



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA CELULAR E DO  
DESENVOLVIMENTO

Daniela Machado Alexandre de Carvalho

Revisão metodológica: Influência de fatores ambientais e genéticos no perfil  
comportamental de ratos das linhagens isogênicas Lewis (LEW) e  
*Spontaneously Hypertensive Rats* (SHR)

Florianópolis

2020

Daniela Machado Alexandre de Carvalho

Revisão metodológica: Influência de fatores ambientais e genéticos no perfil comportamental de ratos das linhagens isogênicas Lewis (LEW) e *Spontaneously Hypertensive Rats* (SHR)

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e do Desenvolvimento da Universidade Federal de Santa Catarina para a obtenção do grau de Mestre em Biologia Celular e do Desenvolvimento.

Orientador: Prof. Dr. Geison de Souza Izídio

Florianópolis

2020

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,  
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Carvalho, Daniela Machado Alexandre de  
Revisão metodológica: Influência de fatores ambientais e genéticos no perfil comportamental de ratos das linhagens isogênicas Lewis (LEW) e Spontaneously Hypertensive Rats (SHR) / Daniela Machado Alexandre de Carvalho ; orientador, Geison de Souza Izídio, 2020.  
69 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Biológicas, Programa de Pós Graduação em Biologia Celular e do Desenvolvimento, Florianópolis, 2020.

Inclui referências.

1. Biologia Celular e do Desenvolvimento. 2. Comportamento. 3. Lewis. 4. Spontaneously Hypertensive Rats . 5. Genética. I. de Souza Izídio, Geison . II. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós Graduação em Biologia Celular e do Desenvolvimento. III. Título.

Daniela Machado Alexandre de Carvalho

Revisão metodológica: Influência de fatores ambientais e genéticos no perfil comportamental de ratos de diferentes linhagens isogênicas

O presente trabalho em nível de mestrado foi avaliado por banca examinadora composta pelos seguintes membros:

Prof. Dr. Geison de Souza Izídio  
Universidade Federal de Santa Catarina

Profa. Dra. Débora Cristina Olsson  
Instituto Federal Catarinense

Profa. Dra. Juliana Cavalli  
Universidade Federal de Santa Catarina

Profa. Dra. Yara Costa Netto Muniz  
Universidade Federal de Santa Catarina

Certificamos que esta é a **versão original e final** do trabalho de conclusão que foi julgado adequado para obtenção do título de mestre em Biologia Celular e do Desenvolvimento

---

Profa. Dra. Evelise Maria Nazari  
Coordenadora do Programa

---

Prof. Dr. Geison de Souza Izídio  
Orientador

Florianópolis, 24 de janeiro de 2020.

Dedico a todos que contribuíram de alguma forma para que esse trabalho fosse possível.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente às pessoas que estiveram ao meu lado, a todas que me incentivaram, aconselharam, observaram a importância do meu trabalho e contribuíram. Acredito que todas essas pessoas representam Deus de alguma forma, sendo possível sentir a presença dele perto de mim.

Agradeço carinhosamente meu marido, pela sua paciência, atenção e motivação. Ele esteve do meu lado durante todo esse trajeto, desde que era apenas uma possibilidade quase inalcançável, ele me fez alcançar!

Agradeço a Universidade Federal de Santa Catarina pela possibilidade da realização desse trabalho. Aos professores do Programa de Pós Graduação em Biologia Celular e do desenvolvimento, obrigada por todos os valiosos ensinamentos. Ao meu coordenador Geison de Souza Izídio, muito obrigada por toda orientação acadêmica e profissional, meus agradecimentos seguem a todos os integrantes do Laboratório de Genética do Comportamento da UFSC.

Obrigada a todos os colegas de profissão, amigos e aos meus pacientes que me incentivaram e esperaram pacientemente por mim.

Não é o mais forte que sobrevive, nem o mais inteligente, mas o que melhor se adapta às mudanças.  
Charles Darwin

## RESUMO

Modelos animais são amplamente utilizados para tentar entender como os mecanismos neurobiológicos reagem a um agente estressor, o que pode ajudar na identificação de tratamentos seguros e eficazes para algumas patologias humanas. As linhagens Lewis (LEW) e Spontaneously Hypertensive Rats (SHR) são consideradas modelos genéticos para o estudo comportamental da emocionalidade por serem linhagens isogênicas que apresentam diferentes respostas comportamentais quando submetidos aos mesmos estímulos estressores. O objetivo desse estudo foi investigar, através de uma revisão metodológica, quais fatores ambientais e genéticos influenciam no comportamento diferencial das linhagens LEW e SHR. Os estudos encontrados através das buscas no banco de dados totalizaram 255 artigos, 8 deles removidos por duplicidade, 13 excluídos por serem capítulos de livros e revisões e 198 excluídos após análise do texto na íntegra. Os resultados demonstraram que os efeitos de algumas drogas foram contrastantes entre as linhagens como também entre os sexos e que a razão desse contraste ainda não foi elucidada. Além disso, a linhagem LEW apresenta pouca disposição ao exercício físico e maior hipersensibilidade intestinal quando comparada a SHR. Através desses estudos é possível sugerir uma provável diferença nos sistemas gabaérgico e dopaminérgico das linhagens LEW e SHR, o que influenciaria na diferença comportamental dessas linhagens. Quanto a influência genética pode ser observada que os QTL posicionados nos cromossomos 4 e 7 estão relacionados ao comportamento diferencial entre as linhagens. O QTL *Anxrr16* apresentou grande importância nas pesquisas por conta de sua influência no comportamento de ansiedade/emocionalidade e segundo o *Rat Genome Database* ele tem como gene-candidato o *Tacr1*.

**Palavras-chave:** Comportamento, ansiedade, LEW, SHR, genética.



## ABSTRACT

Animal models are widely used to try to understand how neurobiological mechanisms react to a stressor, which may help in identifying safe and effective treatments for some human pathologies. The Lewis (LEW) and Spontaneously Hypertensive Rats (SHR) strains are considered genetic models for the study of emotionality once they are isogenic strains that present different behavioral responses when subjected to the same stressors. This study aimed to investigate, through a methodological review, which environmental and genetic factors influence the differential behavior of LEW and SHR strains. The studies found after the database searches totaled 255 articles, 8 of them removed by duplicity, 13 excluded because they were book chapters and reviews and 198 excluded after full-text analysis. The results showed that the effects of some drugs were contrasting between the strains as well as between the sexes and that the reason for this contrast remains unclear. Besides, the LEW strain is less likely to exercise and presents more intestinal hypersensitive compared to SHR. Considering these studies, it is possible to observe a difference that could be related to gabaergic and dopaminergic systems of LEW and SHR strains, which may influence the behavioral difference of these strains. As for the genetic influence, it can be observed that the QTL positioned on chromosomes 4 and 7 are related to the differences observed between strains. The QTL *Anxrr16* was of great importance in the research because of its influence on anxiety/emotionality behavior and according to the Rat Genome Database, it has the candidate gene *Tacr1*.

**Keyword:** Behavior, anxiety, LEW, SHR, genetics

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Representação esquemática do processo para realização da revisão... metodológica.....	22
Figura 2: Representação do número de artigos excluídos por serem capítulos de livros ou revisões (13), duplicados (8), avaliação do resumo (137), avaliação do título e palavras-chave (61) e o número de artigos selecionados (36) .....	27
Figura 3: Diagrama realizado de acordo com as recomendações PRISMA.....	28
Figura 4: Presença ou não do efeito antidepressivo, ansiogênico e ansiolítico manifestada pelas linhagens LEW e SHR após a administração de Desipramina, pentiletetrazol, diazepam e NKP608 em diferentes dosagens.....	33
Figura 5: Presença ou não do efeito analgésico e anestésico manifestada pelas linhagens LEW e SHR após a administração de buprenorfina, nalbufina, propofol, medetomidina, cetamina, pentobarbital e cocaína em diferentes dosagens.....	36
Figura 6: Observação da quantidade consumida de etanol pelas linhagens LEW e SHR.....	38
Figura 7: Sumário dos resultados encontrados. A) Influências ambientais relacionadas ao uso de drogas nas linhagens LEW e SHR. B) Influências ambientais relacionadas ao exercício físico, analgesia por estresse e sensibilidade intestinal no comportamento de LEW e SHR. C) Influências genéticas no comportamento ansioso de LEW e SHR.....	52

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Questionário realizado para avaliação dos artigos coletados para a revisão metodológica com base na ferramenta Rob da SYRCLE, as perguntas foram respondidas por três pesquisadores independentes após a leitura de cada artigo...	25
Tabela 2: Processo de avaliativo dos artigos selecionados para revisão metodológica .....	29
Tabela 3: Artigos que pesquisaram efeitos de drogas e etanol no comportamento de diferentes linhagens isogênicas de ratos. ....	30
Tabela 4: Estudos relacionados à avaliação comportamental de linhagens LEW e SHR quando submetidos ao uso de drogas antidepressivas, ansiolíticas e ansiogênicas. ....	32
Tabela 5: Estudos relacionados à avaliação comportamental das linhagens LEW e SHR quando submetidos ao uso de drogas analgésicas, anestésicas e psicoestimulantes.....	35
Tabela 6: Estudos relacionados à avaliação locomotora, comportamental e consumista de etanol em diferentes linhagens de ratos.....	37
Tabela 7: Artigos que pesquisaram a influência de fatores genéticos no perfil comportamental de diferentes linhagens isogênicas de ratos. ....	38
Tabela 8: Estudos relacionados com a influência de QTL nos traços relacionados à ansiedade em linhagens LEW e SHR .....	39
Tabela 9: Estudos que avaliaram as linhagens LEW e SHR quanto aos mecanismos genéticos relacionados à ansiedade, dor e emoção através de testes comportamentais.....	40
Tabela 10: Estudos que avaliaram a influência de variáveis ambientais sobre o genótipo de ratos LEW e SHR. ....	41
Tabela 11: Estudos que avaliaram os efeitos do comportamento estressado e em repouso sobre o sistema neuroendócrino em ratos de linhagens isogênicas. ....	42
Tabela 12: Estudos que avaliaram a influência do estresse sobre o sistema neuroendócrino em ratos de diversas linhagens isogênicas .....	43
Tabela 13: Estudo que comparou o comportamento em gaiola com os níveis hormonais basais em quatro linhagens de ratos. ....	45
Tabela 14: Estudos que avaliaram o sistema serotoninérgico e sua interação com o comportamento ansioso/depressivo em linhagens isogênicas de ratos .....	45

Tabela 15: Estudos que avaliaram o efeito do estresse na atividade centro-serotoninérgica em linhagens de ratos.....	46
Tabela 16: Estudos que avaliaram a ação dos receptores 5HT1A e 5HT2A em linhagens LEW e SHR.....	47
Tabela 17: Estudo que avaliou o efeito do citalopram como inibidor da recaptação de serotonina em linhagens isogênicas de ratos.....	48
Tabela 18: Artigos que pesquisaram o comportamento e nocicepção após exercício físico e teste de natação forçada.....	48
Tabela 19: Estudos relacionados à avaliação comportamental e nociceptiva após o exercício físico e teste de natação forçada. ....	49
Tabela 20: Artigos que pesquisaram a influência do odor do predador nas linhagens LEW e SHR.....	50
Tabela 21: Estudos relacionados à resposta comportamental e neuroendócrina de LEW e SHR submetidos ao odor do predador .....	50
Tabela 22: Estudo relacionado à associação do estresse com a disfunção intestinal. ....	51

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACI: August Copenhagen Irish

ACTH: Hormônio adrenocorticotrófico

BN: Brown Norway

COP: Copenhagen

CRF: Fator Liberador de corticotrofina

CYP: Citocromo P450

FIS: Fisher 344

GABA: Ácido gama aminobutírico

HPA: Hipotálamo-hipófise-adrenal

LE: Long Evans

LEW: Lewis

NK1: Neuroquinina 1

PRISMA: Principais itens para relatar revisões sistemáticas e meta análises

QTL: *Locus* de características quantitativas

SD: Sprague Dawley

SHR: *Spontaneously Hypertensive Rats*

SLA16: SHR.LEW-*Anxrr16*

SYRCLE: Centro de revisão sistemática para experimentação animal em laboratório

TACR1: Receptor taquiquinina 1

TMT: Trimetiltiazolina

WAG: Wistar Albino Glaxo

WF: Wistar Furt

WIS: Wistar

WKY: Wistar Kyoto

## Sumário

1) INTRODUÇÃO	15
1.1 REVISÃO METODOLÓGICA	15
1.1.1 <i>Revisão Metodológica: conceito</i>	15
1.1.2 <i>Revisão Metodológica: Utilização em experimentos com animais</i>	16
1.2 O ESTRESSE E SUAS ALTERAÇÕES COMPORTAMENTAIS	16
1.3 MODELO ANIMAL: A UTILIZAÇÃO DE RATOS NAS PESQUISAS CIENTÍFICAS	17
1.4 TESTES COMPORTAMENTAIS	18
1.5 AS LINHAGENS LEWIS E <i>SPONTANEOUSLY HYPERTENSIVE RATS</i>	19
2) JUSTIFICATIVA	20
3) HIPÓTESE	20
4) OBJETIVOS	21
4.1 OBJETIVO GERAL	21
4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	21
5) MATERIAL E MÉTODOS	21
5.1 REVISÃO METODOLÓGICA	21
5.2 DESENHO EXPERIMENTAL	23
5.2.1 <i>Revisão Metodológica: Definindo a pesquisa</i>	23
5.2.2 <i>Revisão Metodológica: Critérios de inclusão</i>	24
5.2.3 <i>Revisão Metodológica: Definindo as bases de dados</i>	24

5.2.4	<i>Revisão Metodológica: Avaliação dos artigos extração de dados.</i>	25
5.2.5	<i>Revisão Metodológica: Análise e Interpretação dos Resultados</i>	26
6)	RESULTADOS	26
6.1	PROCESSO AVALIATIVO DOS ESTUDOS	29
6.2	ESTUDOS RELACIONADOS AO USO DE DROGAS E ETANOL	30
6.3	ESTUDOS RELACIONADOS À AVALIAÇÃO GENÉTICA	38
6.4	ESTUDOS RELACIONADOS AO SISTEMA NEUROENDÓCRINO	41
6.5	ESTUDOS RELACIONADOS AO SISTEMA SEROTONINÉRGICO	45
6.6	ESTUDOS RELACIONADOS AO EXERCÍCIO FÍSICO E COMPORTAMENTO NOCICEPTIVO	48
6.7	ESTUDOS RELACIONADOS À INFLUÊNCIA DO ODOR DO PREDADOR	49
6.8	ESTUDOS RELACIONADOS À MORFOLOGIA E MICROBIOTA VISCERAL	51
7)	DISCUSSÃO	54
7.1	FATORES GENÉTICOS	54
7.2	Fatores ambientais	55
8)	CONCLUSÕES	61
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	62

## 1) INTRODUÇÃO

### 1.1 REVISÃO METODOLÓGICA

#### 1.1.1 Revisão Metodológica: conceito

A revisão metodológica é um método rigoroso, que busca estudos sobre um determinado tema em questão aplicando métodos específicos de pesquisa (SAMPAIO, MANCINI 2007; GUANILO et al. 2011), ou seja, ela necessita de estudos primários como fonte de informação. Os estudos considerados primários, em sua maioria, são estudos clínicos randomizados que relatam resultados na literatura científica. A diferença entre uma revisão metodológica e uma revisão narrativa, considerada tradicional, é a ausência da opinião pessoal do pesquisador autor e a amplitude de informações adquiridas em base de dados específicas pré-definidas (GALVÃO, PEREIRA 2014).

A crescente quantidade de informações publicadas ao longo dos anos exige uma investigação minuciosa, que reúna informações de diversos pesquisadores a fim de tornar a informação acessível (CHANDLES, 2017). As revisões metodológicas se fazem necessárias por diversos motivos. Dentre eles, podemos destacar a utilidade para demonstrar o caminho que se deva seguir para resolver um determinado problema clínico (HEMINGWAY, BRERETON 2009).

Para a execução da revisão metodológica é necessário seguir alguns métodos (Figura 1). O primeiro passo é a definição da pergunta científica. Para elaborar a pergunta pode-se seguir o anagrama de PICOS que corresponde a população de interesse, intervenção ou exposição realizada, comparação, desfecho e tipo de estudo (GALVÃO, PEREIRA 2014). O segundo passo é a coleta de estudos em base de dados. Para a realização de tal ação é necessário definir as palavras-chave a serem pesquisadas, idioma publicado e intervalos de datas das publicações. A procura por estudos nas bases de dados definidas deve ser realizada por dois pesquisadores independentes. Depois de selecionar os estudos, eles precisam ser avaliados. Atualmente, os métodos mais utilizados são relacionados aos estudos clínicos randomizados como a escala de PEDro ([www.pedro.fhs.usyd.edu.au](http://www.pedro.fhs.usyd.edu.au)) ou Jadad (Jadad et al., 1996). Em estudos experimentais realizados com animais pode ser utilizada a ferramenta Rob da SYRCLE (Centro de Revisão Sistemática para Experimentação Animal em Laboratório).



### 1.1.2 Revisão metodológica: Utilização em experimentos com animais

O uso da revisão metodológica é considerado comum na prática clínica, principalmente em estudos clínicos randomizados. Nesses estudos, o objetivo maior é avaliar a eficiência de determinadas intervenções. Já nos estudos experimentais com animais a utilização de revisões metodológicas é escassa. As principais vantagens, neste campo científico, seriam relacionadas à melhora da qualidade metodológica dos experimentos, tradução baseada em evidências dos dados de animais para a clínica médica, orientação e planejamento de novos experimentos (VRIES et al., 2014, HOOIJMANS et al., 2014).

Vries et al. (2014) afirmam que a maioria dos pesquisadores que trabalham com animais experimentais não recebem algum conhecimento ou treinamento sobre a metodologia da revisão metodológica e, por conta disso, não tem conhecimento da disponibilidade e potencialidade desse tipo de estudo. Assim, acredita-se que a prática da revisão metodológica irá se tornar comum nos estudos experimentais com animais, certamente contribuindo na melhoria do planejamento de estudos futuros com animais e humanos.

## 1.2 O ESTRESSE E SUAS ALTERAÇÕES COMPORTAMENTAIS

No ano de 1885 o fisiologista belga Fredericq declarou que o ser vivo tem a capacidade de reagir a uma influência perturbadora de forma compensatória, a fim de neutralizar ou reparar algum distúrbio que esteja sendo acometido. Claude Bernard, em 1878, já havia sugerido a existência de uma organização complexa dos seres vivos para manter o seu meio interno em equilíbrio. A definição de homeostase chegou através do fisiologista Walter Cannon como sendo reações fisiológicas coordenadas que mantêm o estado do corpo (CANNON, 1929).

Assim, na biologia os agentes estressores são considerados variáveis que acometem a homeostase, e talvez por essa razão na engenharia e na física o conceito de estresse esteja relacionado à tensão e elasticidade. No século XVII o estresse significava dificuldades e adversidades, no século XVIII o uso da palavra estresse foi ampliado e correspondia a força, pressão e esforço exercido sobre um objeto ou pessoa. Em seguida, a palavra foi designada como objeto ou pessoa sendo influenciado por forças externas, resistindo aos efeitos dessa tal força e tentando

manter a integridade e retornar ao seu estado original. Em 1910, Willian Osler, médico inglês, associava o termo estresse e tensão com trabalho exaustivo e preocupação, demonstrando a possível relação negativa do estresse sobre o bem-estar. No ano de 1930, Hans Selye, médico pesquisador, observou a resposta de estímulos prejudiciais alarmantes em que foram submetidos seus animais de laboratório. Selye postulou a síndrome da adaptação geral produzida por um estado de estresse que consiste em todas as mudanças não específicas induzidas dentro de um sistema biológico (LAWRENCE, HINKLE 1974; LAZARUS 1993; RAMOS, MORMEDE 1998).

Estímulos ambientais podem ameaçar a homeostase, tais estímulos são avaliados pelo sistema cognitivo e induzem alterações neuroendócrinas, metabólicas e comportamentais. Os agentes estressores podem atingir um nível em que os mecanismos homeostáticos não são mais capazes de garantir o equilíbrio interno, resultando em uma alta ativação emocional por conta da interação de fatores ambientais e psicológicos. Assim, o estresse seria reconhecido como uma resposta do organismo a estímulos ambientais que ameaçam o seu equilíbrio interno (RAMOS, MORMEDE 1998).

### 1.3 MODELO ANIMAL: A UTILIZAÇÃO DE RATOS NAS PESQUISAS CIENTÍFICAS

Há mais de um século, ratos e camundongos vêm sendo utilizados como modelos animais no desenvolvimento de pesquisas científicas. Em 1970, cerca de 20% dos estudos relacionados à neurociência utilizavam camundongos. Já nos últimos anos podemos constatar que cerca de 50% dos animais utilizados na pesquisa científica são camundongos, ou ratos (ZAN et al., 2003; GIBBS et al., 2004; ELLENBOEK & YOUN 2016, GRANZOTTO et al. 2019). Na pesquisa comportamental e neurociência, os ratos apresentam diversas vantagens sobre os camundongos. O rato tem maior tamanho comparado ao camundongo, pesando cerca de oito a dez vezes mais. O cérebro de um rato é maior facilitando a retirada do mesmo para análise, e também proporciona uma melhor resolução espacial. Foi demonstrado por Febo (2011) que os ratos podem ser treinados para não se mexerem no momento da realização de imagens, o que não acontece em camundongos (HARRIS et al., 2015). Outra vantagem ocorre em relação ao manuseio, os ratos são menos estressados com o

contato humano facilitando assim a rotina no laboratório (ELLENBOEK & YOUN, 2016).

A elucidação do genoma certamente contribuiu para um aumento da utilização dos ratos como modelos genéticos (ZAN et al., 2003; GIBBS et al., 2004; ELLENBOEK & YOUN 2016). O tamanho do genoma e codificação dos ratos é quase semelhante quando comparados ao dos humanos. Outra similaridade entre os ratos e humanos é a presença de regiões cromossômicas com as mesmas ordens de genes, tendo visto essas similaridades é possível acreditar que: o que diferencia os humanos dos ratos é a diferença regulatória e processamento dos genes e não somente a quantidade dos mesmos (WATERSTON et al., 2002; TECOTT, 2003).

Um estudo recente mostra que a neurogênese (criação de novos neurônios) dentro do hipocampo é maior em ratos do que em camundongos. As células provenientes da neurogênese, em ratos, apresentam cerca de 10 vezes mais chances de ativação durante o momento de aprendizado quando comparado aos camundongos (SNYDER et al., 2009). Os ratos ainda compartilham diversas similaridades com os humanos, além de ambos serem mamíferos e possuírem mecanismos de regulação fisiológica, órgãos e plano corporal semelhantes.

#### 1.4 TESTES COMPORTAMENTAIS

Em 1973, Archer publicou um artigo examinando o conceito de “emocionalidade” que era demonstrada por ratos a partir da exposição dos mesmos a alguns testes comportamentais. Os testes analisados foram campo aberto, labirinto em cruz, arena com ou sem barreiras, caixa exploratória, *holeboard*, exposição à luz e ruídos. Nesses testes foram avaliados os comportamentos de exploração do ambiente, vocalização, tentativas de escape, o ato de urinar e defecar, latência e frequência cardíaca. Os testes têm como propósito avaliar a influência da ansiedade no comportamento dos animais (HURII, MCTAGGART, KAWAGUCHI, 2018).

## 1.5 AS LINHAGENS LEWIS E *SPONTANEOUSLY HYPERTENSIVE RATS*

As linhagens consanguíneas (isogênicas) de roedores Lewis (LEW) e *Spontaneously Hypertensive Rats* (SHR) são consideradas modelos genéticos para estudos relacionados à ansiedade. Ambas são utilizadas para a compreensão de mecanismos biológicos e psicológicos relacionados às alterações comportamentais presentes nesta patologia humana (RAMOS et al., 1997; RAMOS et al., 2002).

Na comparação dessas duas linhagens isogênicas de ratos podemos observar as suas diferentes manifestações comportamentais. Por exemplo, quando submetidas a um mesmo desafio ambiental, pode se afirmar que as diferenças médias observadas entre as duas linhagens são consideradas de origem genética. Dentre estes “desafios ambientais” estão testes comportamentais como o campo aberto.

No teste de campo aberto os animais são dispostos em uma arena com quadrantes e observados por um determinado tempo. Nesse teste é avaliada a distância total percorrida pelo rato e medido a porcentagem de tempo que o rato permaneceu próximo às paredes. Quanto maior o tempo de permanência próximo às paredes, maior é o indicativo de ansiedade/emocionalidade. O número de defecações também é uma medida de ansiedade do rato, quando mais bolos fecais forem depositados no campo aberto maior o nível de ansiedade do roedor. Outras avaliações são realizadas no teste como o período que o rato fica imóvel, o ato de realizar a limpeza corporal, ou de explorar verticalmente o ambiente (SEIBENHENER, WOOTEN, 2015). A linhagem SHR apresentou maior locomoção na área central, sugerindo um menor nível de ansiedade, apesar de que diferenças no escore de locomoção e defecação não são observadas (RAMOS et al., 1998; RAMOS et al., 2002).

Também pode ser observado através de estudos que a linhagem LEW apresentou menos tempo nos braços abertos e mais tempo nos braços fechados quando submetido ao teste de labirinto em cruz elevado, apresentando uma menor aproximação a estímulos ansiogênicos quando comparado à linhagem SHR. Isso, visto que os braços abertos do labirinto são elevados do chão e evocam uma situação de esquia a abordagens nessa região, que é então considerada aversiva aos ratos (PELLOW et al., 1985; RAMOS et al., 1998; RAMOS et al., 2001).

## **2) JUSTIFICATIVA**

O desenvolvimento de novas terapias e métodos de diagnóstico depende de estudos que avaliem o comportamento e seus mecanismos neurobiológicos. As linhagens isogênicas de ratos são constituídas de indivíduos geneticamente idênticos e são criadas por cruzamentos consanguíneos por pelo menos 20 gerações. A utilização dessas linhagens de ratos isogênicas como modelo de avaliação comportamental tem se mostrado útil na pesquisa biomédica, pelos fatores citados anteriormente. As linhagens LEW e SHR contrastam em seus comportamentos e por essa razão a sua comparação permite a busca dos genes, ou vias neurobiológicas responsáveis pelos seus comportamentos diferenciais (RAMOS et al., 1997; RAMOS et al., 2002; WATERSTON et al., 2002; TECOTT, 2003; ANDREWS et al., 2018).

Neste contexto, a utilização da revisão metodológica surge como um modelo de avaliação dos estudos já publicados. A literatura apresenta diversos artigos sobre a utilização das linhagens LEW e SHR nas pesquisas sobre ansiedade, uso de drogas, depressão entre outras alterações comportamentais. Entretanto, existem dúvidas a respeito dos fatores ambientais e genéticos que fazem esses animais apresentarem um contraste comportamental tão elevado e reprodutível. Então, no presente estudo pretendemos observar as alterações comportamentais apresentadas por LEW e SHR nas pesquisas já publicadas que comparam essas duas linhagens. Nós acreditamos que essa abordagem irá auxiliar na compreensão fisiopatológica dos transtornos comportamentais relacionados à ansiedade e nos ajudará a avaliar criteriosamente os resultados obtidos e também direcionar o futuro das pesquisas com esses animais.

## **3) HIPÓTESE**

O presente trabalho pretende avançar, sem a utilização de animais, no longo caminho científico que se segue entre a identificação dos genes e variáveis ambientais, responsáveis por comportamentos diferenciais. A hipótese do presente trabalho é de que através da revisão metodológica conseguiremos propor ao menos uma variável ambiental e uma variável genética que expliquem as diferenças comportamentais exibidas pelas linhagens LEW e SHR.

## 4) OBJETIVOS

### 4.1 OBJETIVO GERAL

Buscar uma variável ambiental e uma variável genética que justifiquem as diferenças comportamentais exibidas pelas linhagens LEW e SHR.

### 4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar os estudos selecionados para revisão metodológica que utilizem animais *naive* das linhagens LEW e SHR.
- Avaliar as alterações comportamentais apresentadas pelas linhagens LEW e SHR após experimentos farmacológicos.
- Avaliar as alterações comportamentais apresentadas pelas linhagens LEW e SHR após experimentos com manipulações ambientais.
- Propor variáveis ambientais que interferem no comportamento diferencial de ratos LEW e SHR.
- Propor os genes que interferem no comportamento diferencial de ratos LEW e SHR.

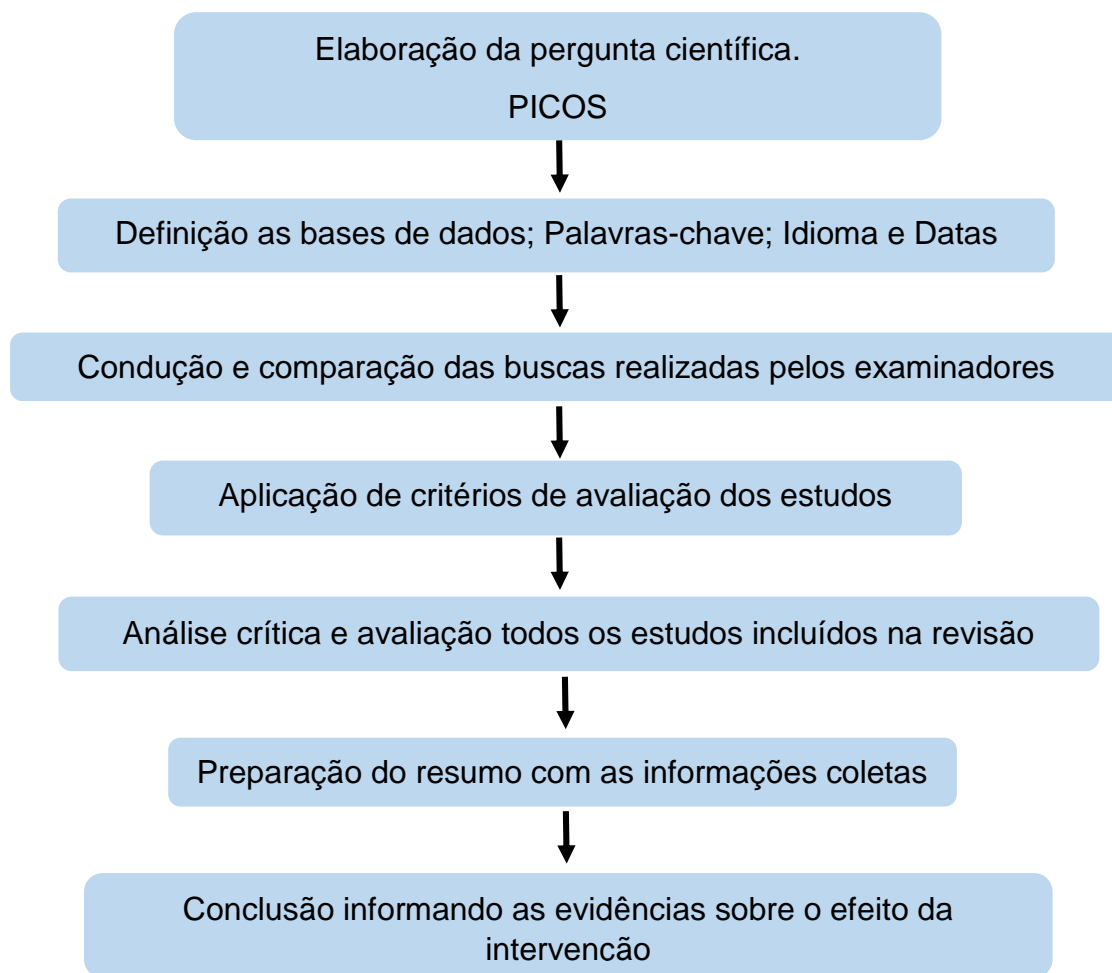
## 5) MATERIAL E MÉTODOS

### 5.1 REVISÃO METODOLÓGICA

A primeira etapa para a realização da revisão metodológica foi a elaboração da pergunta da pesquisa, seguido da definição dos critérios de inclusão e exclusão dos estudos, bem como as estratégias de busca com palavras chave e bases de dados, esse protocolo foi desenvolvido para a realização da revisão metodológica antes pesquisa bibliográfica começar. Os estudos foram selecionados de forma com que os dados dos autores e/ou laboratório não fosse visualizado pelo pesquisador. Os artigos coletados foram avaliados através do questionário Rob da SYRCLE, que avalia o risco de viés de cada estudo, e por fim os resultados foram descritos. Uma representação esquemática sobre o processo de realização de uma revisão metodológica é descrita na Figura 1 (GALVÃO, PEREIRA, 2014, MOHER, 2015). Todos os artigos contendo

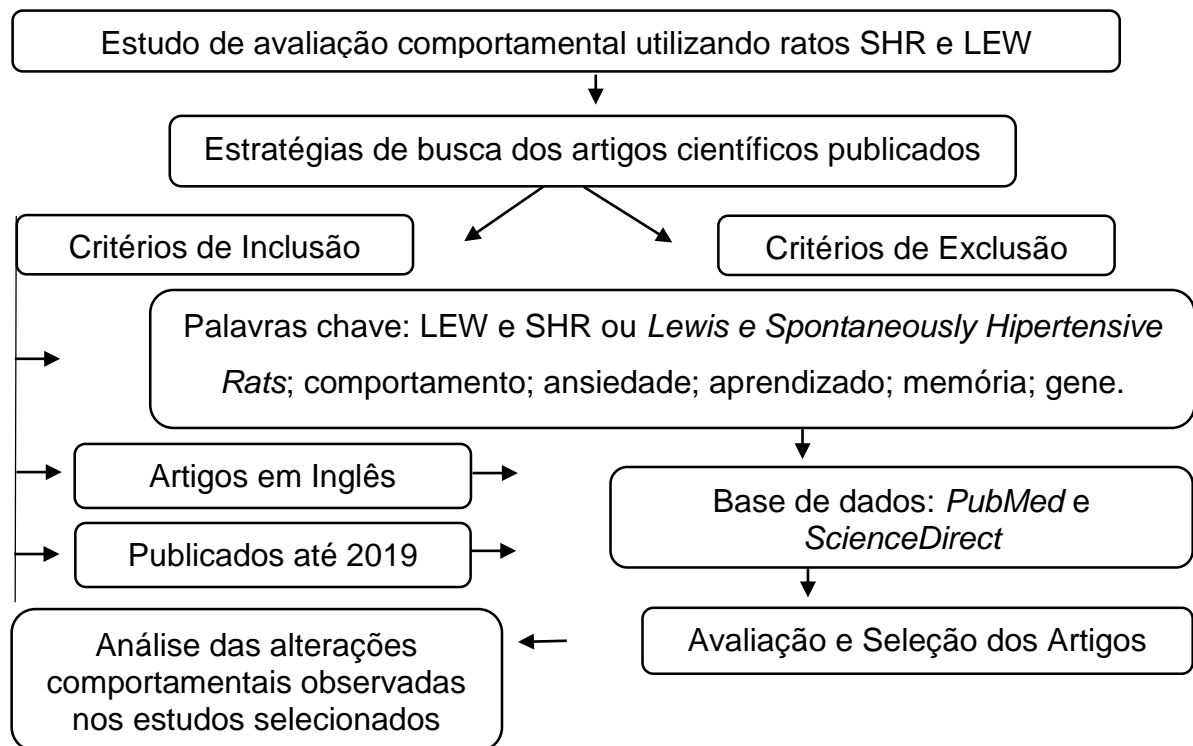
os critérios de seleção foram incluídos para avaliação independentemente do seu estudo.

Figura 1: Representação esquemática do processo para realização da revisão metodológica



Modificado de Sampaio e Macini (2007)

## 5.2 DESENHO EXPERIMENTAL



### 5.2.1 Revisão Metodológica: Definindo a pesquisa

A pergunta que incentivou a pesquisa foi: Qual o efeito dos fatores ambientais no comportamento genético de ratos LEW e SHR com ansiedade?

Para representação da pergunta da pesquisa foi utilizado o anagrama de PICOS onde abrevia as palavras: população, intervenção, comparação, desfecho e tipo de estudo (GALVÃO, PEREIRA, 2014). As populações utilizadas no estudo foram: Ratos LEW e SHR utilizados em estudos comportamentais. Serão observados e avaliados os estudos que utilizaram ratos LEW e SHR na pesquisa sobre comportamento exercido através de fatores ambientais como influência de temperatura, odor e exercícios, e genéticos. Para estudos comportamentais os ratos foram submetidos a diferentes avaliações como quanto à administração de fármacos, consumo de álcool, manifestação de ansiedade e depressão, ou outras avaliações relacionadas à alteração comportamental. A comparação realizada foi o comportamento ansioso com o ambiente e o comportamento ansioso com um possível



gene. *Outcome* ou desfecho é a presença dos fatores ambientais e genéticos sobre a ansiedade de ratos LEW e SHR. Os estudos foram observacionais e experimentais.

### **5.2.2 Revisão Metodológica: Critérios de inclusão**

Os artigos foram coletados buscando por palavras chaves LEW, SHR, Lewis, *Spontaneously Hypertensive Rats*, comportamento, ansiedade, memória e gene em duas bases de dados. Os estudos encontrados foram avaliados e inseridos os artigos que utilizem as duas linhagens de forma comparativa, publicados em inglês até janeiro de 2019. Todos os artigos coletados foram analisados individualmente independente do seu tipo de estudo. Foram excluídos os artigos de revisões, capítulos de livros, estudos sem LEW ou SHR e aqueles que não apresentassem relação com alterações comportamentais. Para ser selecionado o artigo precisava utilizar as duas linhagens Lewis e *Spontaneously Hypertensive Rats*, no decorrer da pesquisa e apresentar os resultados individualmente. Não foram excluídos os estudos que apresentavam mais linhagens, desde que as LEW e SHR estivessem presentes.

### **5.2.3 Revisão Metodológica: Definindo as bases de dados**

Para a realização das buscas dos estudos nas bases de dados foram realizadas algumas combinações de palavras-chaves relacionadas com o tema da revisão. As bases de dados utilizadas para coleta dos materiais foram *PubMed* e *ScienceDirect*, em alguns casos foram incluídos componentes da lista de referência bibliográfica. Ambas foram utilizadas as seguintes combinações de palavras: LEW e SHR ou Lewis e *Spontaneously Hypertensive Rats*. Associados ou não a: comportamento, ansiedade, memória ou gene. Os estudos foram exportados para um aplicativo de armazenamento online, separados por período de coleta e palavras chave. Após o término da pesquisa os estudos duplicados foram excluídos, bem como as revisões e capítulos de livro. As pesquisas remanescentes foram examinadas por leitura de texto completo e as que foram aptas para aderir aos critérios de inclusão compuseram a análise de resultados. As referências foram listadas manualmente e dispostas em uma tabela de análise de resultados contendo o autor, ano de publicação, título da pesquisa, número de animais, linhagens utilizadas, avaliação Rob

e fator de influência no comportamento. As exclusões e seleções foram listadas e justificadas de acordo com as recomendações PRISMA (MOHER et al. 2015).

#### 5.2.4 Revisão Metodológica: Avaliação dos artigos extração de dados.

O método de avaliação dos artigos teve como base a ferramenta Rob da SYRCLE que avalia o risco de vieses de seleção, desempenho, atrito, detecção e relatório. Para que ocorra a avaliação de um estudo específico é necessário responder a uma lista de 10 perguntas (Tabela 1), uma resposta “sim” indica um baixo risco de viés, uma resposta “não” indica um alto risco de viés e uma resposta “pouco claro” é utilizada quando os detalhes do estudo forem insuficientes para avaliar o risco de viés. O resultado da avaliação de cada artigo é apresentado de forma individual em uma tabela de análise resultados apresentando: três cruces (+++) para artigos bem avaliados com cinco ou mais resposta “sim”, duas cruces (++) para artigos medianos com duas à quatro respostas “sim” e uma cruz (+) para artigos com apenas uma ou nenhuma resposta “sim”. O protocolo de avaliação Rob não recomenda o cálculo de uma pontuação para cada estudo (HOOIJIMANS, et. al., 2014).

Tabela 1: Questionário realizado para avaliação dos artigos coletados para a revisão metodológica com base na ferramenta Rob da SYRCLE, as perguntas foram respondidas por três pesquisadores independentes após a leitura de cada artigo.

<b>1) A sequência de alocação foi gerada e aplicada adequadamente?</b>	Sim / não / pouco claro
<b>2) Os grupos foram semelhantes no início ou foram ajustados para fatores de confusão na análise?</b>	Sim / não / pouco claro
<b>3) A alocação aos diferentes grupos foi adequadamente ocultada?</b>	Sim / não / pouco claro
<b>4) Os animais foram alojados aleatoriamente durante o experimento?</b>	Sim / não / pouco claro
<b>5) Os cuidadores e / ou investigadores não tiveram acesso sobre qual intervenção cada animal recebeu durante o experimento?</b>	Sim / não / pouco claro

<b>6) Os animais foram selecionados aleatoriamente para avaliação do resultado?</b>	Sim / não / pouco claro
<b>7) O avaliador do resultado não obteve informações acerca do experimento?</b>	Sim / não / pouco claro
<b>8) Os dados de resultados incompletos foram adequadamente abordados?</b>	Sim / não / pouco claro
<b>9) Os relatórios do estudo são livres de relatos de resultados seletivos?</b>	Sim / não / pouco claro
<b>10) O estudo aparentemente estava livre de outros problemas que poderiam resultar em alto risco de viés?</b>	Sim / não / pouco claro

Fonte: Adaptada de HOOIJIMANS, et. al., 2014

### 5.2.5 Revisão Metodológica: Análise e Interpretação dos Resultados

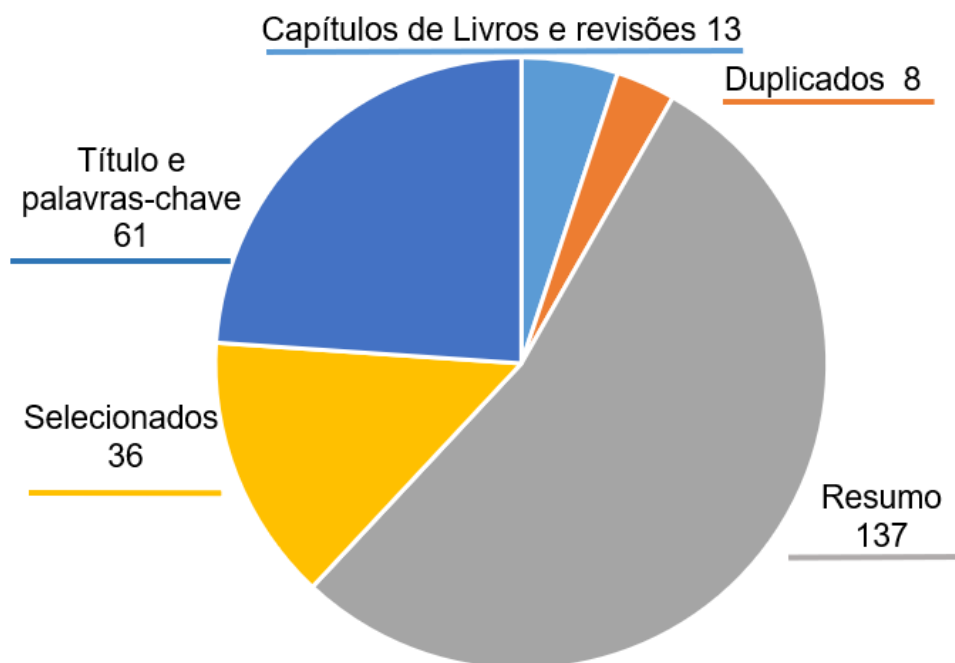
Uma análise revisional foi produzida utilizando os dados coletados dispostos na tabela de análises, de forma comparativa. Os artigos selecionados e avaliados foram minuciosamente relidos, a fim de descrever quais genes e quais fatores ambientais estão relacionados com as alterações comportamentais interferem no comportamento de ratos LEW e SHR.

## 6) RESULTADOS

De 255 artigos coletados 8 deles foram excluídos por serem duplicados, dos 247 artigos restantes 13 foram excluídos, pois representavam capítulos de livros, ou revisões narrativas, sistemáticas e metodológicas.

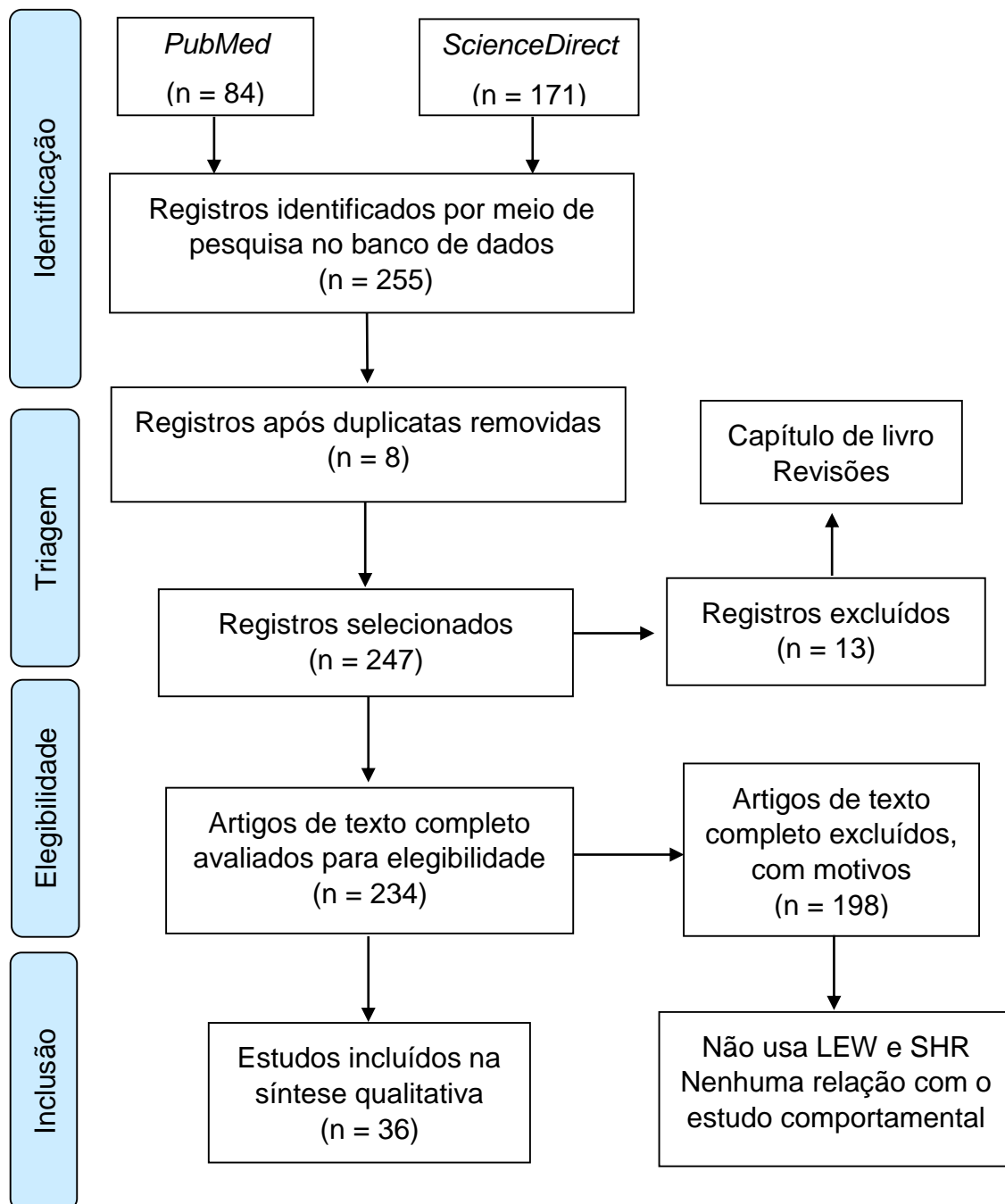
Uma avaliação individual dos 234 artigos foi realizada a fim de relacionar o título, palavras-chaves, resumos e conteúdo com o objetivo da revisão metodológica. Entre os critérios de título e palavras-chaves ocorreu a exclusão de 61 artigos, na avaliação de resumo e na integra de 137 estudos foram excluídos (Figura 2). Por fim, 36 artigos preencheram os critérios de inclusão e foram submetidos à avaliação de qualidade e risco de viés Rob (HOOIJIMANS, et. al., 2014). Um diagrama (Figura 3) foi realizado de acordo com as recomendações PRISMA (MOHER, et al. 2015)

Figura 2: Representação do número de artigos excluídos do estudo de revisão por serem capítulos de livros ou revisões (13), duplicados (8), avaliação do resumo (137), avaliação do título e palavras-chave (61) e o número de artigos selecionados (36).



Os 36 artigos selecionados somaram uma amostra de 5098 animais, em 19 (52,7%) artigos as fêmeas também participaram das pesquisas, ratos machos estavam presentes em todos dos estudos (100%). Pesquisas de caráter genético compreenderam 52,8%, as pesquisas relacionadas às influências ambientais somaram o total de 47,2%.

Figura 3: Diagrama realizado de acordo com as recomendações PRISMA



Modificado de Moher et al. (2015)

## 6.1 PROCESSO AVALIATIVO DOS ESTUDOS

O processo de avaliação dos estudos selecionados foi realizado com base no questionário ferramenta Rob da SYRCLE. Dois avaliadores independentes responderam o questionário em momentos diferentes utilizando a versão em inglês original da ferramenta. As respostas que não estavam em concordância foram levadas novamente para avaliação por uma terceira pessoa. Os estudos que obtiveram cinco ou mais respostas “sim” apresentam três cruces, estudos com duas a quatro respostas “sim” apresentam duas cruces e estudos com uma ou nenhuma resposta “sim” apresentam apenas uma cruz (Tabela 2).

Tabela 2: Processo de avaliativo dos artigos selecionados para revisão metodológica

Autor	Avaliação
ANSELMI et al. (2016)	++
ARMARIO et al. (1995)	++
AVSAROGLU et al. (2006)	++
BERTON et al. (1998)	++
BRUSKE et al. (2007)	+++
CHAOULOFF et al. (1997)	+
CHIAVEGATTO et al. (2009)	++
DUCLOSM et al. (2001)	+
GAUFFRE et al. (1997)	+
GÓMEZ et al. (1996)	+
HLAVACOVA et al. (2006)	++
IZIDIO et al. (2005)	++
KULIKOV et al. (1997)	+
LAHMAME et al. (1996)	+
LAHMAME et al. (1997)	++
MARTI et al. (1994)	++
MARTIN et al. (2000)	++
MARTIN et al. (2000) <sup>1</sup>	+
MAZUR et al. (2017)	++
MEDEIROS et al. (2013)	++

O'MALLEY et al. (2013)	+++
POLLIER et al. (2000)	+
RAMOS et al. (1997)	++
RAMOS et al. (1998)	++
RAMOS et al. (1999)	++
RAMOS et al. (2001)	++
RAMOS et al. (2008)	++
SILVA et al. (2005)	+
SILVA et al. (2004)	+
SUZUKI et al. (1991)	++
TAKAHASHI et al. (2001)	++
VENDRUSCOLO et al, (2004)	++
VENDRUSCOLO et al. (2003)	++
VENDRUSCOLO et al. (2006)	++
VENDRUSCOLO et al. (2006) <sup>1</sup>	+
VENDRUSCOLO et al. (2008)	++

Fonte: Dados elaborados pelo autor deste trabalho (2019)

## 6.2 ESTUDOS RELACIONADOS AO USO DE DROGAS E ETANOL

Entre os estudos selecionados para a revisão metodológicas 10 estão relacionados quanto à administração de drogas e etanol e possíveis influências no comportamento dos ratos (Tabela 3). Entre os artigos citados 4 deles utilizam drogas com a possível ação antidepressiva exercido pela desipramina, ansiolíticas como diazepam, NKP608, SB206553 e ansiogênicas representado pelo pentilenotetrazol nas linhagens de ratos isogênicas (Tabela 4) (SUZUKI et al. 1991; LAHMAME et al. 1996, RAMOS et al. 1997; TAKAHASHI et al. 2001; VENDRUSCOLO et al. 2003; SILVA et al. 2004; SILVA et al. 2005; AVSAROGLU et al. 2006; VENDRUSCOLO et al. 2008)

Tabela 3: Artigos que pesquisaram efeitos de drogas e etanol no comportamento de diferentes linhagens isogênicas de ratos.

Autor	Artigo
-------	--------

AVSAROGLU et al. (2006)	Differences in response to anesthetics and analgesics between inbred rat strains
CHIAVEGATTO et al. (2008)	Expression of a-synuclein is increased in the hippocampus of rats with high levels of innate anxiety
LAHMAME et al. (1996)	Differential responsiveness of inbred strains of rats to antidepressants in the forced swimming test: are Wistar Kyoto rats an animal model of subsensitivity to antidepressants?
RAMOS et al. (1997)	A multiple-test study of anxiety-related behaviours in six inbred rat strains
SILVA et al. (2005)	Effects of ethanol on locomotor and anxiety-like behaviors and the acquisition of ethanol intake in Lewis and spontaneously hypertensive rats
SILVA et al. (2004)	Comparison of voluntary ethanol intake by two pairs of rat lines used as genetic models of anxiety
SUZUKI et al. (1991)	Sex differences in physical dependence on pentobarbital in four inbred strains of rats
TAKAHASHI et al. (2001)	Strain-dependent effects of diazepam and the 5-HT <sub>2B/2C</sub> receptor antagonist SB 206553 in spontaneously hypertensive and Lewis rats tested in the elevated plus-maze
VENDRUSCOLO et al. (2003)	Evaluation of the anxiolytic-like effect of NKP608, a NK1-receptor antagonist, in two rat strains that differ in anxiety-related behaviors
VENDRUSCOLO et al. (2008)	Marker-assisted dissection of genetic influences on motor and neuroendocrine sensitization to cocaine in rats

Fonte: Dados elaborados pelo autor deste trabalho (2019)



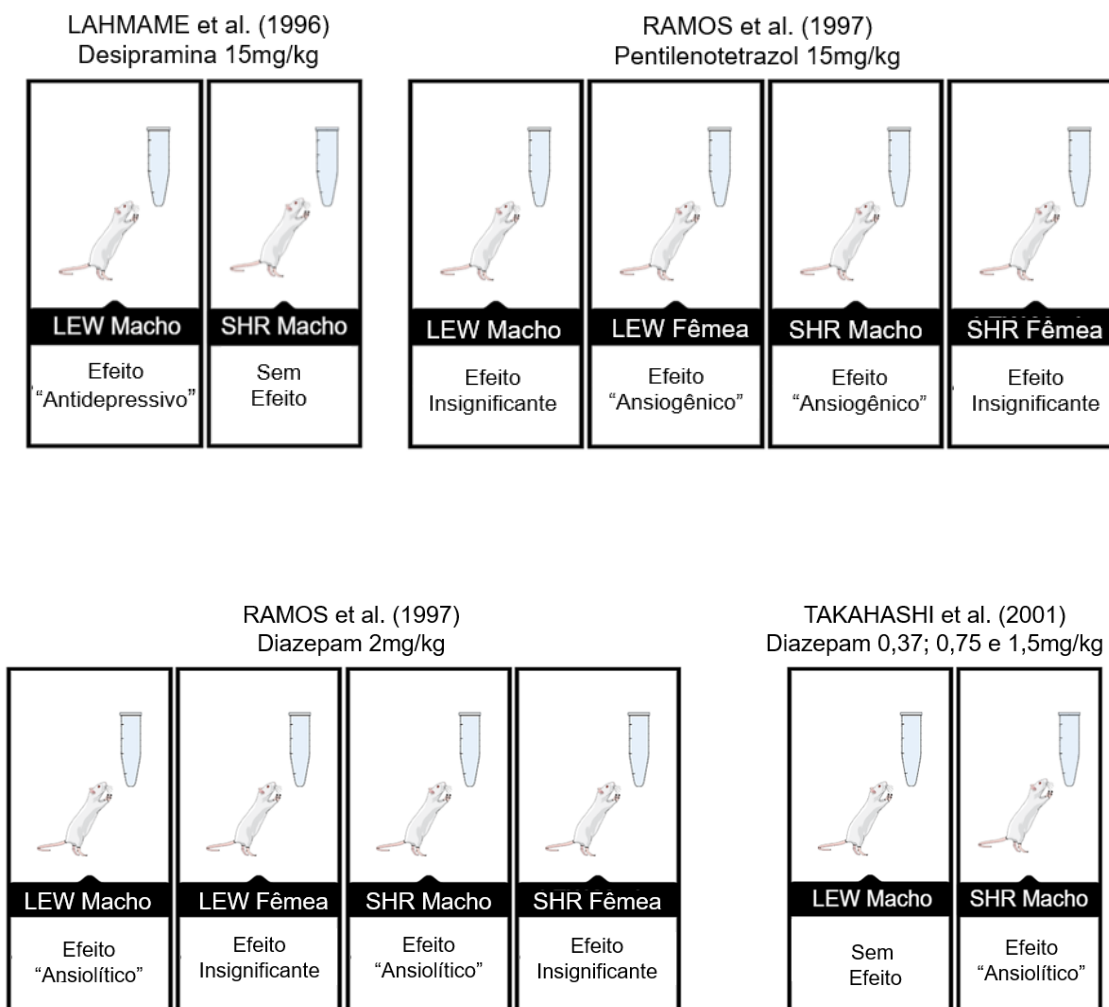
Tabela 4: Estudos relacionados à avaliação comportamental de linhagens LEW e SHR quando submetidos ao uso de drogas antidepressivas, ansiolíticas e ansiogênicas.

Autor	Objetivo da Pesquisa	Resultado
LAHMAME et al. (1996)	Caracterizar o comportamento de 5 linhagens de ratos quanto a capacidade de resposta aos antidepressivos	Utilização de 15mg/kg de Desipramina no teste de nado forçado resultou no aumento do esforço e redução da imobilidade do LEW e nenhum efeito em SHR. O estudo sugere que a capacidade de resposta a Desipramina possa ser controlada por mecanismos genéticos
RAMOS et al. (1997)	Seleção de 2 linhagens, dentre seis, de ratos contrastantes com os comportamentos relacionados ao medo	LEW e SHR são consideradas linhagens contrastantes e um modelo útil para estudo dos mecanismos neurobiológicos e diferenças basais nos níveis de ansiedade
TAKAHASHI et al. (2001)	Efeito do Diazepam e SB206553 um antagonista do 5HT2B em LEW e SHR	Ratos LEW apresentam uma menor resposta aos efeitos do benzodiazepínico e um controle mais eficiente da atividade motora pelos receptores 5HT2B e 2C
VENDRUSCOLO et al. (2003)	Efeitos ansiolíticos do NKP608 em ratos LEW e SHR	No teste de campo aberto o efeito ansiolítico de um fármaco ligante do receptor NK1 foi observado apenas nos machos SHR. No teste do labirinto em cruz elevado, ratos machos LEW apresentaram efeitos ansiolíticos parciais. Fêmeas LEW não foram afetadas com o tratamento farmacológico





Fonte: Dados elaborados pelo autor deste trabalho (2019)

Os resultados obtidos com o uso de ansiolíticos, ansiogênicos e antidepressivos podem ser observados na figura 4.





Figura 4: Presença ou não do efeito antidepressivo, ansiogênico e ansiolítico manifestada pelas linhagens LEW e SHR após a administração de Desipramina, pentiletetrazol, diazepam e NKP608 em diferentes dosagens.



VENDRUSCOLO et al. (2003)  
NKP608 0,003; 0,03 e 0,3mg/kg  
TESTE CAMPO ABERTO

			
<b>LEW Macho</b>	<b>LEW Fêmea</b>	<b>SHR Macho</b>	<b>SHR Fêmea</b>
Efeito Insignificante	Efeito Insignificante	Efeito "Ansiolítico"	Efeito Insignificante

VENDRUSCOLO et al. (2003)  
NKP608 0,003; 0,03 e 0,3mg/kg  
TESTE LABIRINTO EM CRUZ ELEVADO

			
<b>LEW Macho</b>	<b>LEW Fêmea</b>	<b>SHR Macho</b>	<b>SHR Fêmea</b>
Efeito "Ansiolítico"	Efeito Insignificante	Efeito Insignificante	Efeito "Ansiolítico"

Dois estudos estão relacionados às pesquisas com drogas que podem levar a efeitos analgésicos, anestésicos e psicoestimulante em ratos LEW e SHR (Tabela 5). (SUZUKI et al. 1991; AVSAROGLU et al. 2006; VENDRUSCOLO et al. 2008).

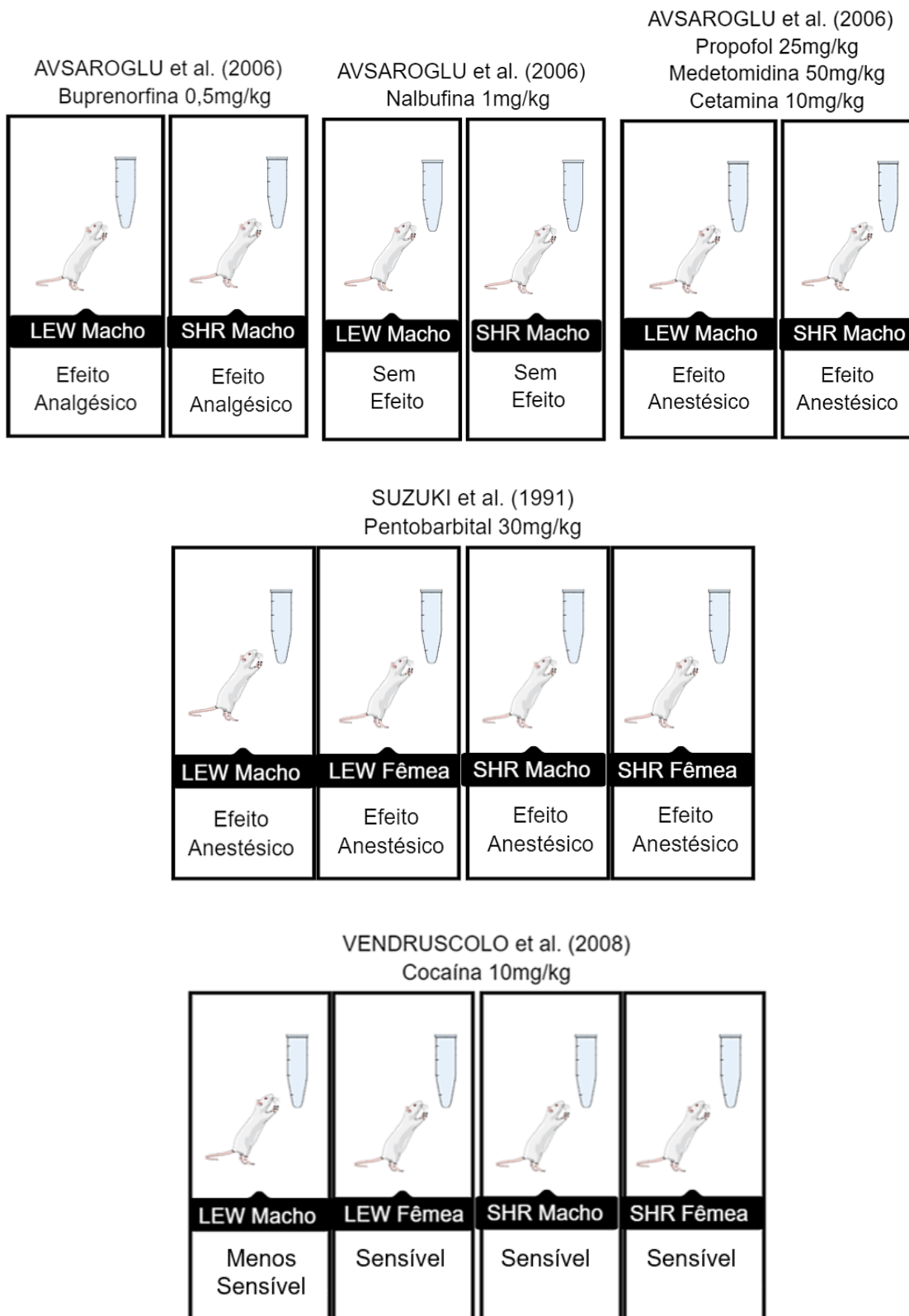
Tabela 5: Estudos relacionados à avaliação comportamental das linhagens LEW e SHR quando submetidos ao uso de drogas analgésicas, anestésicas e psicoestimulantes.

Autor	Objetivo da Pesquisa	Resultado
AVSAROGLU et al. (2006)	Determinar as diferenças na resposta de linhagens de ratos consanguíneas a uma seleção de analgésicos e drogas usadas em protocolos anestésicos	Buprenorfina induz ação analgésica e Nalbufina não induz analgesia em LEW e SHR. Propofol, medetomidina e cetamina induzem ação anestésica em LEW e SHR.
SUZUKI et al. (1991)	Investigar diferenças sexuais na dependência física do pentobarbital em quatro linhagens isogênicas FIS, LEW, SHR e WKY	Ratos machos LEW e SHR não mostraram comprometimento motor e poucos sinais de abstinência após o uso e retirada do pentobarbital. Ratas fêmeas LEW e SHR demonstraram efeitos contrários
VENDRUSCOLO et al. (2008)	Influências genéticas nas respostas comportamentais e neuroendócrinas à sensibilização da cocaína	<i>Anxrr17</i> modulou o efeito locomotor da cocaína em fêmeas e <i>Anxrr16</i> influenciou a indução da sensibilização em machos

Fonte: Dados elaborados pelo autor deste trabalho (2019)

Os resultados são demonstrados na figura 5

Figura 5: Presença ou não do efeito analgésico e anestésico manifestada pelas linhagens LEW e SHR após a administração de buprenorfina, nalbufina, propofol, medetomidina, cetamina, pentobarbital e cocaína em diferentes dosagens.



Os estudos relacionados ao uso de etanol pesquisaram sobre efeitos locomotores, comportamentais e quantidade consumida (Tabela 6). A maior parte dos artigos observou que a linhagem SHR consome significativamente mais etanol que a linhagem LEW (SILVA et al. 2004; SILVA et al. 2005; CHIAVEGATTO et al. 2008).

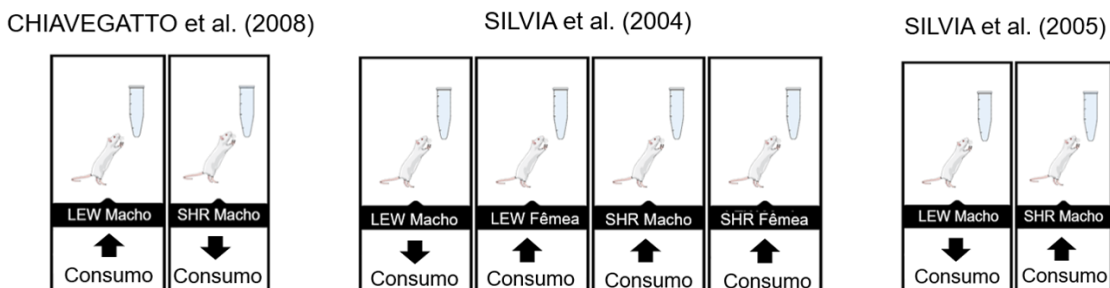
Tabela 6: Estudos relacionados à avaliação locomotora, comportamental e consumista de etanol em diferentes linhagens de ratos.

Autor	Objetivo da Pesquisa	Resultado
CHIAVEGATTO et al. (2008)	Testar o potencial envolvimento da alfa-sinucleína no controle genético de comportamentos relacionados à emocionalidade e ao álcool.	Ratos LEW machos ingeriam mais álcool quando comparados ao SHR. Aumento da expressão de proteína e RNAm de alfa-sinucleína e diminuição da atividade dopaminérgica do hipocampo de LEW quando comparados ao SHR
SILVA et al. (2004)	Avaliação de ratos geneticamente diferentes em comportamento relacionado à ansiedade na aquisição do etanol	Ratos SHR consumiram significativamente mais que LEW, ratas fêmeas consumiram mais que ratos machos
SILVA et al. (2005)	Sensibilidade para efeitos do etanol no labirinto de cruz elevado e campo aberto em LEW e SHR. Preferência de fluidos doces e amargos e consumo de etanol.	Ratos SHR consumiram mais etanol e sacarina quando comparados aos ratos LEW. SHR apresentou efeito ansiolítico e ativação motora intensiva com baixa dose de etanol quando testado no campo aberto.

Fonte: Dados elaborados pelo autor deste trabalho (2019)

Os resultados estão demonstrados na figura 6.

Figura 6: Observação da quantidade consumida de etanol pelas linhagens LEW e SHR.



### 6.3 ESTUDOS RELACIONADOS À AVALIAÇÃO GENÉTICA

A influência de fatores genéticos nos transtornos comportamentais resultou em 8 artigos selecionados para a revisão metodológica (Tabela 7). Entre os estudos 4 deles estão direcionados à pesquisa de QTL (*locus* de características quantitativas) e sua relação com o comportamento de ansiedade/emocionalidade. As pesquisas observaram influências de QTL identificados no cromossomo 4 e 7 (Tabela 8).

Tabela 7: Artigos que pesquisaram a influência de fatores genéticos no perfil comportamental de diferentes linhagens isogênicas de ratos.

Autor	Artigo
ANSELMINI et al. (2016)	Genetic evidence for chromosome 4 loci influencing learning and memory
IZIDIO et al. (2005)	Common variations in the pretest environment influence genotypic comparisons in models of anxiety
MEDEIROS et al. (2013)	Low-Anxiety Rat Phenotypes Can Be Further Reduced through Genetic Intervention
RAMOS et al. (1998)	A genetic and multifactorial analysis of anxiety-related behaviours in Lewis and SHR intercrosses

RAMOS et al. (1999)	Identification of female-specific QTLs affecting na emotionality-related behavior in rats
RAMOS et al. (2001)	Evaluation of Lewis and SHR rat strains as a genetic model for the study of anxiety and pain
RAMOS et al. (2008)	Integrating the open field, elevated plus maze and light/dark box to assess different types of emotional behaviors in one single trial
VENDRUSCOLO et al. (2006) <sup>1</sup>	A QTL on rat chromosome 7 modulates prepulse inhibition, a neuro-behavioral trait of ADHD, in a Lewis x SHR intercross

Fonte: Dados elaborados pelo autor deste trabalho (2019)

Tabela 8: Estudos relacionados com a influência de QTL nos traços relacionados à ansiedade em linhagens LEW e SHR

Autor	Objetivo da Pesquisa	Resultado
ANSELMINI et al. (2016)	Influência do QTL na aprendizagem e memória e confirmação em SLA16	<i>Anxrr54 Anxrr55 Anxrr56 Anxrr57 Anxrr58</i> relacionados à ansiedade
MEDEIROS et al. (2013)	Confirmação da localização e isolamento do efeito da região genômica <i>Anxrr16</i> através da construção da linhagem congênica SLA16	Parte do cromossomo 4 de LEW inserido no genoma de SHR reduziu o nível de ansiedade de SLA16
RAMOS et al. (1999)	Identificação dos QTL que influenciam nos traços relacionados à ansiedade/emocionalidade em ratos	<i>Anxrr16 Anxrr17</i> relacionados à ansiedade em fêmeas e <i>Bp141 Bp142</i> relacionados à pressão arterial
VENDRUSCOLO et al. (2006)	Comparação de LEW e SHR no teste de sobressalto acústico	<i>Anxrr17</i> em fêmeas modula a inibição do pré-pulso



Fonte: Dados elaborados pelo autor deste trabalho (2019)

As linhagens LEW e SHR foram comparadas quanto aos mecanismos genéticos subjacentes à ansiedade e emocionalidade. As comparações das linhagens ocorreram através de diversos testes comportamentais que avaliaram a potencial contribuição das linhagens para estudos sobre ansiedade e dor (Tabela 9)

Tabela 9: Estudos que avaliaram as linhagens LEW e SHR quanto aos mecanismos genéticos relacionados à ansiedade, dor e emoção através de testes comportamentais.

Autor	Objetivo da Pesquisa	Resultado
RAMOS et al. (1998)	Mecanismos genéticos relacionados à ansiedade/emocionalidade em LEW e SHR	Diferenças entre SHR e LEW estão relacionadas a efeitos dos genes e não a efeitos maternos. SHR menos ansioso e tem maior pressão arterial sistólica.
RAMOS et al. (2001)	Comparar as linhagens brasileiras LEW SHR quanto ao comportamento e fármacos relacionados à ansiedade	LEW foi mais ansioso e teve maior sensibilidade nociceptiva que SHR
RAMOS et al. (2008)	Utilização de teste triplo para avaliação emocional e comportamental de ratos em um único teste	O teste triplo é eficaz para o estudo da ansiedade, sendo uma forma rápida, abrangente e confiável

Fonte: Dados elaborados pelo autor deste trabalho (2019)

Um dos artigos selecionados para revisão metodológica investigou a influência de variáveis ambientais vivenciadas nos laboratórios comuns e sua interação com o genótipo (Tabela 10)

Tabela 10: Estudos que avaliaram a influência de variáveis ambientais sobre o genótipo de ratos LEW e SHR.

Autor	Objetivo da Pesquisa	Resultado
IZIDIO et al. (2005)	Influência de variáveis ambientais e interação com o genótipo nos resultados de testes comportamentais	A familiaridade do experimentador não alterou o comportamento. Ratos em gaiolas posicionadas embaixo apresentaram maior ansiedade. No teste da caixa preto e branco os efeitos são genótipo- dependentes, no teste de labirinto em cruz elevado ocorreu diferenças genotípicas entre LEW e SHR apenas em ratos recém-despertados em suas gaiolas.

Fonte: Dados elaborados pelo autor deste trabalho (2019)

#### 6.4 ESTUDOS RELACIONADOS AO SISTEMA NEUROENDÓCRINO

Acredita-se que alterações comportamentais, como as que ocorrem na depressão, estão diretamente relacionadas com o eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HPA). As alterações observadas na depressão, a nível (HPA), são muito semelhantes àquelas encontradas em animais estressados. Relacionado ao sistema imunológico e neuroendócrino sete artigos foram selecionados para a revisão metodológica (Tabela 11). Os estudos avaliaram a influência do estresse (Tabela 12) e do comportamento em repouso sobre os níveis de aldosterona, corticosterona, hormônio adrenocorticotrófico, atividade da renina plasmática, glicose sérica, prolactina e peso da adrenal (Tabela 13) (MARTI et al. 1994; ARMARIO et al. 1995; GÓMEZ et al. 1996; LAHMAME et al. 1997; MARTIN et al. 2000; DUCLOS et al. 2001; HLAVACOVA et al. 2006).

Tabela 11: Estudos que avaliaram os efeitos do comportamento estressado e em repouso sobre o sistema neuroendócrino em ratos de linhagens isogênicas.

Autor	Artigo
ARMARIO et al. (1995)	Comparison on the behavioural and endocrine response to forced swimming stress in five inbred strains of rats
DUCLOS et al. (2001)	Relationships between muscle mitochondrial metabolism and stress-induced corticosterone variations in rats
GÓMEZ et al. (1996)	Hypothalamic-Pituitary-Adrenal response to chronic stress in five inbred rat strains: differential responses are mainly located at the adrenocortical level
HLAVACOVA et al. (2006)	Differences in home cage behavior and endocrine parameters in rats of four strains
LAHMAME et al. (1997)	Brain corticotropin-releasing factor immunoreactivity and receptors in five inbred rat strains: relationship to forced swimming behaviour
MARTI et al. (1994)	Forced swimming behavior is not related to the corticosterone levels achieved in the test: A study with four inbred rat strains
MARTIN et al. (2000)	Corticotropic and serotonergic responses to acute stress with/without prior exercise training in different rat strains

Fonte: Dados elaborados pelo autor deste trabalho (2019)

Tabela 12: Estudos que avaliaram a influência do estresse sobre o sistema neuroendócrino em ratos de diversas linhagens isogênicas

Autor	Objetivo da Pesquisa	Resultado
ARMARIO et al. (1995)	Respostas comportamentais e fisiológicas ao teste nado forçado	A hiperglicemia induzida pelo estresse foi mais alta em SHR, sendo menor em fêmeas. LEW apresentaram a menor resposta de ACTH e corticosterona ao nado forçado. As fêmeas mostraram uma resposta maior a PA ao estresse em todas as linhagens.
DUCLOSM et al. (2001)	Efeito do estresse crônico e agudo sobre o metabolismo mitocondrial do músculo	Estresse crônico intermitente é capaz de induzir um aumento na corticosterona plasmática que pode estar relacionado com alterações deletérias no metabolismo mitocondrial do músculo. O estresse agudo não foi associado com uma diminuição na mitocôndria funcional
GÓMEZ et al. (1996)	Efeitos do estresse crônico no eixo HPA foram estudados em cinco estirpes de ratos consanguíneos	A imobilidade crônica aumentou os níveis basais de ACTH em LEW e SHR, a imobilidade crônica aumentou os níveis basais de corticosterona em SHR e não em LEW. A imobilidade crônica aumentou o peso absoluto da adrenal de LEW e não em SHR.

LAHMAME et al. (1997)	Relação entre o comportamento no teste de nado forçado e a concentração de fator de liberação central de corticotropina em cinco linhagens de ratos	Ratos LEW e SHR apresentaram níveis intermediários de luta e menor tempo de imobilidade no nado forçado. Os receptores CRF estão amplamente distribuídos no SNC de todas as linhagens
MARTI et al. (1994)	Estudo do comportamento de quatro linhagens de ratos no holeboard e teste de nado forçado e sua relação com índice fisiológico de estresse	No <i>holeboard</i> ratos SHR mostraram níveis mais altos de atividade, no teste de nado forçado LEW e SHR mostraram níveis semelhantes de luta e imobilidade. Ratos LEW mostraram uma resposta adrenocortical defeituosa/diminuída à situação de estresse.
MARTIN et al. (2000)	Influências de um programa de treinamento de 8 semanas e/ou um estresse de imobilização de 1h na adrenocorticotrofina plasmática (ACTH) e níveis de corticosterona	Estimulação adrenal pelo ATCH é aumentada em SHR em comparação com LEW. Níveis de triptofano foram maiores no mesencéfalo, corpos celulares serotoninérgicos mesencéfalos, terminais nervosos serotoninérgicos do estriado e do hipocampo de SHR em comparação ao LEW.

Fonte: Dados elaborados pelo autor deste trabalho (2019)

Tabela 13: Estudo que comparou o comportamento em gaiola com os níveis hormonais basais em quatro linhagens de ratos.

Autor	Objetivo da Pesquisa	Resultado
HLAVACOVA et al. (2006)	Comportamento em gaiola comparado com os níveis hormonais basais	LEW apresentaram mais saltos e mais criação. LEW apresentaram níveis de mais altos de aldosterona. A atividade de renina plasmática foi menor em SHR

Fonte: Dados elaborados pelo autor deste trabalho (2019)

## 6.5 ESTUDOS RELACIONADOS AO SISTEMA SEROTONINÉRGICO

Entre os artigos selecionados para revisão metodológica no nível de sistema serotoninérgico (Tabela 14) 3 deles avaliaram o efeito do estresse na atividade centro-serotoninérgica (Tabela 15), 2 estão relacionados aos receptores 5HT1A e 5HT2A (Tabela 16), central 1 artigo avaliou o efeito do citalopram como inibidor da recaptação de serotonina (Tabela 17) (CHAOULOFF et al. 1996; GAUFFRE et al. 1997; KULIKOV et al. 1997; BERTON et al. 1998; MARTIN et al. 2000; POLLIER et al. 2000).

O reconhecimento e estudos específicos dos subtipos de receptores 5HT como 5-HT1A e 5HT2A, ambos postulados como tendo um papel importante na ansiogênese, permitiu análises do papel do 5HT no comportamento. O bloqueio de um dos subtipos de receptores 5HT reduzem os comportamentos relacionados a ansiedade (CHAOULOFF et al. 1996; GAUFFRE et al. 1997; KULIKOV et al. 1997; BERTON et al. 1998; MARTIN et al. 2000; POLLIER et al. 2000).

Tabela 14: Estudos que avaliaram o sistema serotoninérgico e sua interação com o comportamento ansioso/depressivo em linhagens isogênicas de ratos

Autor	Artigo
BERTON et al. (1998)	Differential effects of social stress on central serotonergic activity and emotional reactivity in Lewis and Spontaneously Hypertensive Rats

CHAOULOFF et al. (1996)	Effects of Food Deprivation on Midbrain 5-HT <sub>1A</sub> Autoreceptors in Lewis and SHR Rats
GAUFFRE et al. (1997)	Cortical [3H]ketanserin binding and 5-HT <sub>2A</sub> receptor-mediated inositol phosphate production in the spontaneously hypertensive rat and Lewis rat strains
KULIKOV et al. (1997)	Central serotonergic systems in the Spontaneously Hypertensive and Lewis rat strains that differ in the elevated Plus-maze test of anxiety
MARTIN et al. (2000)	Hippocampal and striatal [3H]5-HT reuptake under acute stressors in two rat strains differing for their emotivity
POLLIER et al. (2000)	Serotonin Reuptake Inhibition by Citalopram in Rat Strains Differing for Their Emotionality

Fonte: Dados elaborados pelo autor deste trabalho (2019)

Tabela 15: Estudos que avaliaram o efeito do estresse na atividade centro-serotoninérgica em linhagens de ratos.

Autor	Objetivo da Pesquisa	Resultado
BERTON et al. (1998)	Efeito de repetidas derrotas de ratos residentes Long-Evans sobre o perfil psiconeuroendócrino de ratos LEW e SHR	Perda de peso corporal e redução do número de entradas nos braços abertos e fechados em LEW. Melhor adaptação de SHR ao estresse social. Aumento nos níveis basais de corticosterona no plasma de SHR. Diminuição dos receptores 5HT <sub>1A</sub> foi proporcionalmente maior em SHR

KULIKOV et al. (1997)	Diferenças de tensão em relação a vários determinantes da atividade da 5HT. Avaliação do comportamento ansioso no labirinto de cruz elevado.	As cepas LEW e SHR não diferem nos principais componentes da função 5HT. Ratos LEW apresentam comportamentos ansiosos no labirinto de cruz elevado quando comparado ao SHR
MARTIN et al. (2000)	Avaliação da cinética de recaptção [3H] 5-HT do hipocampo e/ou do estriado e possível alteração pelo estresse de maneira dependente da linhagem	Natação forçada, corrida em esteira ou imobilização não afetam os valores de recaptção de [3H] 5-HT do hipocampo nem do estriado nas duas linhagens de ratos.

Fonte: Dados elaborados pelo autor deste trabalho (2019)

Tabela 16: Estudos que avaliaram a ação dos receptores 5HT1A e 5HT2A em linhagens LEW e SHR.

Autor	Objetivo da Pesquisa	Resultado
CHAOULOFF et al. (1996)	Avaliação sobre o efeito do jejum de 24h sobre a ligação do receptor 5HT1A do mesencéfalo e a sensibilidade em ratos LEW e SHR	A privação de alimentos não afeta o número de auto receptores 5HT1 somatodendríticos, nem sua sensibilidade funcional.
GAUFFRE et al. (1997)	Diferença no acoplamento efetor do receptor de serotonina 5HT2A	O acoplamento efetor do receptor de serotonina 5HT2A em ratos LEW é tão eficiente quanto em SHR

Fonte: Dados elaborados pelo autor deste trabalho (2019)



Tabela 17: Estudo que avaliou o efeito do citalopram como inibidor da recaptação de serotonina em linhagens isogênicas de ratos.

Autor	Objetivo da Pesquisa	Resultado
POLLIER et al. (2000)	Avaliação da administração aguda de inibidor seletivo da recaptação de serotonina (ISRS) antes do teste de labirinto em cruz elevado em SHR, LEW e WKY	A administração aguda de citalopram promoveu ansiedade e/ou hipoatividade em LEW e SHR. O mesmo tratamento aumentou níveis centrais de 5HT e/ou diminuição de 5HIAA em SHR e LEW. Ratos LEW apresentam nível basal de 5HT extracelular no hipocampo 3 a 4 vezes superior a SHR.

Fonte: Dados elaborados pelo autor deste trabalho (2019)

## 6.6 ESTUDOS RELACIONADOS AO EXERCÍCIO FÍSICO E COMPORTAMENTO NOCICEPTIVO

Dois artigos pesquisaram sobre efeitos do exercício físico forçado em esteira, exercício físico voluntário em rodas de corrida e natação forçada no comportamento ansioso (Tabela 18). Os estudos avaliaram o efeito do exercício físico sobre o comportamento e possível efeito analgésico pelo estresse (Tabela 19) (VENDRUSCOLO et al, 2004; MAZUR et al. 2017).

Tabela 18: Artigos que pesquisaram o comportamento e nocicepção após exercício físico e teste de natação forçada

Autor	Artigo
MAZUR et al. (2017)	Effects of physical exercise and social isolation on anxiety-related behaviors in two inbred rat strains

VENDRUSCOLO et al. (2004)	Strain and sex differences in the expression of nociceptive behavior and stress-induced analgesia in rats
---------------------------	---

Fonte: Dados elaborados pelo autor deste trabalho (2019)

Tabela 19: Estudos relacionados à avaliação comportamental e nociceptiva após o exercício físico e teste de natação forçada.

Autor	Objetivo da Pesquisa	Resultado
MAZUR et al. (2017)	Efeitos do exercício físico sobre a atividade locomotora e comportamento semelhante à ansiedade	O exercício físico forçado reduziu o comportamento semelhante à ansiedade e aumentou a locomoção em ratos machos. O exercício físico voluntário diminuiu o comportamento semelhante à ansiedade apenas em ratos SHR. O isolamento social diminuiu a locomoção em ambas as cepas no teste de campo aberto
VENDRUSCOLO et al, (2004)	Efeito do estresse da natação sobre as respostas nociceptivas em ratos SHR LEW WIS	A natação induziu a analgesia em todas as fêmeas. Em machos a analgesia foi presenciada apenas em LEW e WIS

Fonte: Dados elaborados pelo autor deste trabalho (2019)

## 6.7 ESTUDOS RELACIONADOS À INFLUÊNCIA DO ODOR DO PREDADOR

Dois estudos selecionados para a revisão metodológica avaliaram as linhagens LEW e SHR quando expostas ao odor do predador (Tabela 20). As pesquisas avaliaram a resposta comportamental e neuroendócrina das linhagens (Tabela 21) (BRUSKE et al. 2006; VENDRUSCOLO et al. 2006).

Tabela 20: Artigos que pesquisaram a influência do odor do predador nas linhagens LEW e SHR

Autor	Artigo
BRUSKE et al. (2006)	Two inbred rat strains contrasting for anxiety-related behaviors show similar levels of defensive responses to cat odor
VENDRUSCOLO et al. (2006)	Genetic influences on behavioral and neuroendocrine responses to predator-odor stress in rats

Fonte: Dados elaborados pelo autor deste trabalho (2019)

Tabela 21: Estudos relacionados à resposta comportamental e neuroendócrina de LEW e SHR submetidos ao odor do predador

Autor	Objetivo da Pesquisa	Resultado
BRUSKE et al. (2006)	Comparação de LEW e SHR quando expostos ao odor do gato	Aumento da manifestação do comportamento relacionado ao medo. Sem diferenças claras entre as duas linhagens.
VENDRUSCOLO et al. (2006)	Efeito da exposição à trimetiltiazolína sobre os níveis de nocicepção e corticosterona em LEW e SHR	Os ratos LEW e SHR de ambos os sexos exibiram níveis semelhantes de comportamento e respostas neuroendócrinas após a exposição ao TMT. <i>Anxrr16</i> afetou a analgesia induzida pelo estresse em machos.

Fonte: Dados elaborados pelo autor deste trabalho (2019)

## 6.8 ESTUDOS RELACIONADOS À MORFOLOGIA E MICROBIOTA VISCERAL

Uma pesquisa realizada por O'Malley et al. (2013) associou o estresse com a disfunção intestinal em 4 linhagens de ratos (Tabela 23)

Tabela 22: Estudo relacionado à associação do estresse com a disfunção intestinal.

Autor	Artigo	Objetivo da Pesquisa	Resultado
O'MALLEY et al. (2013)	Differential visceral pain sensitivity and colonic morphology in four common laboratory rat strains	O estudo examinou se a susceptibilidade inata à inflamação e sensibilidade ao estresse está associada à disfunção intestinal	Ratos LEW apresentam hipersensibilidade visceral, características mais proeminentes de disfunção gastrointestinal fisiológica e morfológica em comparação com outras linhagens.

Fonte: Dados elaborados pelo autor deste trabalho (2019)

Figura 7: Sumário dos resultados encontrados. A) Influências ambientais relacionadas ao uso de drogas nas linhagens LEW e SHR. B) Influências ambientais relacionadas à exercício físico, analgesia por estresse e sensibilidade intestinal no comportamento de LEW e SHR. C) Influências genéticas no comportamento ansioso de LEW e SHR.

A)

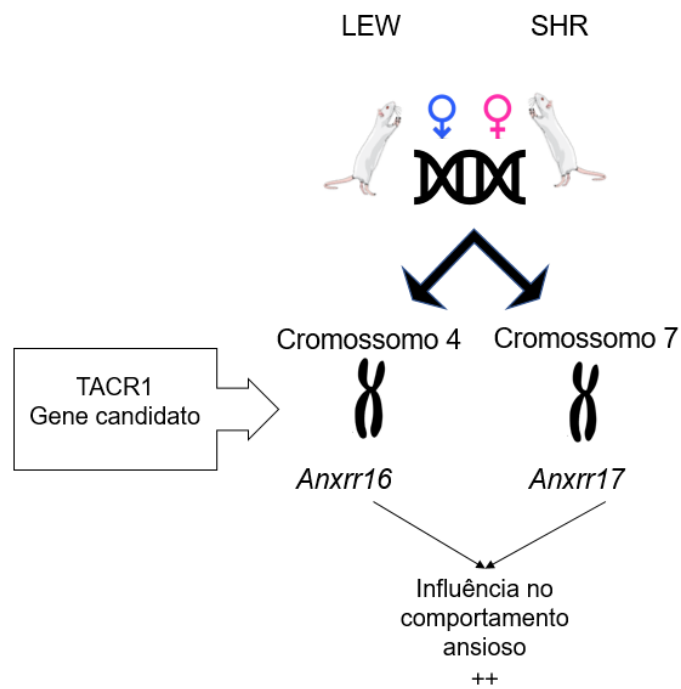


Diminuição da entrada em braços abertos	Sem efeito	Pentilenotetrazol ++	Diminuição do tempo nos braços abertos	Diminuição da entrada em braços abertos	Antagonista nos receptores GABA
Ausente no estudo	Diminuição de atividade	Desipramina Hole-board +	Ausente no estudo	Diminuição de atividade	Bloqueia a recaptção de Noradrenalina
Ausente no estudo	Aumento do tempo de luta	Desipramina Nado forçado +	Ausente no estudo	Sem efeito	Bloqueia a recaptção de Noradrenalina
Sem efeito	Aumento da entrada nos braços abertos	Diazepam Labirinto em cruz elevado 2mg/kg ++	Sem efeito	Aumento da entrada nos braços abertos	Agonista nos receptores GABA
Ausente no estudo	Não apresentaram efeito ansiolítico	Diazepam Labirinto em cruz elevado 1,5mg/kg ++	Ausente no estudo	Apresentaram efeito ansiolítico	Agonista nos receptores GABA
Ausente no estudo	Maior consumo	Etanol ++	Ausente no estudo	Menor consumo	Agonista nos receptores GABA
Maior consumo	Menor consumo	Etanol +	Maior consumo	Maior consumo	Agonista nos receptores GABA
Menor sensibilidade	Menor sensibilidade	Cocaína ++	Maior sensibilidade	Maior sensibilidade	Inibidor da recaptção de dopamina
Não apresentaram efeito ansiolítico	Não apresentaram efeito ansiolítico	NKP608 Campo aberto ++	Não apresentaram efeito ansiolítico	Apresentaram efeito ansiolítico	Antagonista do receptor NK1
Não apresentaram efeito ansiolítico	Apresentaram efeito ansiolítico	NKP608 Labirinto em cruz elevado ++	Apresentaram pouco efeito ansiolítico	Não apresentaram efeito ansiolítico	Antagonista do receptor NK1

B)

LEW		SHR		
♀	♂	♀	♂	♀
Ausente no estudo	Sem efeito	Exercício físico voluntário ++	Ausente no estudo	Diminuição do comportamento ansioso
Significativa indução da analgesia	Significativa indução da analgesia	Indução a analgesia por estresse ++	Significativa indução da analgesia	Sem indução da analgesia
Ausente no estudo	Hipersensibilidade intestinal	Sensibilidade intestinal +++	Ausente no estudo	Alterações morfológicas

C)



## 7) DISCUSSÃO

A revisão metodológica realizada aqui demonstrou de forma pontual quais os possíveis fatores que influenciam no comportamento dos animais LEW e SHR. Os resultados obtidos nessa revisão metodológica indicam que alguns fatores ambientais e genéticos interferem no comportamento das linhagens LEW e SHR de maneira sexo dependente.

### 7.1 FATORES GENÉTICOS

Após toda a análise dos artigos relacionados aos fatores genéticos pode-se observar que o QTL *Anxrr16* é a região genômica com maior influência no comportamento, e não somente em fêmeas. Outros QTL também foram descritos, todos relacionados ao cromossomo 4, exceto o QTL *Anxrr17* em cromossomo 7, deixando claro a importância do cromossomo 4 na regulação de comportamentos relacionados à ansiedade.

A linhagem congênica SHR.LEW-*Anxrr16*, abreviado como SLA16 demonstrou a importância do cromossomo 4 quando parte desse cromossomo da linhagem LEW foi inserida no genoma de SHR, constatando que os níveis de ansiedade dos animais SLA16 podem ser reduzidos a um nível ainda mais baixo do que os encontrados na linhagem receptora SHR. Estudos demonstram que o *Anxrr16* também é efetivo em ratos machos e que sua detecção em fêmeas pode ser relacionada ao ciclo estral. Recentemente, pode ser observado que o *Anxrr16* influencia a indução da sensibilidade à cocaína e na ingestão de álcool (VENDRUSCOLO et al., 2006; VENDRUSCOLO et al., 2009; IZÍDIO et al., 2011; MEDEIROS et al., 2013; ANSELMINI et al., 2016)

Observamos, através do Banco de Dados do Genoma do Rato (<https://rgd.mcg.edu>), que o gene candidato sugerido para o QTL *Anxrr16* é o TACR1 e que possivelmente esse gene tenha grande importância na diferença comportamental de ratos LEW e SHR.

O TACR1 é um receptor da substância P secretada em resposta aos fatores estressores. É notável que o tratamento com antidepressivos e ansiolíticos diminua

os níveis de substância P no cérebro de ratos enquanto administração da própria substância P induz a ansiedade. A interrupção do gene TACR1, ou a ação de um fármaco antagonista resultam no aumento da neurotransmissão do 5HT no hipocampo levando mimetização da ação de antidepressivos. Nos humanos, a sinalização mediada por TACR1 está envolvida com aumento dos níveis plasmáticos da substância P e, conseqüentemente, um aumento da ansiedade. Medicamentos antagonistas de TACR1 apresentam efeitos ansiolíticos e antidepressivos (HODGES et al., 2008).

Um estudo realizado com humanos diagnosticados com bipolaridade e dependência de álcool demonstrou o TACR1 como um gene candidato funcional e posicional com potencial de aumentar a susceptibilidade à dependência de álcool e transtornos afetivos (SHARP et al., 2014). Outro estudo pré-clínico realizado por George e colaboradores em 2008 avaliou camundongos geneticamente deficientes em receptores TACR1. Os animais demonstraram acentuada falta de consumo voluntário do álcool e uma maior sensibilidade aos efeitos sedativos. Pacientes internados alcoolizados e posteriormente desintoxicados tratados com antagonista do receptor TACR1 demonstraram diminuição do desejo espontâneo do álcool e melhoria do bem-estar geral quando comparado àqueles que ingeriram placebo (GEORGE et al., 2008).

É possível cogitar a relação do polimorfismo do gene TACR1 entre as linhagens LEW e SHR como um fator relacionado à maior manifestação de ansiedade, ou seja, é possível o gene TACR1 tenha uma maior ação sobre a linhagem LEW, visto que essa linhagem apresenta um comportamento mais ansioso que SHR. Para essas conclusões serão necessários estudos que investiguem a influência do gene TACR1 diretamente sobre as linhagens LEW e SHR.

## 7.2 Fatores ambientais

Pode-se observar a partir dos estudos levantados por essa revisão metodológica que a linhagem LEW e SHR diminuíram o tempo gasto nos braços abertos e entradas nos braços fechados quando submetidos ao teste de labirinto em cruz elevado. Pode ser constatado então que o efeito ansiogênico provocado pelo citalopram não afeta a locomoção, não apresentando efeito comportamental quando submetida ao uso de



medicamentos que bloqueiam a recaptação de serotonina, o uso do citalopram, um inibidor seletivo da recaptação de serotonina. (POLLIER et al., 2000).

Estudos realizados avaliando a recaptação de serotonina, número de autorreceptores 5HT1A, acoplamento do receptor 5HT2A não são alterados por conta de estressores em ambas as linhagens (CHAULOFF et al. 1996; GAUFFRE et al. 1997; KULIKOV et al. 1997; BERTON et al. 1998). Para que se possa avaliar a influência do sistema serotoninérgico no comportamento de LEW e SHR são necessárias novas pesquisas.

Fármacos que agem como agonista do receptor GABA tiveram efeitos insignificantes apenas em fêmeas SHR e machos LEW. Isso poderia sugerir que existem diferenças farmacocinéticas entre os sexos e linhagens. De fato, a literatura aponta que estudos utilizando machos demonstram que apenas SHR tratados com diazepam apresentam efeito ao fármaco, ratos machos da linhagem LEW não apresentaram efeito ao fármaco mesmo sendo considerada a linhagem mais ansiosa (TAKAHASHI et al., 2001). Quando analisado o uso do diazepam em fêmeas foi possível observar que a linhagem SHR não aumenta os percentuais de entrada e tempo gasto nos braços abertos, demonstrando uma possível ausência de efeito ao fármaco (RAMOS et al., 1997).

Porém, deve ser levado em consideração que as fêmeas, principalmente as SHR, tendem a visitar mais os braços abertos do que os machos, ou seja, pode ter ocorrido um “efeito teto”, visto que por uma limitação do teste o diazepam não aumentaria ainda mais as visitas nos braços abertos. Para esclarecer a influência do sistema gabaérgico no comportamento de LEW e SHR são necessárias novas pesquisa, utilizando fármacos agonistas do receptor GABA em machos e fêmeas e utilizando outros testes comportamentais como parâmetro de análise, visto a influência dos braços abertos sobre as fêmeas SHR. A diminuição do efeito do fármaco em machos LEW é um forte indicativo de que novas pesquisas são necessárias e uma possível influência existe.

As diferenças dependentes do sexo são observadas em algumas drogas ansiogênicas, ansiolíticas, anestésicas e psicoestimulantes que apresentam discordância entre os efeitos manifestados em machos e fêmeas, além dos efeitos relacionados à linhagem. Acredita-se que manifestações exageradas possam ter relação com o resultado de uma extensa consanguinidade e ou evolução diferencial dos citocromos P450 em mamíferos. Os roedores em geral são utilizados como parâmetro de metabolismo e toxicidade de medicamentos para que sejam utilizados

em humanos. As reações mediadas por CYP (Citocromo P450) facilitam a excreção de xenobióticos e formação de metabólitos reativos, os ratos possuem quatro subfamílias de CYP com diferentes especificidades. Ratas fêmeas apresentam 10 a 30% menos CYP em comparação aos ratos machos, o que resultaria em uma metabolização mais lenta dos medicamentos quando comparada aos machos. Nesse estudo pode ser observado que as fêmeas apresentam uma metabolização alterada quando comparada aos machos, a metabolização pode ser acelerada ao ponto de não apresentar mais efeito ao medicamento durante os testes ou lenta o suficiente para não efeito até o momento dos testes (GREGORY et al., 1998).

A analgesia induzida por estresse é um fenômeno que ocorre após a exposição do animal a um evento estressor, o estresse ativa os sistemas analgésicos endógenos, que é considerado um importante sistema de defesa dos animais. Quando submetidos ao nado forçado animais da linhagem LEW e SHR apresentaram indução a analgesia apenas nas fêmeas. O efeito do gênero pode ser observado no estudo, acredita-se que as condições experimentais empregadas influenciaram na maior gravidade do estresse entre as fêmeas (VENDRUSCOLO et al., 2004).

Pesquisas como a realizada por Brodie (1956) utilizaram pentobarbital em ratos machos e fêmeas. Especificamente nessa pode ser observado que os níveis plasmáticos do pentobarbital em ratos machos diminuíram mais rapidamente do que em fêmeas. A administração de testosterona nas fêmeas acelerou a taxa de remoção do pentobarbital enquanto a administração de estradiol em machos retardou a remoção do pentobarbital. Esse resultado demonstrou a importância dos hormônios sexuais na excreção das drogas.

Então, mais pesquisas são necessárias para investigar as diferenças comportamentais entre fêmeas LEW e SHR, analisando a influência de ciclo estral, hormônios sexuais e a variação de comportamento em diferentes testes empregados nos experimentos.

Os resultados obtidos através dos estudos que avaliaram o consumo de álcool foram contrastantes, possivelmente pela administração forçada, e em maior concentração, realizada por Chiavegatto et al (2008). Silvia et al. (2004) e Silvia et al. (2005) não utilizaram a administração forçada em nenhum de seus estudos. Acredita-se que o tempo de uso do álcool não influenciou nos resultados, Silvia et al. (2004) e Silvia et al. (2005) utilizaram 8 e 16 dias respectivamente, os resultados não diferiram entre os estudos. O estudo de Chiavegatto et al. (2008) os pesquisadores avaliaram

o comportamento ansioso através dos testes de campo aberto, labirinto em cruz elevado, caixa preto e branco e consumo de álcool. O álcool era disponibilizado em concentração de 2%, 4%, 6% e 10% durante 8 dias, 2 dias para cada concentração, e durante 2 dias o álcool foi administrado de forma forçada na concentração de 10%. Foi avaliado que a linhagem LEW apresentou comportamento semelhante à ansiedade, ou seja, menor exploração aos braços abertos, à região branca da caixa, ao centro do campo aberto e pelo que os pesquisadores consideram em texto como característica ansiosa, o maior consumo do álcool. LEW machos consumiram mais álcool nas concentrações de 6 e 10%, nas demais concentrações o consumo foi semelhante com a linhagem SHR. Foi observado que ratos LEW apresentam aumento da expressão de proteínas e mRNA de alfa-sinucleína e diminuição da atividade dopaminérgica quando comparados com SHR.

Os estudos realizados por Silva et al. (2004) e Silva et al. (2005) demonstraram que ratos SHR consumiram significativamente mais etanol que LEW. No estudo de Silva et al. (2004) as concentrações utilizadas foram de 2 a 4% durante 8 dias, o conteúdo foi disponibilizado para ingestão voluntária demonstrou que além do consumo maior de etanol por SHR as fêmeas, independente da linhagem consumiram mais álcool que machos. Silva et al. (2005) disponibilizou as concentrações de 2, 4, 6 e 8% durante 16 dias, quatro dias para cada concentração. Os estudos realizados em machos foram contrários em seus resultados, já o estudo com fêmeas pode ser observado que tanto LEW quanto SHR fêmeas ingeriram mais álcool.

Esse resultado reforça a necessidade de novos estudos com fêmeas LEW e SHR na avaliação do sistema gabaérgico e sistema glutamatérgico, visto como neurotransmissores responsáveis pelo desenvolvimento da dependência do álcool e com provável influência na diferença comportamental entre LEW e SHR.

Considerando que os antagonistas dos receptores NK1 tem ação ansiolítica e antidepressiva o estudo de Vendruscolo (2003) avaliou os efeitos do NKP608, considerado um potente receptor e antagonista seletivo da neuroquinina-1 (NK-1) que produz efeitos ansiolíticos em ratos. Seus efeitos foram avaliados em ratos machos e fêmeas LEW e SHR através dos testes de labirinto em cruz elevado e campo aberto. No teste de campo aberto somente ratos machos SHR apresentaram efeitos ansiolíticos com ambos os fármacos e doses. Ratos LEW machos, LEW e SHR fêmeas não apresentaram nenhum efeito ao tratamento. No teste de labirinto em cruz elevado ratos LEW machos apresentaram efeito ansiolítico na dose de 0,3 mg/kg,

fêmeas SHR apresentaram um aumento no tempo gasto nos braços abertos, considerando esse efeito fraco e dependente do genótipo. Como já discutido anteriormente sabe-se que LEW apresenta um comportamento ansioso mais exacerbado quando comparado a SHR. Considerando que fêmeas SHR já apresente um efeito menos ansioso acredita-se que o fármaco não tenha apresentado o efeito ansiolítico esperado, porém, a droga também não apresentou efeito em LEW de ambos os sexos, sugerindo então que uma possível influência ambiental relacionada a receptores NK1 esteja relacionada a diferença comportamental da linhagem.

Um estudo avaliou a resposta neuroendócrina em ratos LEW e SHR machos e fêmeas submetidos à administração de cocaína. Os ratos receberam uma dose de 10 mg/kg de cocaína e submetidos ao teste da gaiola de atividade. Ratos SHR machos apresentaram uma sensibilidade maior a cocaína e ratos LEW machos e fêmeas apresentaram níveis aumentados de corticosterona. Visto que a cocaína tende a aumentar a liberação e prolongar o tempo de atuação dos neurotransmissores dopamina, observamos uma menor sensibilidade em machos LEW (VENDRUSCOLO et al., 2008).

Evidências indicam a influência de fatores ambientais relacionados a exercício físico na diminuição do comportamento ansioso. Um estudo submetendo ratos machos LEW e SHR ao exercício físico forçado mostrou uma redução no comportamento ansioso de ambas as linhagens, o exercício físico voluntário diminuiu o comportamento ansioso apenas em SHR. Pode ser observado que ratos LEW apresentam menor disposição ao exercício físico voluntário observando mais uma vez um comportamento contrastante entre as linhagens. Sabe-se que o exercício físico voluntário em rodas melhora a aprendizagem, neurogênese do hipocampo nos roedores, é possível observar também diferenciação das regiões cerebrais como hipotálamo lateral, córtex sensorial, núcleo accumbens e putâmen, todas associadas a motivação. O isolamento social diminuiu a locomoção em ambas as linhagens no teste de campo aberto (RHODES e GARLAND, 2003; VAN PRAAG et al., 2005; MERKLEY et al., 2014; MAZUR et al. 2017)

Pesquisadores acreditam que a interação entre cérebro e intestino ocorre através de via neural, imunológica e hormonal. Essa interação desempenha um papel de grande importância na regulação fisiológica do intestino. A exposição ao estresse em fase neonatal, como a separação dos filhotes de suas mães, pode causar prejuízos durante a vida do animal. A hiperatividade anormal no sistema de sinalização do

hipotálamo-hipófise-adrenal e hormônio liberador de corticotropina predispondo os ratos à hipersensibilidade visceral, aumento da defecação, aumento da penetração de bactérias na lâmina própria e aumento dos níveis de ansiedade são observados em animais que passaram por eventos precoces estressantes no período neonatal (OMRAN, AZIZ 2014)

O estudo realizado por O'Malley et al. (2013) examinou a susceptibilidade inata a inflamação e sensibilidade ao estresse e sua associação com a disfunção intestinal em ratos machos. Nesse estudo foi apresentado LEW como uma linhagem de mais hipersensibilidade intestinal visceral. A linhagem LEW foi comparada com outras 3 linhagens, inclusive SHR, no estudo pode ser observado que a disfunção gastrointestinal fisiológica e morfológica era mais evidente na linhagem LEW, já descrita anteriormente como sendo a linhagem que mais apresentava comportamento ansioso. A linhagem SHR apresentou algumas alterações morfológicas na mucosa e na função absorptiva do sistema gastrointestinal.

É compreensível que a microbiota apresenta uma influência significativa na saúde de seu hospedeiro, modulando o comportamento e humor. Observando a linhagem LEW já descrita como a mais ansiosa, a hipersensibilidade intestinal pode responder de certa forma ao comportamento ansioso que a linhagem apresenta, levando em consideração a ação do sistema nervoso entérico sobre o sistema nervoso central.

## 8) CONCLUSÕES

Essa revisão metodológica encontrou diversos fatores ambientais e genéticos que influenciam no comportamento ansioso de ratos LEW e SHR. Podemos constatar através dos artigos científicos selecionados para a revisão metodológica que as linhagens LEW e SHR apresentam respostas contrastantes quando avaliados os fatores ambientais estudados, diversas drogas que influenciam o comportamento com provável diferença dos sistemas gabaérgico e dopaminérgicos entre as linhagens. Diferenças na morfologia visceral, pré-disposição ao exercício físico e sistema neuroendócrino são significativas quando concluímos os fatores ambientais encontrados. A maior parte dos fatores genéticos e ambientais influencia o comportamento entre linhagens de uma maneira sexo-dependente. Serão necessários mais estudos para realmente esclarecer a interação dos fatores genéticos com os sexuais na modulação do comportamento.

Assim, concluímos que os sistemas gabaérgico e dopaminérgicos são os fatores genéticos provavelmente responsáveis pela diferença comportamental de LEW e SHR, bem como a possível ação do gene TACR1 no comportamento ansioso. É possível concluir que a ação da revisão metodológica foi de grande valia para a realização desse trabalho, por meio desse foi possível obter dados de diversos estudos e propor estratégias de pesquisas para elucidação das diferenças comportamentais entre as linhagens LEW e SHR.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDREW, G.; BASU, A.; CUIJPERS, P.; CRASKE, M.G.; McEVOY, P.; English, C. L.; Newby, J. M. **Computer therapy for the anxiety and depression disorders is effective, acceptable and practical health care: An updated meta-analysis.** *Journal of Anxiety Disorders*, vol. 55, 70-78, 2018
- ANSEMI, M.; CORREA, F. J.; SANTOS, J. R.; SILVA, A. F.; CUNHA, J. A.; LEÃO, A. H. F.; CAMPÊLO, C. L. C.; RIBEIRO, A. M.; SILVA, R. H.; IZÍDIO, G. S. **Genetic evidence for chromosome 4 loci influencing learning and memory.** *Neurobiology of Learning and Memory*, v. 131, p. 182–191, 2016.
- ARCHER, J. **Tests for emotionality in rats and mice: A review.** *Animal Behaviour*, vol. 21, pag. 205-235, 1973.
- ARMARIO, A.; GAVALDA, A.; MARTÍ, J. **Comparasion of the behavioural and endocrine response to forced swimming stress in five inbred strains of rats.** *Psychoneuroendocrinology*, v.20, 879-890, 1995.
- AVSAROGLU, H.; SAR, A. S.; LITH, H. A.; ZUTPHEN, L. F. M.; HELLEBREKERS, L. J. **Differences in response to anaesthetics and analgesics between inbred rat strains.** *Laboratory Animals Uthecht University*, v. 41, 337-344, 2007.
- BERTON, O.; AGUERRE, S.; SARRIEAU, A.; MORMEDE, P.; CHAOULOFF, F. **Differential effects of social stress on central serotonergic activity and emotional reactivity in Lewis and Spontaneously Hypertensive Rats.** *Neuroscience*, vol. 82, 147-159, 1998.
- Brodie, B. B. **Pathways of drug metabolism.** *J. Pharm. Pharmacol.* 8, 1-17. 1956.
- BRUSKE, G. R.; VENDRUSCOLO, L. F.; RAMOS, A. **Two inbred rat strains contrasting for anxiety-related behaviors show similar levels of defensive responses to cat odor.** *Behavioral and Brain Functions*, 2007.
- CANNON, W. **Organization for Physiological Homeostasis.** *Physiological Rewies*, vol. 4, 1929.
- CHAOULOFF, F.; BERTON, O.; AQUERRE, S.; HAY, M.; MORMEDE, P. **Effects of food deprivation on midbrain 5-HT<sub>1A</sub> autoreceptors in Lewis and SHR rats.** *Neuropharmacology*, vol. 36, 1997.
- CHIAVEGATTO, S.; IZIDIO, G. S.; LANA-MENDES, A.; ANEAS, I.; TORRÃO, A. S.; CONCEIÇÃO, I. M.; BRITTO, L. R. G.; RAMOS, A. **Expression of alfa-synuclein is increased in the hippocampus of rats with high levels of innate anxiety.** *Molecular Psychiatry Nature*, v. 14, 2009.
- CHANDLES, J.; HIGGINS, J. P. T.; DEEKS, J. J.; DAVENPORT, C.; CLARKE, M. J.; Introduction. In: Higgins JPT, Churchill R, Chandler J, Cumpston MS (editors), **Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions version 5.2.0**

(updated June 2017), Cochrane, 2017. Available from [www.training.cochrane.org/handbook](http://www.training.cochrane.org/handbook)

DUCLOS, M.; MARTIN, C.; MALGAT, M.; MAZAT, J. P.; CHAOULOFF, F.; MORMEDE, P.; LETELLIER, T. **Relationships between muscle mitochondrial metabolism and stress-induced corticosterone variations in rats.** Eur J, Physiol. 443, 2001.

ELLENBROEK, B.; YOUN, J. **Rodent models in neuroscience research: is it a rat race?** Disease Models & Mechanisms, 9, 1079-1087, 2016.

FEBO, M. **Technical and conceptual considerations for performing and interpreting functional MRI studies in awake rats.** Front. Psychiatry 2, 2011.

FOLEA, A.; MIGUÉNSB, M.; MORALES, L.; GONZÁLEZ-MARTÍNA, C.; AMBROSIO, E.; OLMOA, N. D. **Lewis and Fischer 344 rats as a model for genetic differences in spatial learning and memory: cocaine effects.** Send to Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry., 2;76:49-57, 2017.

GALVÃO, T. F.; PEREIRA, M. G. **Revisões sistemáticas da literatura: passos para sua elaboração.** Epidemiologia Serv. Saúde, 2014.

GAUFFRE, J. C.; AGUERRE, S.; MORMEDE, P.; CHAOULOFF, F. **Cortical (3H) ketanserin binding and 5-HT<sub>2A</sub> receptor-mediated inositol phosphate production in the Spontaneously Hypertensive rat and Lewis rat strains.** Neuroscience Letters, vol.236, 1997.

GEORGE, D. T.; GILMAR, J.; HERSH, J.; THORSELL, A.; HERION, D.; GEYER, C.; PENG, X.; KIELBASA, W.; RAWLINGS, R.; BRANDT, R.; GEHLERT, D. R.; TAUSCHER, J. T.; HUNT, S. P.; HOMMER, D.; HEILIG, M. R. **Neurokinin 1 receptor antagonism as a possible therapy for alcoholism.** 1536– 1539, 2008.

GIBBS, R. A.; WEINSTOCK, G. M.; METZKER, M. L.; MUZNY, D. M.; SODERGREN, E. J.; SCHERER, S.; SCOTT, G.; STEFFEN, D.; WORLEY, K. C.; BURCH, P. E.; et al. **Genome sequence of the Brown Norway rat yields insights into mammalian evolution.** Nature, vol. 428, 493-521, 2004

GOMEZ, F.; LAHMAME, A.; KLOET, E. R.; ARMARIO, A. **Hypothalamic-Pituitary-Adrenal Response to Chronic Stress in Five Inbred Rat Strains: Differential Responses Are Mainly Located at the Adrenocortical Level.** Corticotropin and Adrenal Steroids, Neuroendocrinology, vol. 63, 1996.

GRANZOTTO, N.; ARAÚJO, J. F. P.; CARVALHO, D. M. A.; IZÍDIO, G. S. **A importância histórica dos ratos no avanço da compreensão da biologia humana.** In: RUIZ, V. R. R. Comportamento Animal. Ponta Grossa: Atena Editora. Pag. 1 – 18, 2019.

GREGORY, L. K.; CHERYL A. M. **Sex-Dependent Metabolism of Xenobiotics.** Drug Metabolism Reviews 30, 441-498; 1998.



GUANILU, T. U.; CECILIA, M.; FERREIRA, R.; BERTOLOZZI, M. R. **Systematic review: general notions.** Rev. esc. enferm. USP, vol.45, n.5, pp.1260-1266 2011.

HARRIS, A. P.; LENNEN, R. J.; MARSHALL, I.; JANSEN, M. A.; PERNET, C. R.; BRYDGES, N. M.; DUGUID, I. C.; HOLMES, M. C. **Imaging learned fear circuitry in awake mice using fMRI.** Eur. J. Neuroscience. 42, 2125-2134, 2011

HEMINGWAY, P.; BRERETON, N. **What is a Systematic Review? Evidence-based medicina**, 2 edição, 2009. Disponível em: < www.whatisseries.co.uk>

HENDLEY, E. D.; ATWATER, D. G.; MYERS, M. M.; WHITEHORN, D. Dissociation of genetic hyperactivity and hypertension in SHR. *Hypertension*, 5, 211-217, 1983.

HLAVACOVA, N.; BAKOS, J.; JEZOVA, D. **Differences in home cage behavior and endocrine parametres in rats of four strains.** Endocrine Regulations, vol.40, 2006.

HODGES, L. M.; WEISSMAN, M. M.; HAGHIHI, F.; COSTA, R.; BRAVO, O.; EVGRAFOV, O.; KNOWLES, J. A.; FYER, A. J.; HAMILTON, S. P. **Association and linkage analysis of candidate genes GRP, GRPR, CRHR1, and TACR1 in panic disorder.** American Journal of Medical Genetics. Vol 150B, 2008.

HOOIJIMANS, C. R.; ROVERS, M. M.; VRIES, R. M.; LEENAARS, M.; RITSKES-HOLTINGA, M.; LANGENDAM, M. W. **SYRCLE's risk of bias tool for animal studies.** BMC Medical Research Methodology. 14-43, 2014.

HURII, Y.; MCTAGGART, I.; KAWAGUCHI, M. **Testing Animal Anxiety in Rats: Effects of Open Arm Ledges and Closed Arm Wall Transparency in Elevated Plus Maze Test.** Journal of Visualized Experiments, vol 136, 2018

IZIDIO, G. S.; LOPES, D. M.; SPRICIGO, L.; RAMOS, A. **Common variations in the pretest environment influence genotypic comparisons in models of anxiety.** Genes, Brain and Behavior, v.4, 2005.

IZIDIO, G.S., OLIVEIRA, L.C., OLIVEIRA, L.F., PEREIRA, E., WEHRMEISTER, T.D. and RAMOS, A. **The Influence of Sex and Estrous Cycle on QTL for Emotionality and Ethanol Consumption.** Mammalian Genome, 22, 329-340, 2011.

JADAD, A. R.; MOORE, R. A.; CARROLL, D.; JENKINSON, C.; REYNOLDS, D. J.; GAVAGHAN, D. J.; MCQUAY, H. J. **Assessing the quality of reports of randomized clinical trials: is blinding necessary? Controlled Clinical Trials**, v.17, 1-12, 1996.

KULIKOV, A.; AGUERRE, S.; BERTON, O.; RAMOS, A.; MORMEDE, P.; CHAOULOFF, F. **Central serotonergic systems in the Spontaneously Hypertensive and Lewis rat strains that differ in the elevated plus-maze test of anxiety.** The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics. V. 28, 1997.

LAHMAME, A.; ARMARIO, A. **Differential responsiveness of inbred strains of rats to antidepressants in the forced swimming test: are Wistar Kyoto rats**

**animal model of subsensitivity to antidepressants.** Psychopharmacology, v.123, 1996.

LAHMAME, A.; GRIGORIADIS, D. E.; SOUZA, E. B.; ARMARIO, A.; **Brain corticotropina-releasing factor immunoreactivity and receptors in five inbred rat strains: relationship to forced swimming behaviour.** Brain Research, 1997.

LAZARUS, R. S. **FROM PSYCHOLOGICAL STRESS TO THE EMOTIONS: A History of Changing Outlooks.** Rev. Psychol. Vol. 44, 1993.

LAWRENCE, E.; HINKLE, JR. **The Concept of “Stress” in the Biological and Social Sciences.** J. Psychiatry in Medicine. Vol. 5, 1974

MARTI, J.; ARMARIO, A. **Forced swimming behavior is not related to the corticosterone levels achieved in the test: A study with four inbred rat strains.** Physiology & Behavior, v. 59, 1994.

MARTIN, C. L.; DUCLOS, M.; AGUERRE, S.; MORMEDE, P.; MANIER, G.; CHAOULOFF, F. **Corticotropic and serotonergic responses to acute stress with/without prior exercise training in different rat strains.** Acta Physiol Scand, v. 168, 2000.

MARTIN, C.; DUCLOS, M.; MORMEDE, P.; MANIER, G.; CHAOULOFF, F. **Hippocampal and striatal (3H)5-HT reuptake under acute stressors in two rat strains differing for their emotivity.** Neuroscience Letters, v.288, 2000.

MAZUR, F. G.; OLIVEIRA, L. F. G.; CUNHA, M. P.; RODRIGUES, A. L. S.; PERTILE, R. A. N.; VENDRUSCOLO, L. F.; IZÍDIO, G. S. **Effects of physical exercise and social isolation on anxiety-related behaviors in two inbred rat strains.** Behavioural Processes, 2017.

MEDEIROS, G. F.; PEREIRA, E.; GRANZOTTO, N.; RAMOS, A. **Low-anxiety rat phenotypes can be further reduced through genetic intervention.** Plos One, vol. 8, 2013.

MERKLEY, C. M.; JIAN, C.; MOSA, A.; TAN, Y. F.; WOJTOWICZ. **Homeostatic regulation of adult hippocampal neurogenesis in aging rats: long-term effects of early exercise.** Front Neuroscience, 8. 174, 2014.

MOHER, D. et al. **Preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses: the PRISMA statement.** Epidemiol. Serv. Saúde, Brasília, v. 24, 355 – 342, 2015.

NEMEROFF, C. B.; OWENS, M. J.; BISSETTE, G.; ANDORN, A. C.; STANDLEY, M. **Reduced corticotropin-releasing factor binding sites in the frontal cortex of suicide victims.** Arch. Gen. Psychiatry, 45 1988.

O'MALLEY, D.; PIEPER, M. J.; O'MAHONY, S. M.; DINAN, T. G.; CRYAN, J. F. **Differential visceral pain sensitivity and colonic morphology in four common laboratory rat strains.** *Experimental Physiology*, vol.99.2, 2014.

OMRAN, Y. A.; AZIZ, Q. **Microbial Endocrinology: The Brain-Gut Axis in Health and Disease.** In: *Health and Disease, Advances in Experimental Medicine and Biology.* Springer New York, 2014.

PELLOW, S.; CHOPIN, P.; FILE, S. E.; BRILEY, M. **Validation of open" closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat.** *Journal of Neuroscience Methods*, 14, 149-167, 1985

POLLIER, F.; SARRE, S.; AGUERRE, S.; EBINGER, G.; MORMEDE, P.; MICHOTTE, Y.; CHAOULOFF, F. **Serotonin reuptake inhibition by citalopram in rat strains differing for their emotionality.** *Neuropsychopharmacology*, v.22, 2000.

RAMOS, A.; BERTON, O.; MORMEDE, P.; CHAOULOFF, F. **A multiple-test study of anxiety-related behaviours in six inbred rat strains.** *Behavioural Brain Research*, v. 85, n. 1, p. 57-69. 1997.

RAMOS, A.; MORMEDE, P. **Stress and emotionality A multidimensional and genetic approach.** *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 22, 33-57, 1998

RAMOS, A.; MELLERIN, Y.; MORMEDE, P.; CHAOULOFF, F. **A genetic and multifactorial analysis of anxiety-related behaviours in Lewis and SHR intercrosses.** *Behavioural Brain Research*, vol.96, 1998.

RAMOS, A. MOISAN, M. P.; CHAOULOFF, F.; MORMEDE, C.; MORMEDE P. **Identification of female-specific QTLs affecting an emotionality-related behavior in rats.** *Molecular Psychiatry*, v. 4, 1999.

RAMOS, A., KANGERSKI, A. L., BASSO, P. F., SANTOS, J. E. S., ASSREUY, J., VENDRUSCOLO, F. L., TAKAHASHI, R. N. **Evaluation of Lewis and SHR rat strains as a genetic model for the study of anxiety and pain.** *Behavioral Brain Research*, 113 – 123, 2002.

RAMOS, A.; PEREIRA, E.; MARTINS, G. C.; WEHRMEISTER, T. D.; IZÍDIO, G. S. **Integrating the open field, elevated plus maze and light/dark box to assess different types of emotional behaviors in one single trial.** *Behavioural Brain Research*, v. 193, 2008

RHODES, J. S.; GARLAND, T.; GAMMIE, S. C. ). **Patterns of brain activity associated with variation in voluntary wheel-running behavior.** *Behav Neuroscience*, 117. 1243-1256, 2003.

SAMPAIO, R. F.; MANCINI, M.V. **Estudos de Revisão Sistemática: Um Guia para Síntese Criteriosa da Evidência Científica.** *Revista Brasileira de Fisioterapia*, vol. 11, 83-89, 2007

SEIBENHENER, M.; WOOTENS, C. M. **Use of the Open Field Maze to Measure Locomotor and Anxiety-like Behavior in Mice.** Journal of Visualized Experiments, vol. 96, 2015.

SHARP, A. I.; McQUILLIN, A.; MARKS, M.; HUNT, S. P.; SANTAFORD, S. C.; LYDALL, G. J.; MORGAN, M. Y. **Genetic association of the tachykinin receptor 1 *TACR1* gene in bipolar disorder, attention deficit hyperactivity disorder, and the alcohol dependence syndrome.** American Journal of Medical Genetics: Neuropsychiatric Genetics. Vol. 165, 2014.

SILVA, G. E.; RAMOS, A.; TAKAHASHI, R. N. **Comparison of voluntary ethanol intake by two pairs of rat lines used as genetic models of anxiety.** Brazilian Journal of Medical and Biological Research, vol. 37, 2004.

SILVA, G. R.; VENDRUSCOLO, L. F.; TAKAHASHI, R. N. **Effects of ethanol on locomotor and anxiety-like behaviors and the acquisition of ethanol intake in Lewis and Spontaneously Hypertensive rats.** Life Sciences, vol. 77, 2005.

SNYDER, J. S.; CHOE, J. S.; CLIFFORD, M. A.; JEURLING, S. I.; HURLEY, P.; BROWN, A.; KAMHI, J.; CAMERON, H. A. **Adult-born hippocampal neurons are more numerous, faster maturing, and more involved in behavior in rats than in mice.** J. Neuroscience, 29, 14484-14495, 2009.

TAKAHASHI, R. N.; BERTON, O.; MORMEDE, P.; CHAOULOFF, F. **Strain-dependent effects of diazepam and the 5-HT<sub>2B/2C</sub> receptor antagonist SB 206553 in Spontaneously Hypertensive and Lewis rats tested in the elevated plus-maze.** Brazilian Journal of Medical and Biological Research, vol. 34, 2001.

TECOTT, L. H. **The Genes and Brains of Mice and Men.** The American Journal of Psychiatry, 160, 646-656, 2003

TEIXEIRA, R. M.; SANTOS, A. R.; RIBEIRO, S. J.; CALIXTO, J. B.; ERA, G. A.; LIMA, T. C. **Effects of central administration of tachykinin receptor agonists and antagonists on plus-maze behavior in mice.** European Journal of Pharmacology. Vol. 311. Pag. 7 – 14, 1996.

VAN PRAAG, H.; SHUBERT, T.; ZHAO, C.; GAGE, F. H. **Exercise enhances learning and hippocampal neurogenesis in aged mice.** J. Neuroscience. 21, 8680-5, 2005.

VENDRUSCOLO, L. F.; TAKAHASHI, R. N.; BRUSKE, G.; RAMOS, A. **Evaluation of the anxiolytic-like effect of NKP608, a NK1-receptor antagonist, in two rat strains that differ in anxiety-related behaviors.** Psychopharmacology, vol. 170, 2003.

VENDRUSCOLO, L. F.; PAMPLONA, F. A.; TAKAHASHI, R. N. **Strain and sex differences in the expression of nociceptive behavior and stress-induced analgesia in rats.** Brain Research, v. 1030, 2004.

VENDRUSCOLO, L. F.; VENDRUSCOLO, J. C. M.; RIGALDIE, E. T.; RABA, F.; RAMOS, A.; TAKAHASHI, R. N.; MORMEDE, P. **Genetic influences on behavioral and neuroendocrine responses to predator-odor stress in rats.** *Neuroscience Letter*, vol. 409. 2006.

VENDRUSCOLO, L. F.; VENDRUSCOLO, J. C. M.; RIGALDIE, E. T.; RABA, F.; RAMOS, A.; TAKAHASHI, R. N.; MORMEDE, P. **A QTL on rat chromosome 7 modulates prepulse inhibition, a neuro-behavioral trait of ADHD, in a Lewis x SHR intercross.** *Behavioral and Brain Functions*. 2006<sup>1</sup>

VENDRUSCOLO, L. F.; VENDRUSCOLO, J. C. M.; TERENINA, E.; RAMOS, A.; TAKAHASHI, R. N.; MORMEDE, P. **Marker-assisted dissection of genetic influences on motor and neuroendocrine sensitization to cocaine in rats.** *Genes, Brain and Behavior*. Vol. 8, 2008.

VRIES, R. B. M.; WEVER, K. E.; AVEY, M. T.; STEPHENS, M. L.; SENA, E. S.; LEENAARS, M. **The Usefulness of Systematic Reviews of Animal Experiments for the Design of Preclinical and Clinical Studies.** *ILAR Journal*, v. 55, n. 3, 2014.

WATERSTON, R. H.; LINDBLAD-TOH, K.; BIRNEY, E.; ROGERS, J.; ABRIL, J.F.; AHARWAL, P.; AGARWALA, R.; AINSCOUGH, R.; ALEXANDERSSON, M. **Initial sequencing and comparative analysis of the mouse genome.** *Nature*, 420, 520–562, 2002.

ZAN, Y.; HAAG, J. D.; CHEN, K.-S.; SHEPEL, L. A.; WIGINGTON, D.; WANG, Y.-R.; HU R.; LOPEZ-GUAJARDO, C. C.; BROSE, H. L.; PORTER, K. I.; et al. **Production of knockout rats using ENU mutagenesis and a yeast-based screening assay.** *Nat. Biotechnol.* 21, 645-651, 2003.