÍLIO HALLAK, Jaime Eduardo. Modelos animais em psiquiatria: avanços e desafios. *Revista latinoamericana de psicopatologia fundamental*, v. 17, n. 3, 2014.

BARNHART, Christopher D.; YANG, Dongren; LEIN, Pamela J. Using the Morris water maze to assess spatial learning and memory in weanling mice. *PLoS One*, v. 10, n. 4, p. e0124521, 2015.

BAUER, Elizabeth P. Serotonin in fear conditioning processes. *Behavioural Brain Research*, v. 277, p. 68-77, 2015.

BERNIK, Márcio Antonini. Benzodiazepínicos: quatro décadas de experiência. EdUSP, 1999.

- BERNIK, Márcio Antonini. Benzodiazepínicos: quatro décadas de experiência. EdUSP, 1999.
- BLANCO-GANDÍA, Maria C. et al. Effect of drugs of abuse on social behaviour: a review of animal models. *Behavioural pharmacology*, v. 26, n. 6, p. 541-570, 2015.
- BOGDANOVA, Olena V. et al. Factors influencing behavior in the forced swim test. *Physiology & behavior*, v. 118, p. 227-239, 2013.
- BRAUN, Amanda A. et al. Comparison of the elevated plus and elevated zero mazes in treated and untreated male Sprague–Dawley rats: effects of anxiolytic and anxiogenic agents. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, v. 97, n. 3, p. 406-415, 2011.
- BROMLEY-BRITS, Kelley; DENG, Yu; SONG, Weihong. Morris water maze test for learning and memory deficits in Alzheimer's disease model mice. *JoVE (Journal of Visualized Experiments)*, n. 53, p. e2920, 2011.
- BRUMMELTE, Susanne; GALEA, Liisa AM. Postpartum depression: etiology, treatment and consequences for maternal care. *Hormones and behavior*, v. 77, p. 153-166, 2016.
- CAMPOS, Alline C. et al. Animal models of anxiety disorders and stress. *Brazilian Journal of Psychiatry*, v. 35, p. S101-S111, 2013.
- COIMBRA, Norberto C. et al. Critical neuropsychobiological analysis of panic attack-and anticipatory anxiety-like behaviors in rodents confronted with snakes in polygonal arenas and complex labyrinths: a comparison to the elevated plus-and T-maze behavioral tests. *Brazilian Journal of Psychiatry*, v. 39, n. 1, p. 72-83, 2017.
- COLLA, Andre RS et al. Anxiolytic-like effects of ursolic acid in mice. *European journal of pharmacology*, v. 758, p. 171-176, 2015.
- COMMONS, Kathryn G. et al. The rodent forced swim test measures stress-coping strategy, not depression-like behavior. *ACS chemical neuroscience*, v. 8, n. 5, p. 955-960, 2017.
- CRUZ, AP de M.; LANDEIRA-FERNANDEZ, J. Modelos animais de ansiedade e o estudo experimental de drogas serotoninérgicas. *Métodos em Neurociência*, p. 192-217, 2012.
- CRYAN, John F.; HOLMES, Andrew. Model organisms: the ascent of mouse: advances in modelling human depression and anxiety. *Nature reviews Drug discovery*, v. 4, n. 9, p. 775, 2005.

CRYSTAL, Jonathon D.; WILSON, A. George. Prospective memory: A comparative perspective. *Behavioural processes*, v. 112, p. 88-99, 2015.

DE MATOS FEIJÓ, Fernanda; BERTOLUCI, Marcello Casaccia; REIS, Cíntia. Serotonina e controle hipotalâmico da fome: uma revisão. *Revista da Associação Médica Brasileira*, v. 57, n. 1, p. 74-77, 2011.

DE REZENDE PINTO, Wladimir Bocca Vieira et al. Teste de labirinto em cruz elevado: aplicações e contribuições no estudo de doenças neuropsiquiátricas em modelos animais. *Revista da Sociedade Brasileira de Ciência em Animais de Laboratório*, v. 1, n. 1, p. 102-120, 2012.

DETKE, Michael J.; LUCKI, Irwin. Detection of serotonergic and noradrenergic antidepressants in the rat forced swimming test: the effects of water depth. *Behavioural brain research*, v. 73, n. 1-2, p. 43-46, 1995. DETKE, Michael J.; LUCKI, Irwin. Detection of serotonergic and noradrenergic antidepressants in the rat forced swimming test: the effects of water depth. *Behavioural brain research*, v. 73, n. 1-2, p. 43-46, 1995.

DISNER, Seth G. et al. Neural mechanisms of the cognitive model of depression. *Nature Reviews Neuroscience*, v. 12, n. 8, p. 467, 2011.

DIXON AK. Ethological strategies for defence in animals and humans: their role in some psychiatric disorders. *Br J Med Psychol*. 1998

DOMJAN, Michael. Pavlovian conditioning: A functional perspective. *Annu. Rev. Psychol.*, v. 56, p. 179-206, 2005.

DOW, Elisabeth et al. Modeling mouse anxiety and sensorimotor integration: Neurobehavioral phenotypes in the suok test. In: *Mood and Anxiety Related Phenotypes in Mice*. Humana Press, p. 61-81, 2011.

ENGEL, Odilo et al. Imepitoin Shows Benzodiazepine-Like Effects in Models of Anxiety. *Frontiers in pharmacology*, v. 9, 2018.

ENGINAR, Nurhan et al. Learning and memory in the forced swimming test: effects of antidepressants having varying degrees of anticholinergic activity. *Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology*, v. 389, n. 7, p. 739-745, 2016.

ENNACEUR, Abdelkader; CHAZOT, Paul L. Preclinical animal anxiety research—flaws and prejudices. *Pharmacology research & perspectives*, v. 4, n. 2, 2016.

FILE, Sandra E. et al. Animal tests of anxiety. *Current protocols in neuroscience*, v. 26, n. 1, p. 8.3. 1-8.3. 22, 2004.

FILGUEIRAS, Guilherme Bracarense; CARVALHO-NETTO, Eduardo F.; ESTANISLAU, Celio. Aversion in the elevated plus-maze: role of visual and tactile cues. *Behavioural processes*, v. 107, p. 106-111, 2014.

FISCHER, Susanne; MACARE, Christine; CLEARE, Anthony J. Hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis functioning as predictor of antidepressant response—Meta-analysis. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, v. 83, p. 200-211, 2017.

FOGELMAN, N., & CANLI, T. Early life stress and cortisol: A meta-analysis. *Hormones and Behavior*, v. 98, p. 63–76, 2018.

FOSSAT, Pascal et al. Anxiety-like behavior in crayfish is controlled by serotonin. *Science*, v. 344, n. 6189, p. 1293-1297, 2014.

GALLAGHER, Michela; BURWELL, Rebecca; BURCHINAL, Margaret. Severity of spatial learning impairment in aging: development of a learning index for performance in the Morris water maze. 2015.

GILBERT, Paul; ALLAN, Steven. The role of defeat and entrapment (arrested flight) in depression: an exploration of an evolutionary view. *Psychological medicine*, v. 28, n. 3, p. 585-598, 1998.

GORDON, Brian A. et al. Structural correlates of prospective memory. *Neuropsychologia*, v. 49, n. 14, p. 3795-3800, 2011.

GRAEFF, Frederico G. Serotonina, matéria cinzenta periaquedutal e transtorno do pânico Serotonin, periaqueductal gray matter and panic disorder. *Rev Bras Psiquiatr*, v. 25, n. Supl II, p. 42-5, 2003.

HANDLEY, Sheila L.; MITHANI, Siddika. Effects of alpha-adrenoceptor agonists and antagonists in a maze-exploration model of ‘fear’-motivated behaviour. *Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology*, v. 327, n. 1, p. 1-5, 1984.

HANDLEY, Sheila L.; MITHANI, Siddika. Effects of alpha-adrenoceptor agonists and antagonists in a maze-exploration model of 'fear'-motivated behaviour. *Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology*, v. 327, n. 1, p. 1-5, 1984.

HARRISON, Tyler L. et al. Prospective memory: Effects of divided attention on spontaneous retrieval. *Memory & cognition*, v. 42, n. 2, p. 212-224, 2014.

HILIMIRE, Matthew R.; DEVYLDER, Jordan E.; FORESTELL, Catherine A. Fermented foods, neuroticism, and social anxiety: An interaction model. *Psychiatry research*, v. 228, n. 2, p. 203-208, 2015.

HOLLIS, Fiona; KABBAJ, Mohamed. Social defeat as an animal model for depression. *ILAR journal*, v. 55, n. 2, p. 221-232, 2014.

HUANG, Ruixue; WANG, Ke; HU, Jianan. Effect of probiotics on depression: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Nutrients*, v. 8, n. 8, p. 483, 2016.

IHLE, Andreas et al. Prospective and retrospective memory are differentially related to self-rated omission and commission errors in medication adherence in multimorbidity. *Applied Neuropsychology: Adult*, v. 24, n. 6, p. 505-511, 2017.

KANARIK, Margus; HARRO, Jaanus. Sociability trait and regional cerebral oxidative metabolism in rats: Predominantly nonlinear relations. *Behavioural brain research*, v. 337, p. 186-192, 2018.

KAZDOBA, Tatiana M. et al. Translational mouse models of autism: advancing toward pharmacological therapeutics. In: *Translational Neuropsychopharmacology*. Springer, Cham, p. 1-52, 2015.

KLIEGEL, Matthias et al. A process-model based approach to prospective memory impairment in Parkinson's disease. *Neuropsychologia*, v. 49, n. 8, p. 2166-2177, 2011.

KOOB, George F.; ZIMMER, Andreas. Animal models of psychiatric disorders. In: *Handbook of clinical neurology*. Elsevier, p. 137-166, 2012.

KRAUS, Christoph et al. Serotonin and neuroplasticity—links between molecular, functional and structural pathophysiology in depression. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, v. 77, p. 317-326, 2017.

- KRISHNAN, Vaishnav; NESTLER, Eric J. Animal models of depression: molecular perspectives. In: *Molecular and functional models in neuropsychiatry*. Springer, Berlin, Heidelberg, p. 121-147, 2011.
- KUPFERSCHMID, Barbara J.; THERRIEN, Barbara; ROWSEY, Pamela J. Effects of low-dose lipopolysaccharide and age on spatial learning in different Morris water maze protocols. *SAGE open medicine*, v. 5, p. 2050312117729112, 2017.
- LEPPÄNEN, Pia K.; EWALDS-KVIST, S. Béatrice M.; SELANDER, Ritva-Kajsa. Mice selectively bred for open-field thigmotaxis: life span and stability of the selection trait. *The Journal of general psychology*, v. 132, n. 2, p. 187-204, 2005.
- LIN, Shih-Hang et al. A medicinal herb, *Melissa officinalis* L. ameliorates depressive-like behavior of rats in the forced swimming test via regulating the serotonergic neurotransmitter. *Journal of ethnopharmacology*, v. 175, p. 266-272, 2015.
- LUCON-XICCATO, Tyrone; DADDA, Marco. Guppies show behavioural but not cognitive sex differences in a novel object recognition test. *PloS one*, v. 11, n. 6, p. e0156589, 2016.
- LUEPTOW, Lindsay M. Novel object recognition test for the investigation of learning and memory in mice. *JoVE (Journal of Visualized Experiments)*, n. 126, p. e55718, 2017.
- MARCO, Eva M. et al. Sex-dependent influence of chronic mild stress (CMS) on voluntary alcohol consumption; study of neurobiological consequences. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, v. 152, p. 68-80, 2017.
- MATOS, Maria Amélia. Behaviorismo metodológico e behaviorismo radical. *Psicoterapia comportamental e cognitiva: pesquisa, prática, aplicações e problemas*, p. 27-34, 1995.
- MONTGOMERY, K. C. The relation between fear induced by novel stimulation and exploratory drive. *Journal of comparative and physiological psychology*, v. 48, n. 4, p. 254, 1955.
- MONTGOMERY, K. C. The relation between fear induced by novel stimulation and exploratory drive. *Journal of comparative and physiological psychology*, v. 48, n. 4, p. 254, 1955.
- MORE, Sandeep et al. Toxin-induced experimental models of learning and memory impairment. *International journal of molecular sciences*, v. 17, n. 9, p. 1447, 2016.

MORRIS, Edward K.; LAZO, Junelyn F.; SMITH, Nathaniel G. Whether, when, and why Skinner published on biological participation in behavior. *The Behavior Analyst*, v. 27, n. 2, p. 153-169, 2004.

MURROUGH, James W. et al. Emerging drugs for the treatment of anxiety. *Expert opinion on emerging drugs*, v. 20, n. 3, p. 393-406, 2015.

NAZARI, Seyedeh Khadijeh et al. Possible involvement of ATP-sensitive potassium channels in the antidepressant-like effect of baclofen in mouse forced swimming test. *Pharmacological Reports*, v. 68, n. 6, p. 1214-1220, 2016.

NESTLER, Eric J.; HYMAN, Steven E. Animal models of neuropsychiatric disorders. *Nature neuroscience*, v. 13, n. 10, p. 1161, 2010.

NUNES, Emerson Arcoverde; HALLAK, Jaime Eduardo Cecílio. Modelos animais em psiquiatria: avanços e desafios. *Revista latinoamericana de psicopatologia fundamental*, v. 17, n. 3, p. 528-543, 2014.

NUZZOLILLI, Andrew E.; DILLER, James W. How Hume's Philosophy Informed Radical Behaviorism. *The Behavior Analyst*, v. 38, n. 1, p. 115-125, 2015.

OLIVIER, Berend. Serotonin: a never-ending story. *European journal of pharmacology*, v. 753, p. 2-18, 2015.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE-OMS. Depression and other common mental disorders: global health estimates[Internet]. Geneva: WHO; 2017[cited 2017 Nov 04]. Available from: <http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/254610/1/WHO-MSD-MER-2017.2-eng.pdf>

OSBORNE, Ashleigh L. et al. Improved social interaction, recognition and working memory with cannabidiol treatment in a prenatal infection (poly I: C) rat model. *Neuropsychopharmacology*, v. 42, n. 7, p. 1447, 2017.

PACKER, Rowena MA; DE RISIO, Luisa; VOLK, Holger A. Investigating the potential of the anti-epileptic drug imepitoin as a treatment for co-morbid anxiety in dogs with idiopathic epilepsy. *BMC veterinary research*, v. 13, n. 1, p. 90, 2017.

PELLOW, Sharon et al. Validation of open: closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. *Journal of neuroscience methods*, v. 14, n. 3, p. 149-167, 1985.

PETIT-DEMOULIERE, Benoit; CHENU, Franck; BOURIN, Michel. Forced swimming test in mice: a review of antidepressant activity. *Psychopharmacology*, v. 177, n. 3, p. 245-255, 2005.

PORSOLT, Roger D. et al. Behavioural despair in rats: a new model sensitive to antidepressant treatments. *European journal of pharmacology*, v. 47, n. 4, p. 379-391, 1978.

PRUT, Laetitia; BELZUNG, Catherine. The open field as a paradigm to measure the effects of drugs on anxiety-like behaviors: a review. *European journal of pharmacology*, v. 463, n. 1-3, p. 3-33, 2003.

RACHLIN, Howard. Is talking to yourself thinking?. *Journal of the experimental analysis of behavior*, v. 109, n. 1, p. 48-55, 2018.

RAMAKER, M. J.; DULAWA, S. C. Identifying fast-onset antidepressants using rodent models. *Molecular psychiatry*, v. 22, n. 5, p. 656, 2017.

RAMOS, André. Animal models of anxiety: do I need multiple tests?. *Trends in pharmacological sciences*, v. 29, n. 10, p. 493-498, 2008.

RATAJCZAK, P. K. et al. Antidepressant and anxiolytic efficacy of single, chronic and concomitant use of vortioxetine, dapoxetine and fluoxetine in prenatally stressed rats. *Acta neurobiologiae experimentalis*, v. 79, n. 1, p. 13-24, 2019.

RAWAS, Rana; SARIA, Alois. The two faces of social interaction reward in animal models of drug dependence. *Neurochemical research*, v. 41, n. 3, p. 492-499, 2016.

RICCERI, Laura; MICHETTI, Caterina; SCATTONI, Maria Luisa. Mouse Behavior and Models for Autism Spectrum Disorders. In: *Neuronal and Synaptic Dysfunction in Autism Spectrum Disorder and Intellectual Disability*. Academic Press, p. 269-293, 2016.

SCHACTER, Daniel L.; ADDIS, Donna Rose. The cognitive neuroscience of constructive memory: remembering the past and imagining the future. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, v. 362, n. 1481, p. 773-786, 2007.

SHAW, David et al. Anxiolytic effects of lavender oil inhalation on open-field behaviour in rats. *Phytomedicine*, v. 14, n. 9, p. 613-620, 2007.

SHEPHERD, Jon K. et al. Behavioural and pharmacological characterisation of the elevated “zero-maze” as an animal model of anxiety. *Psychopharmacology*, v. 116, n. 1, p. 56-64, 1994.

SIMON, P.; DUPUIS, R.; COSTENTIN, J. Thigmotaxis as an index of anxiety in mice. Influence of dopaminergic transmissions. *Behavioural brain research*, v. 61, n. 1, p. 59-64, 1994.

SKINNER, Burrhus F. The evolution of behavior. *Journal of the experimental analysis of behavior*, v. 41, n. 2, p. 217, 1984.

SLATTERY, David A.; CRYAN, John F. Using the rat forced swim test to assess antidepressant-like activity in rodents. *Nature protocols*, v. 7, n. 6, p. 1009, 2012.

SORREGOTTI, Tatiani et al. Ethopharmacological analysis of the open elevated plus-maze in mice. *Behavioural brain research*, v. 246, p. 76-85, 2013.

SOUSA, Aline Batista de; SALGADO, Tania Denise Miskinis. Memória, aprendizagem, emoções e inteligência. *Revista Liberato: educação, ciência e tecnologia*. Novo Hamburgo. Vol. 16, n. 26 (jul./dez. 2015), p. 141-151, 2015.

STANFORD, S. Clare. The open field test: reinventing the wheel. *Journal of psychopharmacology*, v. 21, n. 2, p. 134-136, 2007.

STEIMER, Thierry. Animal models of anxiety disorders in rats and mice: some conceptual issues. *Dialogues in clinical neuroscience*, v. 13, n. 4, p. 495, 2011.

TOMÁS PEREIRA, Inês; BURWELL, Rebecca D. Using the spatial learning index to evaluate performance on the water maze. *Behavioral neuroscience*, v. 129, n. 4, p. 533, 2015.

TOTH, Iulia; NEUMANN, Inga D. Animal models of social avoidance and social fear. *Cell and tissue research*, v. 354, n. 1, p. 107-118, 2013.

TREIT, Dallas; MENARD, Janet; ROYAN, Cary. Anxiogenic stimuli in the elevated plus-maze. *Pharmacology biochemistry and behavior*, v. 44, n. 2, p. 463-469, 1993.

VAN DEN BOS, Esther; TOPS, Mattie; WESTENBERG, P. Michiel. Social anxiety and the cortisol response to social evaluation in children and adolescents. *Psychoneuroendocrinology*, v. 78, p. 159-167, 2017.

VICEDO, Marga. The father of ethology and the foster mother of ducks: Konrad Lorenz as expert on motherhood. *Isis*, v. 100, n. 2, p. 263-291, 2009.

VORHEES, Charles V.; WILLIAMS, Michael T. Morris water maze: procedures for assessing spatial and related forms of learning and memory. *Nature protocols*, v. 1, n. 2, p. 848, 2006.

WALSH, Roger N.; CUMMINS, Robert A. The open-field test: a critical review. *Psychological bulletin*, v. 83, n. 3, p. 482, 1976.

WALZ, Nora; MÜHLBERGER, Andreas; PAULI, Paul. A human open field test reveals thigmotaxis related to agoraphobic fear. *Biological psychiatry*, v. 80, n. 5, p. 390-397, 2016.

WICK, Jeannette. The history of benzodiazepines. *The Consultant Pharmacist®*, v. 28, n. 9, p. 538-548, 2013.

WILLNER, Paul. The chronic mild stress (CMS) model of depression: history, evaluation and usage. *Neurobiology of stress*, v. 6, p. 78-93, 2017.

WILLNER, Paul. The validity of animal models of depression. *Psychopharmacology*, v. 83, n. 1, p. 1-16, 1984.

YANG, Longfei et al. The effects of psychological stress on depression. *Current neuropharmacology*, v. 13, n. 4, p. 494-504, 2015.

ZANGROSSI JR, Helio; GRAEFF, Frederico G. Serotonin in anxiety and panic: contributions of the elevated T-maze. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, v. 46, p. 397-406, 2014.

ZUANON, Átima Clemente Alves. Instinto, etologia e a teoria de Konrad Lorenz. *Ciência & Educação*, v. 13, n. 3, p. 337-349, 2007.

ARI, Csilla et al. Elevated Plus Maze Test Combined with Video Tracking Software to Investigate the Anxiolytic Effect of Exogenous Ketogenic Supplements. *JoVE (Journal of Visualized Experiments)*, n. 143, p. e58396, 2019.

SMITH, Carine. Using rodent models to simulate stress of physiologically relevant severity: when, why and how. *Glucocorticoids-New Recognition of Our Familiar Friend*, v. 10, p. 211-230, 2012.

DENNINGER, Jiyeon K.; SMITH, Bryon M.; KIRBY, Elizabeth D. Novel Object Recognition and Object Location Behavioral Testing in Mice on a Budget. JoVE (Journal of Visualized Experiments), n. 141, p. e58593, 2018.

KAIDANOVICH-BEILIN, Oksana et al. Assessment of social interaction behaviors. JoVE (Journal of Visualized Experiments), n. 48, p. e2473, 2011.