



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CURSO DE GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

**Jamilli Pereira dos Santos Nogueira**

**EFEITOS DA ADMINISTRAÇÃO INTRANASAL DO FATOR  
NEUROTRÓFICO DE DOPAMINA CEREBRAL (CDNF) SOBRE A ATIVIDADE  
LOCOMOTORA E O COMPORTAMENTO TIPO ANSIOSO EM UM MODELO  
ANIMAL DO TRANSTORNO DE DÉFICIT DE ATENÇÃO E HIPERATIVIDADE  
(TDAH)**

Florianópolis – SC  
2024

**Jamilli Pereira dos Santos Nogueira**

**EFEITOS DA ADMINISTRAÇÃO INTRANASAL DO FATOR  
NEUROTRÓFICO DE DOPAMINA CEREBRAL (CDNF) SOBRE A ATIVIDADE  
LOCOMOTORA E O COMPORTAMENTO TIPO ANSIOSO EM UM MODELO  
ANIMAL DO TRANSTORNO DE DÉFICIT DE ATENÇÃO E HIPERATIVIDADE  
(TDAH)**

Trabalho de Conclusão de Curso submetido ao  
curso de Ciências Biológicas do Centro de Ciências  
Biológicas da Universidade Federal de Santa  
Catarina como requisito parcial para a obtenção do  
título de Licenciada em Ciências Biológicas.  
Orientadora: Me. Bruna Kelly Santos de Souza  
Coorientador: Prof. Dr. Rui Daniel Prediger

Florianópolis - SC  
2024

Ficha catalográfica gerada por meio de sistema automatizado gerenciado pela BU/UFSC.  
Dados inseridos pelo próprio autor.

Nogueira, Jamilli Pereira dos Santos

Efeitos da administração intranasal do fator neurotrófico de dopamina cerebral (CDNF) sobre a atividade locomotora e o comportamento tipo ansioso em um modelo animal do transtorno do déficit de atenção e hiperatividade (TDAH) / Jamilli Pereira dos Santos Nogueira ; orientador, Bruna Kelly Santos de Souza, coorientador, Rui Daniel Schroder Prediger, 2024.  
48 p.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Biológicas, Graduação em Ciências Biológicas, Florianópolis, 2024.

Inclui referências.

1. Ciências Biológicas. 2. TDAH. 3. CDNF. 4. comportamento. 5. intranasal. I. Souza, Bruna Kelly Santos de. II. Prediger, Rui Daniel Schroder. III. Universidade Federal de Santa Catarina. Graduação em Ciências Biológicas. IV. Título.

Jamilli Pereira dos Santos Nogueira

Efeitos da administração intranasal do fator neurotrófico de dopamina cerebral (CDNF) sobre a atividade locomotora e o comportamento tipo ansioso em um modelo animal do transtorno de déficit de atenção e hiperatividade (TDAH)

Este Trabalho de Conclusão de Curso foi julgado adequado para obtenção do título de Licencianda em Biologia e aprovado em sua forma final pelo Curso Ciências Biológicas

Florianópolis, 12 de dezembro de 2024

---

Coordenação do Curso

**Banca examinadora**

---

Me. Bruna Kelly Santos de Souza  
Orientadora

---

Profª. Drª Luisa Mota  
Universidade Federal de Santa Catarina

---

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

Florianópolis, 2024.

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente gostaria de agradecer ao Professor Rui, por me aceitar como integrante do LEXDON e por ter me concedido a oportunidade de fazer essa iniciação científica. Além disso, obrigada pela coorientação e por toda empatia durante o desenvolvimento desse TCC.

A minha orientadora, Bruna, obrigada por ter me permitido acompanhar seu projeto, por toda a ajuda e paciência, principalmente nos momentos mais difíceis. Obrigada por me entender, me amparar, me ensinar boa parte do que sei hoje e pela amizade incrível que construímos ao longo desse período. Serei eternamente grata.

Agradeço a minha mãe, Paulina, que sempre apoiou minhas escolhas, mesmo não concordando com elas. Sou imensamente grata por todos os sacrifícios que a senhora fez ao longo de toda a minha vida para que sempre pudesse me oferecer o que havia de melhor, sem todo o seu todo apoio e dedicação nada disso seria possível.

Aos meus amigos Gabriel, Helena, Lucas, Manuela, Mariele e Marianna obrigada por terem tornado meus dias mais leves, vocês são responsáveis pelas melhores lembranças que levarei da graduação, vocês são a razão para eu não ter desistido, mesmo nos momentos mais difíceis. Preciso fazer dois agradecimentos especiais, primeiramente à Mariele que desde o começo da graduação sempre dividiu comigo os medos, preocupações, felicidades, que foi minha parceira de estágio e de tantos outros trabalhos, uma das melhores pessoas que tive o prazer de conhecer ao longo desse caminho. E ao Gabriel, obrigada por ter sempre confiado mais em mim do que eu mesmo fui capaz, por todas as conversas sem fim, por estar comigo nos piores momentos dos últimos 2 anos, obrigada por escolher me amar todos os dias.

Agradeço ao meu namorado, Nicolas, pelo amor, suporte, compreensão, abraços, pelas videochamadas para driblar os quase 600km que nos mantém longe um do outro, por me mimar com muitas comidinhas, por toda a paciência durante os meus surtos com o TCC. Obrigada por ter além de ser meu namorado, ter sido meu amigo nesses 5 anos.

Quero agradecer a mim mesma. Por ter a coragem de seguir meus sonhos, por perseverar diante dos obstáculos e por nunca desistir. Acreditar em mim mesma foi o primeiro passo para chegar até aqui ao lado de pessoas tão incríveis.

Não poderia deixar de agradecer ao subprojeto miolhe e PET-Biologia, pelo acolhimento, por todas as experiências e aprendizados. Entrar na Miolhe com certeza foi uma das melhores coisas que já me aconteceu academicamente e pessoalmente.

Por fim, agradeço ao CNPq e ao MEC pelo apoio financeiro. E a Prae pelos programas

de permanência que foram extremamente necessários nessa trajetória.

“A gente passa a vida pelejando com o dilema de existir ou desistir, com o que é bom e o que é ruim, o certo e o errado, a morte e a vida. Essas coisas não se separam. O lugar que dói é o mesmo que sente arrepios. É no corpo, no amor e na liberdade de escolher as coisas que a gente fica inteiro ou despedaçado. Então, pede para a parte boa dar conta da parte ruim.” (Madeira, 2014, p.138)

## RESUMO

O transtorno de déficit de atenção e hiperatividade (TDAH) é um transtorno do neurodesenvolvimento que envolve uma origem etiológica multifatorial e apresenta um diagnóstico comportamental baseado na presença do desenvolvimento inapropriado dos níveis de impulsividade, hiperatividade e desatenção. O TDAH está frequentemente associado a comorbidades, incluindo o transtorno de ansiedade. Por se tratar de um transtorno do neurodesenvolvimento, componentes envolvidos no desenvolvimento e crescimento neuronal são candidatos importantes para entender a fisiopatologia e são potenciais alvos terapêuticos, assim destaca-se o papel dos fatores neurotróficos (FNTs) na neurobiologia do TDAH. O objetivo do presente estudo foi avaliar se a administração intranasal do fator neurotrófico de dopamina cerebral (CDNF) modula a atividade motora e o comportamento do tipo ansioso observados em um modelo animal do TDAH. Para isto, foram utilizados ratos machos e fêmeas das linhagens SHR (do inglês, *Spontaneously Hypertensive Rat*), Wistar Kyoto (WKY) e SLA16 (SHR.Lewis/Anxrr16). O tratamento consistiu na administração intranasal (i.n.) de 100 µg de CDFN. Os animais do grupo controle receberam solução salina (NaCl 0,9%). Vinte e quatro horas após o desmame os grupos foram divididos e cinco dias depois (DPN 33) os animais receberam os tratamentos. Quatro semanas depois, os animais foram submetidos ao teste de campo aberto (CA) e labirinto em cruz elevado (LCE) para avaliação da atividade locomotora e do comportamento relacionado à ansiedade. O estudo avaliou atividade locomotora e perfil ansioso em linhagens de ratos (SHR, SLA16 e WKY). No campo aberto, ratos das linhagens SHR e SLA16 defecaram menos e se locomoveram mais do que os animais da linhagem WKY, com as fêmeas apresentando maior atividade do que os machos. No labirinto em cruz elevado, o CDFN não afetou os comportamentos relacionados à ansiedade em ratos SHR e SLA16, mas teve efeito ansiolítico em fêmeas WKY, ansiogênico em machos WKY e aumentou a exploração em fêmeas SLA16, indicando seu papel na modulação comportamental. Os resultados do presente estudo mostram que a administração intranasal do CDFN não modula os comportamentos relacionados a locomoção e emocionalidade vistas nos animais SHR e SLA16.

**Palavras-chave:** TDAH; CDFN; ansiedade; administração intranasal



## ABSTRACT

Attention Deficit Hyperactivity Disorder (ADHD) is a neurodevelopmental disorder with a multifactorial etiological origin and a behavioral diagnosis based on inappropriate levels of impulsivity, hyperactivity, and inattention during development. ADHD is often associated with comorbidities, including anxiety disorders. Being a neurodevelopmental disorder, components involved in neuronal development and growth are important candidates for understanding its pathophysiology and serve as potential therapeutic targets, highlighting the role of neurotrophic factors (NTFs) in the neurobiology of ADHD. The aim of the present study was to evaluate whether the intranasal administration of cerebral dopamine neurotrophic factor (CDNF) modulates motor activity and anxiety-like behavior observed in an animal model of ADHD. To this end, male and female rats from the SHR (Spontaneously Hypertensive Rat), Wistar Kyoto (WKY), and SLA16 (SHR.Lewis/Anxrr16) strains were used. The treatment consisted of the intranasal (i.n.) administration of 100 µg of CDNF. The control group received saline solution (0.9% NaCl). Twenty-four hours after weaning, the groups were divided, and five days later (postnatal day 33), the animals received their respective treatments. Four weeks later, the animals underwent the open field test (OFT) and the elevated plus maze (EPM) to assess locomotor activity and anxiety-related behaviors. The study evaluated locomotor activity and anxiety profiles in rat strains (SHR, SLA16, and WKY). In the open field test, SHR and SLA16 rats defecated less and moved more than WKY rats, with females exhibiting greater activity than males. In the elevated plus maze, CDNF did not affect anxiety-related behaviors in SHR and SLA16 rats but had an anxiolytic effect in WKY females, an anxiogenic effect in WKY males, and increased exploration in SLA16 females, indicating its role in behavioral modulation. The results of the present study show that intranasal administration of CDNF does not modulate the locomotion and emotional behaviors observed in SHR and SLA16 animals.

**Keywords:** ADHD; CDNF; Anxiety; Intranasal administration.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Figura 1: Síntese e liberação de dopamina.....</b>	<b>21</b>
<b>Figura 2: Principais vias dopaminérgicas do Sistema Nervoso Central .....</b>	<b>22</b>
<b>Figura 3: Desenho experimental .....</b>	<b>28</b>
<b>Figura 4: Resultados teste do campo aberto .....</b>	<b>33</b>
<b>Figura 5: Resultados teste do labirinto em cruz elevado .....</b>	<b>35</b>

**LISTA DE QUADROS**

**Quadro 1: Critérios de diagnósticos do TDAH ..... 17**

## LISTA DE ABREVIATURAS

6-OHDA - 6-hidroxidopamina  
BDNF - Fator neurotrófico derivado do cérebro  
BHE - Barreira hematoencefálica  
CA - Campo abeto  
CDNF - Fator neurotrófico de dopamina cerebral  
COMT - Catecol-O metiltransferase  
DAT - Transportador de dopamina  
DPN - Dias após o nascimento  
DSM - Manual de diagnóstico e estatístico de transtornos mentais  
ER - Reticulo endoplasmático  
FNTs - Fatores neurotróficos  
GDNF - Fator neurotrófico derivado de linha celular glial  
I.N. - Intranasal  
LCE - Labirinto em cruz elevado  
L-DOPA - Levodopa  
LGC - Laboratório de genética do comportamento  
MANF - Fator neurotrófico derivado de astrócitos mesencefálicos  
MAO-B - Monoamina oxidase B  
MAT - Transportadora de monoaminas  
NAc - Núcleo accumbens  
NGF - Fator de crescimento nervoso  
NT - Neurotrofina  
SHR - Ratos espontaneamente hipertensos (do inglês, *spontaneously hypertensive rat*)  
SLA16 - SHR.Lewis/Anxrr16  
SNC - Sistema nervoso central  
TDAH - Transtorno do déficit de atenção e hiperatividade  
TH - Tirosina hidroxilase  
VMAT - Transportadora vesicular de monoaminas  
VMAT-2 - Transportadora vesicular de monoaminas 2  
WKHA - Wistar Kyoto - hiperativo  
WKY - Wistar kyoto

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>14</b>
1.1. Transtorno do déficit de atenção e hiperatividade.....	14
1.2. Transtorno de ansiedade e TDAH .....	17
1.3. Modelos animais do TDAH.....	18
1.4. Neurobiologia do TDAH e sistema dopaminérgico .....	20
1.5. Fatores neurotrófico e o TDAH.....	23
1.6. Fator neurotrófico de dopamina cerebral (CDNF) .....	24
1.7. Via de administração intranasal.....	26
<b>2. JUSTIFICATIVA E HIPÓTESE .....</b>	<b>26</b>
<b>3. OBJETIVOS .....</b>	<b>27</b>
3.1. Objetivos gerais .....	27
3.2. Objetivos específicos.....	27
<b>4. METODOLOGIA.....</b>	<b>27</b>
4.1. Animais.....	27
4.2. Protocolo experimental.....	27
4.3. Testes comportamentais .....	28
4.3.1. Teste de campo aberto .....	29
4.3.2. Teste do labirinto em cruz elevado.....	29
4.4. Avaliação do bem-estar dos animais .....	30
4.4.1. Avaliação do peso corporal .....	30
4.4.2. Pontos finais humanitários .....	30
<b>5. RESULTADOS .....</b>	<b>31</b>
5.1. Teste de campo aberto .....	31
5.2. Teste do labirinto em cruz elevado.....	33
<b>6. DISCUSSÃO .....</b>	<b>35</b>
<b>7. CONCLUSÃO.....</b>	<b>38</b>
<b>8. REFERÊNCIAS .....</b>	<b>39</b>

## 1. INTRODUÇÃO

### 1.1. Transtorno do déficit de atenção e hiperatividade

Ao longo dos últimos 200 anos diversos autores descreveram crianças com comportamentos relacionados a desatenção, hiperatividade e impulsividade. As caracterizações clínicas, os conceitos subjacentes e a terminologia das disfunções relacionadas mudaram ao longo do tempo, mas muitas dessas descrições são compatíveis com os critérios diagnósticos modernos para o Transtorno de Déficit de Atenção e Hiperatividade (TDAH) (LANGE et al., 2010).

O principal manual usado por psicólogos e psiquiatras para diagnósticos, o Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais (DSM), citou os sintomas condizentes com o TDAH pela primeira vez no DSM-III na década de 1980 e dividia o transtorno em dois tipos: com hiperatividade e sem hiperatividade. Já na década de 1990, a quarta versão do manual trouxe três subtipos do TDAH: um tipo predominantemente desatento, um tipo predominantemente hiperativo-impulsivo e um tipo combinado, com os três sintomas (DSM-IV). Ao longo do tempo mais estudos foram realizados e as características sobre o transtorno foram sendo mais aprofundadas e a versão mais atual do Manual DSM-V-TR (2023) caracteriza o TDAH como:

O TDAH é um transtorno do neurodesenvolvimento definido por níveis prejudicados de desatenção, desorganização e/ou hiperatividade-impulsividade. Desatenção e desorganização acarretam incapacidade de permanecer na tarefa, parecendo não ouvir, e perda de materiais necessários para as tarefas, em níveis inconsistentes com a idade ou nível de desenvolvimento. A hiperatividade-impulsividade envolve hiperatividade, inquietação, incapacidade de permanecer sentado, intromissão nas atividades de outras pessoas e incapacidade de esperar – sintomas excessivos para a idade ou nível de desenvolvimento. Na infância, o TDAH frequentemente se sobrepõe a transtornos que são frequentemente considerados “transtornos externalizantes”, como transtorno desafiador de oposição e transtorno de conduta. O TDAH geralmente persiste na idade adulta, com prejuízos resultantes do funcionamento social, acadêmico e ocupacional. (Manual de Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais – V - TR, 2023, p.132)

Atualmente, o TDAH é o transtorno do neurodesenvolvimento mais comum em crianças em idade escolar, com prevalência de 5,3% e, frequentemente, persiste na adolescência e na idade adulta, onde 2,5% dos adultos ainda apresentam os sintomas (FARAONE et al. 2024). Existem três fatores principais que estão associados à persistência do TDAH desde a infância até a idade adulta: gravidade, tratamento e a comorbidade com outros transtornos psiquiátricos, como transtorno de conduta, transtorno depressivo maior e transtornos de ansiedade (CAYE et al., 2016; FARAONE et al. 2024). Em relação ao gênero, a proporção do TDAH é de 2,4 meninos para 1 menina na população mundial, uma das hipóteses para essa diferença seria que

meninas tentem a ser menos encaminhadas para investigar se tem TDAH pois são principalmente desatentas e dessa forma não perturbam a sala de aula ou irritam os pais (POLANCZYK et al., 2007; FARAONE et al., 2024).

A etiologia do transtorno é multifatorial, ou seja, o TDAH resulta da interação de vários fatores ambientais e genéticos que atuam na manifestação de seus diversos quadros clínicos, apresentando um diagnóstico comportamental baseado na presença do desenvolvimento inapropriado dos níveis de impulsividade, hiperatividade e desatenção (COUTO; MELO-JUNIOR; GOMES 2010; ARNSTEN, 2009). Dentre os fatores ambientais, o estresse, privações nutricionais e consumo de drogas psicotrópicas durante a gestação podem elevar o risco do desenvolvimento do transtorno (COUTO; MELO-JUNIOR; GOMES, 2010). Já os fatores genéticos têm se mostrado importantes nas pesquisas realizadas com gêmeos monozigóticos, dizigóticos e estudos de adoção, as quais constata uma herdabilidade de aproximadamente 80%, semelhante entre os sexos, a infância e a idade adulta (GIDZIELA et al., 2023; POLDERMAN et al., 2015; FARAONE et al., 2024).

Atualmente, ainda não existe um marcador biológico ou um teste laboratorial específico que possa diagnosticar com precisão o TDAH (TRIPP; WICKENS, 2009). Portanto, o seu diagnóstico é realizado predominantemente através de uma minuciosa investigação clínica da história do paciente utilizando-se diversos recursos instrumentais como entrevistas, escalas e testes psicológicos (DONIZETTI, 2022). O diagnóstico deve ser realizado por um médico psiquiatra, pediatra ou outro profissional de saúde (como neurologista e/ou neuropediatra), seguindo os critérios especificados no DSM-V-TR, onde é padronizado por uma lista de dezoito sintomas divididos em grupos de sintomas de desatenção e hiperatividade/impulsividade (Quadro 1) e estabelece a necessidade de pelo menos seis sintomas persistentes por pelo menos seis meses, que devem se manifestar antes dos 12 anos de idade e em mais de um ambiente (escola, trabalho, casa) (DSM-V-TR).

Subtipo	Sintomas
<b>Desatenção</b>	<p>Frequentemente não presta atenção em detalhes ou comete erros por descuido em tarefas escolares, no trabalho ou durante outras atividades.</p> <p>Frequentemente tem dificuldade de manter a atenção em tarefas ou atividades lúdicas.</p> <p>Frequentemente parece não escutar quando alguém lhe dirige a palavra diretamente.</p> <p>Frequentemente não segue instruções até o fim e não consegue terminar trabalhos escolares, tarefas ou deveres no local de trabalho.</p> <p>Frequentemente tem dificuldade para organizar tarefas e atividades.</p> <p>Frequentemente evita, não gosta ou reluta em se envolver em tarefas que exijam esforço mental prolongado.</p> <p>Frequentemente perde coisas necessárias para tarefas ou atividades.</p> <p>Com frequência é facilmente distraído por estímulos externos (para adolescentes mais velhos e adultos, pode incluir pensamentos não relacionados).</p> <p>Com frequência é esquecido em relação a atividades cotidianas.</p>



<b>Hiperatividade /impulsividade</b>	<p>Frequentemente remexe ou batuca as mãos ou os pés ou se contorce na cadeira.</p> <p>Frequentemente se levanta da cadeira em situações em que se espera que permaneça sentado.</p> <p>Frequentemente corre ou sobe nas coisas em situações em que isso é inapropriado. (Nota: Em adolescentes ou adultos, pode se limitar as sensações de inquietude.)</p> <p>Com frequência é incapaz de brincar ou se envolver em atividades de lazer calmamente.</p> <p>Com frequência “não para”, agindo como se estivesse “com o motor ligado”.</p> <p>Frequentemente fala demais.</p> <p>Frequentemente deixa escapar uma resposta antes que a pergunta tenha sido concluída.</p> <p>Frequentemente tem dificuldade para esperar a sua vez.</p> <p>Frequentemente interrompe ou se intromete.</p>
--------------------------------------	-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

**Quadro 1:** Critérios de diagnósticos do TDAH. Adaptado de DSM-V-TR (2023).

### 1.2. Transtorno de ansiedade e TDAH

A ansiedade é uma das comorbidades mais frequentes no TDAH, com prevalência de 25 a 50% dos casos (LEÓN-BARRIERA, 2022). Estudos mostram altas taxas dessa associação em crianças, adolescentes e adultos, sendo que cerca de 47% dos adultos com TDAH também apresentam um transtorno de ansiedade (KESSLER et al., 2006). Indivíduos com TDAH e ansiedade comórbida exibem sintomas mais graves, mais comorbidades psiquiátricas e início

mais precoce do transtorno, em comparação aos pacientes sem ansiedade (REIMHERR et al., 2017; SCHATZ; ROSTAIN, 2006).

A ocorrência de TDAH junto com transtornos de ansiedade é explicada por três hipóteses principais (MILBERGER et al., 1995; WEISS et al., 2011). A primeira sugere que os transtornos são fisiopatologicamente distintos e se sobrepõem por acaso, embora a frequência dessa comorbidade seja considerada alta demais para ser explicada apenas pelo acaso (MILBERGER et al., 1995; WEISS et al., 2011; PLISZKA, 2019). A segunda hipótese propõe mecanismos compartilhados com fatores genéticos e ambientais, como hereditariedade comum, contribuindo para a ocorrência simultânea (WEISS et al., 2011; MICHELINI et al., 2015; THAPAR et al., 2013). Estudos indicam que componentes genéticos podem ser transmitidos de forma independente, mas compartilham algumas semelhanças (WEISS et al., 2011; PERRIN; LAST, 1996; BRAATEN et al., 2003). Já a terceira hipótese sugere que um transtorno pode levar ao desenvolvimento secundário do outro. A ansiedade pode surgir de experiências negativas causadas pelos sintomas do TDAH, ou a desatenção pode ser secundária à ansiedade (TANNOCK, 2000; JARRETT; OLLENDICK, 2008; NIGG et al., 2004).

A relação complexa entre TDAH e ansiedade, em que um pode influenciar o surgimento ou o curso do outro, faz com que os profissionais enfrentem desafios de diagnósticos e terapêuticos com os dois transtornos (KOYUNCU et al., 2022)

### **1.3. Modelos animais do TDAH**

Como a fisiopatologia do transtorno ainda não foi bem elucidada, o uso de modelos animais é uma importante ferramenta para a compreensão mais detalhada de fatores comportamentais e genéticos que exercem influência significativa no TDAH. Diversos modelos animais mimetizam aspectos fundamentais do transtorno e fornecem informações úteis sobre mudanças neuroquímicas que acompanham essas alterações comportamentais (PORTELLA, 2019).

Segundo McKinney e Bunney (1969), para um modelo animal ser validado como ideal, ele deve apresentar semelhanças inerentes ao distúrbio que se quer estudar. Para tanto, ele deve atender aos seguintes critérios: (1) Validade de face, isto é, simular as características comportamentais fundamentais do transtorno; (2) Validade de construto, ou seja, deve estar de acordo com a justificativa teórica para o distúrbio; e (3) Validade preditiva, ou seja, responder ao tratamento medicamentoso utilizado na clínica (WILLNER, 1986; SAGVOLDEN, 2000).

Com base nesses critérios, um dos modelos animais mais apropriados para o estudo do TDAH é a linhagem de ratos espontaneamente hipertensos (SHR, do inglês *Spontaneously Hypertensive Rat*) (RUSSELL.; SAGVOLDEN; JOHANSEN, 2005). São ratos que foram desenvolvidos por meio de cruzamentos seletivos de ratos Wistar Kyoto (WKY) que apresentavam pressão arterial sistólica elevada. Os ratos que desenvolviam hipertensão espontaneamente ao atingirem determinada idade eram novamente selecionados e acasalados entre si a cada geração, ao longo de muitas gerações, até que uma linhagem consistente de ratos hipertensos fosse desenvolvida (OKAMOTO; AOKI, 1963). Vale ressaltar que a hipertensão não é observada em pacientes com TDAH, o que limita a validade desse modelo (DAVIDS et al., 2003; SAGVOLDEN et al., 2005). Portanto, os ratos SHR foram inicialmente criados para estudar a hipertensão. A conexão entre eles e o TDAH surgiu acidentalmente, quando se descobriu que os SHR eram mais ativos em comparação com os ratos WKY normotensos (REGAN et al., 2022). Para separar a hiperatividade da hipertensão, posteriormente foi desenvolvido o rato Wistar Kyoto - hiperativo (WKHA) (OKAMOTO e AOKI, 1963), embora ele não tenha sido amplamente utilizado.

Os ratos SHR são considerados os mais apropriados para o estudo do TDAH pois essa linhagem apresenta algumas características relacionadas ao transtorno, como uma hipofunção dopaminérgica (RUSSELL et al., 1998). A neuropatologia causadora dessa hipofunção nos SHR seria decorrente do armazenamento vesicular precário da dopamina no córtex pré-frontal e núcleo accumbens (NAc) (RUSSELL et al., 1998), da expressão aumentada dos receptores D1 e D5 no estriado e NAc (CAREY et al., 1998) e, também, da alta expressão do transportador de dopamina (DAT) e do receptor D2 (RUSSELL et al., 1998; 2000).

Diversos estudos demonstram a eficácia do metilfenidato (bloqueador do DAT e principal tratamento farmacológico para o transtorno) em melhorar os sintomas comportamentais dos SHR, incluindo reversão do déficit atencional (DELA PENÃ et al., 2010; CHENG, LI, 2013; HONG et al., 2009), redução da impulsividade (YOON et al., 2013) e aumento da capacidade de memória (PIRES et al., 2010). Contudo, há divergências sobre seus efeitos na hiperatividade. Alguns estudos reportam redução da atividade locomotora (KIM et al., 2011; HONG et al., 2010), enquanto outros indicam aumento da hiperatividade (CHELARU; YANG; DAFNY, 2012).

Apesar da linhagem de ratos SHR ser considerada a mais apropriada para o estudo do TDAH, ela ainda possui principalmente a limitação desses animais desenvolverem hipertensão

de forma espontânea. Por isso, ainda há a procura em desenvolver um modelo animal que atenda aos critérios estipulados por McKinney e Bunney e não tenha essa limitação que o SHR apresenta.

A linhagem congênica SLA16 (SHR.Lewis/Anxrr16) foi desenvolvida no Laboratório de Genética do Comportamento (LGC) da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), por retrocruzamentos entre as linhagens SHR (receptora) e Lewis (doadora). O objetivo foi isolar o locus *Anxrr16* (Anxiety related response), associado a comportamentos ansiosos e emocionalidade, principalmente locomoção no centro do campo aberto, um indicador clássico de emocionalidade em roedores (RAMOS et al., 1999; MORMÉDE et al., 2002).

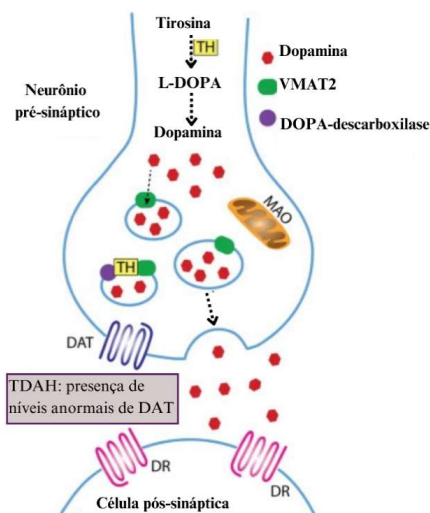
Os ratos SLA16 apresentam características específicas que os tornam um modelo promissor para o estudo do TDAH, como hiperatividade locomotora em situações de novidade (DE MEDEIROS et al., 2013; ANSELMINI et al., 2016), característica associada à neofilia, um traço comum no subtipo impulsivo/hiperativo do TDAH em humanos (PARK et al., 2016). A linhagem também apresenta níveis elevados de DAT e do receptor D2 (autoreceptor inibitório) para dopamina no hipocampo, indicando hipofunção dopaminérgica (CORVINO, 2015), e menor pressão arterial que os SHR (CORRÊA, 2015). Esses aspectos apontam o SLA16 como um modelo genético interessante para estudar a neurobiologia e novos tratamentos para o TDAH, superando a linhagem SHR em alguns parâmetros relevantes. Entretanto, mais estudos sobre essa linhagem são necessários para averiguar se eles são de fato um bom modelo para se estudar o TDAH (SQUARIZ, 2018).

#### **1.4. Neurobiologia do TDAH e sistema dopaminérgico**

Diversas evidências sugerem que os sintomas do TDAH são provenientes de uma disfunção da neurotransmissão dopaminérgica na área pré-frontal, frontal motora, giro cingulado e em regiões subcorticais: estriado, tálamo, estendendo-se à região límbica cerebral como núcleo acumbens, amígdala e hipocampo (COUTO et al., 2010). Além disso, pesquisas recentes apontam que a dopamina é o principal neurotransmissor envolvido na neurobiologia do TDAH (LEVY, 1991; DRECHLER et al., 2020), embora diversos estudos já tenham demonstrado que também há o envolvimento dos sistemas noradrenérgicos no TDAH, dentre outros (HAN AND GU, 2006).

A dopamina pertence ao grupo das catecolaminas, que são moléculas derivadas do aminoácido tirosina proveniente da alimentação. A sua síntese (Figura 1) ocorre a partir da

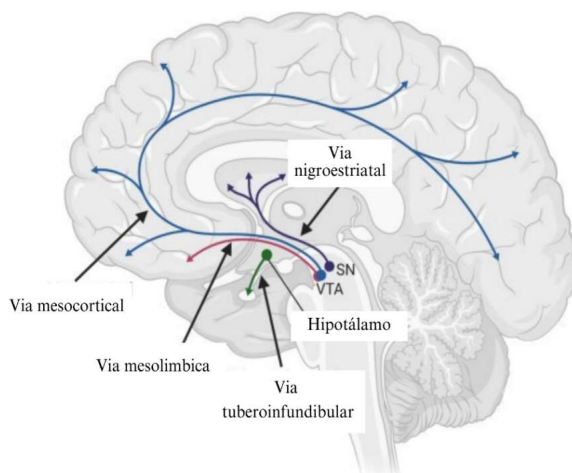
tirosina hidroxilase (TH), que converte a tirosina em levodopa (L-DOPA), e a DOPA descarboxilase, que converte L-DOPA em dopamina. Após sua síntese na célula pré-sináptica, a dopamina pode ser degradada pela ação das enzimas monoamina oxidase B (MAO-B) ou Catecol-O metiltransferase (COMT); ou ser armazenada em vesículas, via transportadores vesiculares de monoaminas-2 (VMAT-2), e transportada até o terminal pré-sináptico para ser liberada na fenda sináptica por exocitose. Uma vez no espaço extracelular, a dopamina pode se ligar a seus receptores do tipo D1 (receptores pós-sinápticos D1 e D5) ou do tipo D2 (receptores pré- e pós-sinápticos D2, D3 e D4) e exercer sua função na célula-alvo, ou ser recaptada pelo neurônio pré-sináptico via (DAT) ou via transportadores de monoaminas (MAT) (KLEIN et al., 2019). No TDAH, o que se observa é uma redução na funcionalidade desse sistema, tanto em pacientes quanto em modelos animais utilizados para estudar o transtorno (CORTESE, 2012).



**Figura 1:** Síntese e liberação de dopamina. Adaptada de (KLEIN et al. 2019).

Já está consolidado na literatura que o cérebro possui quatro vias dopaminérgicas principais: a nigroestriatal, a mesolímbica, a mesocortical e a tuberoinfundibular (Figura 2). A via mesocortical que, ao se projetar da área tegmental ventral (VTA) do mesencéfalo, atinge o córtex límbico, onde atua sobre o controle das funções cognitivas relacionadas a memória, atenção, planejamento e flexibilidade comportamental e no controle motor frontal;

mesolímbica que, se projetando para o núcleo accumbens (NAc) está envolvida com recompensa e motivação; a nigroestriatal, que se projeta da substância negra para o estriado e está envolvida com a função motora e com aprendizado, e a tuberoinfundibular, que se projeta para a hipófise e controla a regulação hormonal (KLEIN et al. 2019; LEMOS et al. 2024; SOUZA, 2019). Em relação ao desenvolvimento sintomatológico do TDAH, o córtex pré-frontal e o estriado são classicamente consideradas as regiões cerebrais mais importantes, sendo que uma baixa função das áreas corticais seria responsável por déficits cognitivos e das funções executivas (início e desenvolvimento de uma atividade com objetivo final determinado). Estudos sugerem que baixos níveis da dopamina proveniente da via mesocortical seriam responsáveis pela desatenção, enquanto alterações dopaminérgicas na via nigro-estriatal estaria relacionada à hiperatividade (SOUZA, 2019; COELHO et al. 2010; MADUREIRA et al., 2007).



**Figura 2:** Principais vias dopaminérgicas do Sistema Nervoso Central. Adaptada de (DICARLO AND WALLACE 2021).

Evidências indicam que a neuroinflamação desempenha um papel importante, embora não específico, na fisiopatologia do TDAH. Alterações inflamatórias periféricas, são comuns em transtornos do neurodesenvolvimento, sugerindo vias etiológicas compartilhadas (KIM et al., 2016; LANDAAS et al., 2010; MONIJ et al., 2013; VARGAS et al., 2005).

Embora a redução de dopamina sináptica seja característica funcional do TDAH, disfunções em outros sistemas neurotransmissores, como serotonina, glutamato e GABA, também podem modular a transmissão dopaminérgica. A exposição inflamatória intrauterina

impacta o desenvolvimento desses sistemas, afetando receptores, enzimas e níveis homeostáticos desses neurotransmissores (DUNN; NIGG; SULLIVAN, 2019).

### **1.5. Fatores neurotrófico e o TDAH**

Por se tratar de um transtorno do neurodesenvolvimento, componentes envolvidos no desenvolvimento e crescimento neuronal são candidatos importantes para entender a fisiopatologia e são potenciais alvos terapêuticos para o TDAH. Neste sentido, destaca-se o papel dos fatores neurotróficos (FNTs) na neurobiologia do TDAH.

Os FNTs pertencem a um grupo de proteínas que promovem a regeneração de nervos periféricos *in vitro* e *in vivo*, estimulando a proliferação e a diferenciação celular para reparo e recuperação funcional. Esses fatores, do qual fazem parte várias neurotrofinas, são divididos em três famílias de moléculas e receptores, mantêm o crescimento e sobrevivência dos axônios e neurônios motores e sensoriais após danos, sendo também liberados por nervos degenerados para apoiar o processo regenerativo (SEBBEN et al., 2011; PACHECO, 2009). Até o momento, diversos FNTs foram descobertos e identificados como tendo uma ampla gama de efeitos biológicos. Entre os mais conhecidos podemos citar o fator de crescimento nervoso (NGF), fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF), neurotrofina-3 (NT-3) e NT-4; fator neurotrófico derivado de linha celular glial (GDNF) e sua família de ligantes, como neurturina; citocinas neurotróficas; e os recentemente caracterizados fator neurotrófico de dopamina cerebral (CDNF) e fator neurotrófico derivado de astrócitos mesencefálicos (MANF) (TANG et al., 2017).

Diferentes FNTs afetam conjuntos específicos de subpopulações neuronais, que são geneticamente competentes para responder a eles, ou seja, essas células expressam receptores cognatos em sua superfície que quando se ligam a esses FNTs disparam uma cascata de sinalização que induz a síntese de proteínas neurotróficas e neuroprotetoras. Os FNTs também regulam a migração, diferenciação e maturação de precursores neuronais pós-mitóticos e promovem a regeneração de neurônios lesionados (HUANG, REICHARDT, 2001; AIRAKSINEN, SAARMA, 2002).

Pesquisas prévias associaram alterações nos níveis de BDNF no sangue a diversos transtornos neuropsiquiátricos, incluindo o TDAH (BERGMAN et al., 2011; LEE AND SONG, 2015; SCASSELLATI et al., 2014; SHIM et al., 2008; TSAI, 2017). Diante disso, atualmente o BDNF é um dos FNTs mais estudados na fisiopatologia do TDAH. No entanto, há

discrepâncias nos achados: alguns estudos relatam níveis aumentados de BDNF em pacientes com TDAH (LI et al., 2014; SHIM et al., 2008), enquanto outros não detectaram alterações significativas (BILGIC et al., 2017; 2017; SCASSELLATI et al., 2014). Essas discrepâncias indicam a necessidade de mais pesquisas para esclarecer essas variações (ZHANG et al., 2018).

Além do BDNF, outros FNTs têm sido relacionados ao TDAH em diferentes aspectos. SHIM et al. (2015) descreveram que os níveis plasmáticos de GDNF eram maiores em crianças com TDAH do que em crianças sem o transtorno, mostrando uma correlação significativa com a desatenção e a hiperatividade-impulsividade. Enquanto outro estudo traz que há um aumento nos níveis séricos de GDNF e NT-3 em crianças sem tratamento com TDAH em comparação com controles não afetados indicando que essas neurotrofinas podem desempenhar um papel na fisiopatologia do TDAH (BILGIC et al., 2017). Entretanto, Yurteri (2019) traz que esses dois estudos demonstraram resultados diferentes sobre a correlação entre os sintomas de TDAH e os níveis de GDNF e que não é possível determinar se esses níveis elevados representam um mecanismo patológico ou compensatório.

Estes resultados colocam em pauta o importante papel que as neurotrofinas, bem como os FNTs, podem desempenhar na neurobiologia do TDAH.

#### **1.6. Fator neurotrófico de dopamina cerebral (CDNF)**

A primeira descrição do CDNF como fator neurotrófico para neurônios dopaminérgicos foi realizada por Lindholm e colaboradores em 2007, através da caracterização da expressão do mRNA do CDNF no encéfalo de ratos em desenvolvimento e em vários tecidos de ratos adultos. O CDNF é amplamente expresso em neurônios dopaminérgicos no córtex cerebral, cerebelo e hipocampo, uma distribuição que corrobora a importante atividade neurotrófica desta proteína (LINDHOLM et al., 2007).

O CDNF é um parálogo do fator neurotrófico mesencefálico derivado de astrócitos (MANF), o que implica que ambas as proteínas possuem sequências de DNA homólogas derivadas da mesma molécula. Essas moléculas multifuncionais medeiam o desenvolvimento, a sobrevivência e a manutenção do sistema nervoso periférico e central (BOTHWELL, 2016) desempenhando papéis importantes tanto no desenvolvimento neuronal quanto na plasticidade neuronal (VILAR E MIRA, 2016). E, embora seu mecanismo de ação permaneça pouco conhecido, o CDNF exibe essas propriedades neurotróficas (LINDAHL et al., 2017).

Supõe-se que o CDNF difere de outros FNTs clássicos principalmente por ser uma



proteína residente do retículo endoplasmático (ER) e por atuar na modulação da resposta ao estresse. O CDFN também suprime as vias de resposta ao estresse de ER ao interagir com proteínas luminais do ER, como a proteína regulada por glicose 78, regula o *splicing* de mRNA XBP1 e possui uma sequência KTEL C terminal, que o ancora ao ER. Também apresenta uma capacidade de interagir com a alfa-sinucleína, reduzindo sua entrada celular e agregação, o que não é típico dos FNTs convencionais (LÖHELAIID et al., 2024; TSYBKO et al., 2024), além de exercer sua atividade somente mediante a fatores celulares estressores, visto que não há evidências de efeito do CDFN em cultura de neurônios saudáveis (LINDHOLM et al., 2007). Por outro lado, o CDFN demonstrou efeitos neuroprotetores e neuro-restauradores quando em cultura de neurônios mesencefálicos ou em tecido cerebral de animais que receberam a administração de toxinas dopaminérgicas (HUTTUNEN; SAARMA, 2019).

Em 2015, foi relatado por LATGÉ et al. que o CDFN recombinante protege e resgata culturas de células neuronais dopaminérgicas primárias isoladas de mesencéfalo de rato e culturas de células neuronais diferenciadas da toxicidade induzida por oligômero de alfa-sinucleína envolvidos na fisiopatologia doença de Parkinson. Além disso, outros possíveis mecanismos de ação do CDFN podem incluir: 1) Como outros fatores neurotróficos, liga-se a receptores transmembrana, ativando assim vias de sobrevivência que superam os efeitos tóxicos da alfa-sinucleína. 2) Estimula as vias de depuração celular, como a autofagia mediada por chaperonas. 3) Interage com BAX através de um sítio ativo semelhante ao Ku70 para inibir a apoptose (PARKASH et al., 2009; HELLMAN et al., 2011). Como o CDFN apresenta dois domínios com funções diferentes, pode-se concluir que pelo menos dois mecanismos diferentes podem ser usados para proteger neurônios dopaminérgicos contra oligômeros pré-fibrilares de alfa-sinucleína tóxicos (LATGÉ et al., 2015)

Atualmente, o CDFN é bastante estudado na doença de Parkinson, na doença de Alzheimer, no estresse oxidativo e em respostas a comportamentos relacionados ao estresse a partir de mecanismos de neuroproteção e plasticidade neuronal. Os diversos estudos relacionados a essas doenças neurodegenerativas apresentaram que o CDFN possui um evidente potencial terapêutico, além de mostrar-se diretamente relacionado tanto a componentes do sistema dopaminérgico quanto a alterações comportamentais relacionadas a este sistema. Visto que, estudos *in vivo* mostraram que CDFN previne a degeneração induzida por 6-hidroxidopamina (6-OHDA) de neurônios dopaminérgicos de ratos em um modelo experimental da doença de Parkinson (LINDHOLM et al., 2007). Uma única injeção de CDFN

antes da administração de 6-OHDA no estriado evitou quase completamente a morte de neurônios dopaminérgicos no SN. A injeção intraestriatal de CDFN restaurou a função dopaminérgica no SN quando administrado 6-OHDA quatro semanas depois (LINDHOLM et al., 2007).

### **1.7. Via de administração intranasal**

Por décadas, métodos como injeções intracerebroventricular e intratecal foram usados para entregar fármacos ao cérebro, mas estas vias são invasivas e de alto custo (HERSH et al., 2016; FURTADO et al., 2018; LEE, MINKO, 2021). A via intranasal (i.n.) - nariz para o cérebro - surge como uma alternativa promissora, permitindo a administração direta de fármacos pela conexão anatômica da cavidade nasal (MIGNANI et al., 2021). Essa é uma via não-invasiva que reduz efeitos sistêmicos indesejados e utiliza a mucosa olfativa para atravessar a barreira hematoencefálica (BHE). Além disso, substâncias administradas intranasalmente não passam pelo metabolismo hepático, atingindo o sistema nervoso central (SNC) de forma direta através de nervos, vasos sanguíneos, fluido cerebrospinal e sistema linfático (BANKS, 2016). Além disso, podemos destacar que essa via de administração apresenta as vantagens de ausência de dor, maior adesão ao tratamento e início rápido da ação devido à alta concentração de fármacos no sítio de ação, evitando o metabolismo de primeira passagem e degradação (DHURIA; HANSON; FREY, 2010).

## **2. JUSTIFICATIVA E HIPÓTESE**

Considerando as lacunas no entendimento dos aspectos fisiopatológicos do TDAH, torna-se evidente a necessidade de mais estudos para se entender melhor o transtorno. Diante disto, pesquisas investigando o papel dos FNTs, especialmente o BDNF, têm mostrado potenciais terapêuticos e achados importantes para se compreender para o TDAH. Tendo em vista a relação do CDFN com o sistema dopaminérgico em áreas encefálicas que também estão envolvidas no TDAH, hipotetizamos que o CDFN modula a atividade locomotora e o comportamento do tipo ansioso em um modelo animal do TDAH.

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1. Objetivos gerais**

Investigar o envolvimento do CDNF na fisiopatologia do TDAH e os efeitos de uma única administração intranasal sua sobre alterações comportamentais relacionadas a função motora e de emocionalidade observados em modelos animais do TDAH.

#### **3.2. Objetivos específicos**

Investigar os efeitos da administração intranasal de CDNF exógeno em 3 linhagens de ratos (Wistar Kyoto, SHR e SLA-16):

- Nas funções locomotoras;
- No comportamento relacionado à ansiedade.

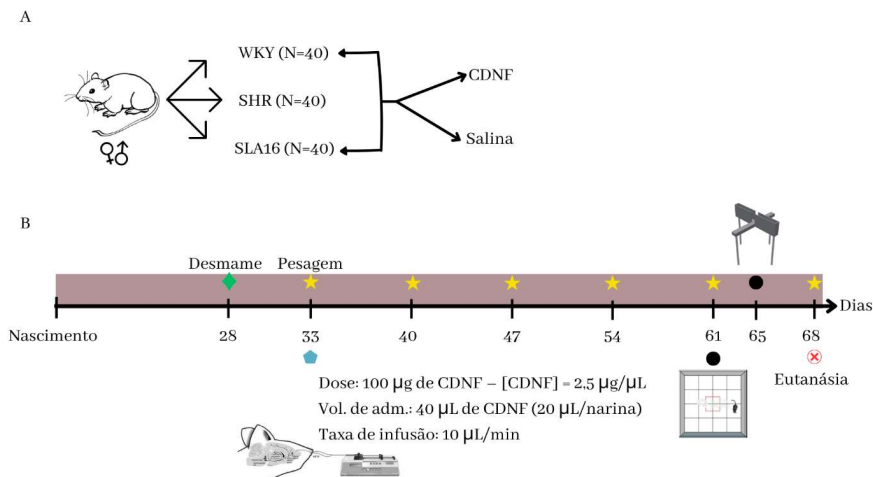
### **4. METODOLOGIA**

#### **4.1. Animais**

Foram utilizados grupos independentes de ratos machos e fêmeas, em diferentes idades, das linhagens SHR, Wistar Kyoto (WKY), e SLA16. Os animais WKY e SHR foram provenientes de matrizes compradas do Biotério de roedores do ICB-USP. Os animais foram desmamados e separados por sexo com 28 dias pós-natal (DPN), em seguida, agrupados em quatro ou cinco em gaiolas plásticas, tendo livre acesso à água e à comida. Os ratos eram mantidos em ambiente com temperatura controlada ( $22 \pm 2$  °C) e ciclo claro-escuro de 12 horas (fase clara 7h00min-19h00min). Todos os procedimentos usados no presente estudo seguem as normas para o uso de animais do CONCEA e foram previamente aprovados pelo Comitê de Ética para o Uso de Animais (CEUA / UFSC; no do projeto de pesquisa aprovado: 1677210322 - ID 002090).

#### **4.2. Protocolo experimental**

O presente trabalho utilizou 10 animais de cada sexo para cada grupo experimental (controle e tratamento), visto que para resultados válidos e reprodutíveis em testes comportamentais, é recomendado o uso de um “N” amostral entre 8 e 12 animais (PREDIGER et al., 2006, 2009, 2010; SPECK et al., 2019) (Figura 3A). Cinco dias após o desmame, aos 33 DPN, os animais foram separados em grupos controle, tratados com salina, e tratamento, tratados com 100 µg de CDNF produzido conforme descrito por Latge et al., (2015), solubilizada em 40µL de solução salina (NaCl a 0,9%), via administração i.n. (Figura 3 B).



**Figura 3:** Desenho experimental. **A.** Grupos independentes de animais: 10 fêmeas controles, 10 fêmeas tratadas, 10 machos controles e 10 machos tratados para cada linhagem, portanto, 40 animais por linhagem. Sendo assim, foi utilizado um total de 120 animais. **B.** Aos 33 DPN, os animais foram separados em grupos controle, tratados via i.n com salina, e tratamento, que foram tratados com 100 µg de CDNF. Quatro semanas após a administração (61 DPN) os grupos independentes de animais “controle” e “CDNF” foram avaliados nos testes comportamentais campo aberto e labirinto em cruz elevado.

Para a administração i.n., os ratos foram levemente anestesiados com isoflurano a 0,96%, apenas para a realização da administração, conforme realizado em trabalhos prévios do nosso grupo (PREDIGER et al., 2006; 2010), eram posicionados em decúbito ventral com a cabeça plana na superfície e o nariz na vertical ( $\approx 90^\circ$ ) (VAN DEN BERG et al., 2002). A i.n. foi realizada com o auxílio de um tubo de polietileno (PE-10) inserido aproximadamente 7 mm na narina do animal conectado a uma bomba peristáltica ajustada para uma vazão de 10 µL/min através de uma seringa Hamilton de 20 µL. Entre as infusões em cada narina, os animais tinham um intervalo de 1 min para recuperação da função cardiorrespiratória (adaptado de PREDIGER et al., 2006).

Quatro semanas após a administração (DPN61), os animais foram submetidos aos testes comportamentais descritos na figura 3 e 24 horas após, foram anestesiados e eutanasiados.

### 4.3. Testes comportamentais

Os animais foram submetidos a diferentes testes comportamentais para avaliação de parâmetros referentes à prejuízos comportamentais, bem como acompanhados quanto a indicadores do bem-estar geral.

Todos os animais foram habituados por pelo menos 1 h em uma sala com temperatura controlada ( $22 \pm 2$  °C) e livre de ruídos antes dos testes comportamentais. Os procedimentos experimentais eram realizados durante a fase clara do ciclo (entre 8 e 18 h) sob iluminação de baixa intensidade. O bloco de testes comportamentais teve duração de 7 dias consecutivos: dia 1 - Campo aberto; dias 1, 2 e 3 - Reconhecimento de objetos (o teste de campo aberto foi utilizado como o primeiro dia da “fase de habituação” do teste); dia 4 - Labirinto em Y; dia 5 - Labirinto em cruz elevado; dias 6 e 7 - Nado forçado. A ordem escolhida se baseia na aversividade do teste, sendo realizados a partir do menos aversivo para o mais aversivo. Todos os animais passaram por todo bloco de testes, entretanto, neste trabalho serão apresentados apenas os testes de campo aberto e de labirinto em cruz elevado, os demais testes serão apresentados na tese da doutoranda Bruna Kelly Santos de Souza. O bem-estar animal foi avaliado ao longo de todo o experimento.

#### **4.3.1. Teste de campo aberto**

O campo aberto (CA) é um teste usado para analisar locomoção e o comportamento relacionado à ansiedade em roedores (KRAUTER et al. 2019). O teste consiste em uma arena quadrada medindo (100 cm × 100 cm × 40 cm), feita de madeira revestida com fórmica de cor cinza, contendo uma área central aversiva; e representa um modelo amplamente utilizado para a avaliação tanto da atividade motora como de comportamentos relacionados à ansiedade (PANDOLFO et al., 2007; SOUZA et al. 2020; PRUT E BELZUNG, 2003). No assoalho é delimitada a área central (25 cm x 20 cm x 20 cm). Cada animal era colocado no centro do CA e deixados livres para explorar a arena por 10 minutos e eram gravados por meio de uma câmera de vídeo posicionada acima do CA, além de serem monitorados em uma sala adjacente por meio de uma câmera de TV de circuito fechado.

Para avaliar a atividade locomotora e os comportamentos do tipo ansioso relacionados ou não aos tratamentos aos quais os animais foram submetidos, foram analisados os seguintes parâmetros: bolo fecal, distância total, número de transição entre áreas, percentual de distância percorrida no centro e o tempo que o animal ficou no centro.

#### **4.3.2. Teste do labirinto em cruz elevado**

O labirinto em cruz elevado (LCE) consiste em um paradigma comportamental reconhecido para a avaliação de comportamentos relacionados à ansiedade e identificação de

compostos com efeitos ansiolíticos e ansiogênicos em animais. O aparato utilizado para o teste consistiu em dois braços abertos opostos (50 cm × 10 cm) cercados por uma borda de acrílico de 1 cm de altura, cruzados em ângulo reto por dois braços fechados (50 cm × 10 cm × 40 cm) e unidos por uma plataforma central (10 cm 10 × 10 cm), feitos de madeira com fórmica impermeável, à uma altura de 50 cm do chão. Para o teste, os animais foram colocados na área central do labirinto de frente para um braço fechado e o número de entradas e o tempo gasto nos braços abertos e fechados foram registrados durante 5 minutos. A partir do comportamento dos animais, foram analisadas as respectivas respostas emocionais e locomotora: percentual de tempo e entradas de braços abertos, assim como a expressão de comportamentos de avaliação de riscos (ato de aproximação e investigação da área de transição aos braços abertos), avaliados pelo percentual de tempo na plataforma central, e o número de entradas de braços fechados. Este protocolo foi baseado em trabalhos prévios da literatura (PANDOLFO et al., 2007).

#### **4.4. Avaliação do bem-estar dos animais**

##### **4.4.1. Avaliação do peso corporal**

O peso corporal dos animais é acompanhado como uma medida do desenvolvimento, bem-estar geral e avaliação do surgimento de efeitos adversos diante de manipulações experimentais. Os animais foram pesados semanalmente durante os protocolos experimentais, sempre antecedendo o início das avaliações comportamentais e utilizando-se a mesma balança (LOPES, 2019).

##### **4.4.2. Pontos finais humanitários**

Os protocolos e testes realizados não devem resultar em alterações de saúde, dificuldade respiratória, foi feito o monitoramento de saúde diariamente e eram avaliados os seguinte indicadores: animais que apresentem baixo escore corporal, comportamentos anormais, falta de autolimpeza, dificuldade para caminhar ou se alimentar, dificuldade respiratória, diarreia, lesões de pele ou qualquer outra alteração relacionada ou não ao experimento, a médica veterinária do departamento era consultada e, conforme sua avaliação, os animais poderiam ser retirados do experimento (LOPES, 2019).

## 5. RESULTADOS

### 5.1. Teste de campo aberto

A figura 4 ilustra os resultados obtidos no teste de campo aberto. Na análise do número de bolos fecais, o teste de Kruskal-Wallis para múltiplas amostras independentes mostrou que tanto os animais SHR quanto os SLA16 defecam menos do que os animais controles WKY, independentemente do sexo e do tratamento [H (2, N= 112) =47,27038 p =0,0000]. Ao compararmos separadamente machos e fêmeas, observamos que, entre os machos, este efeito linhagem se mantém apenas entre os animais WKY e SLA16 (p=0,002), embora exista uma tendência dos animais SHR defecarem menos quando comparados aos WKY (p=0,060). Entre as fêmeas, este efeito linhagem se mantém, com os animais de ambas as linhagens, SHR e SLA16, defecando menos do que os animais WKY (p=0,0007 para as linhagens). Além disso, existe uma tendência dos animais machos SHR tratados com CDNF defecarem menos quando comparados aos machos SHR tratados com salina (p=0,075) (figura 4A).

Na análise da locomoção total, a ANOVA de três vias mostrou efeitos linhagem [F (2, 100) =37,363, p=0,00000], sexo [F (1, 100) =42,328, p=0,00000] e uma tendência na interação linhagem e sexo [F (2, 100) =2,5138, p=0,08607]. Todos os efeitos foram confirmados após o teste pos-hoc de Duncan. De modo geral, as fêmeas se locomovem mais do que os machos, independentemente da linhagem e do tratamento (p=0,000) e animais de ambas as linhagens, SHR e SLA16, se locomovem mais do que os animais controle WKY, independentemente do sexo e do tratamento (p=0,000 para ambas as linhagens). Entre as fêmeas, continuamos observando este padrão de locomoção total independente de sexo e tratamento entre as linhagens SHR e SLA16 e a linhagem WKY, embora com um nível de significância um pouco menor (p=0,001), mas também observamos um efeito dependente do sexo quando comparamos as linhagens SHR e SLA16, onde as fêmeas SLA16 percorrem uma distância maior do que as fêmeas SHR (p=0,000) (figura 4B).

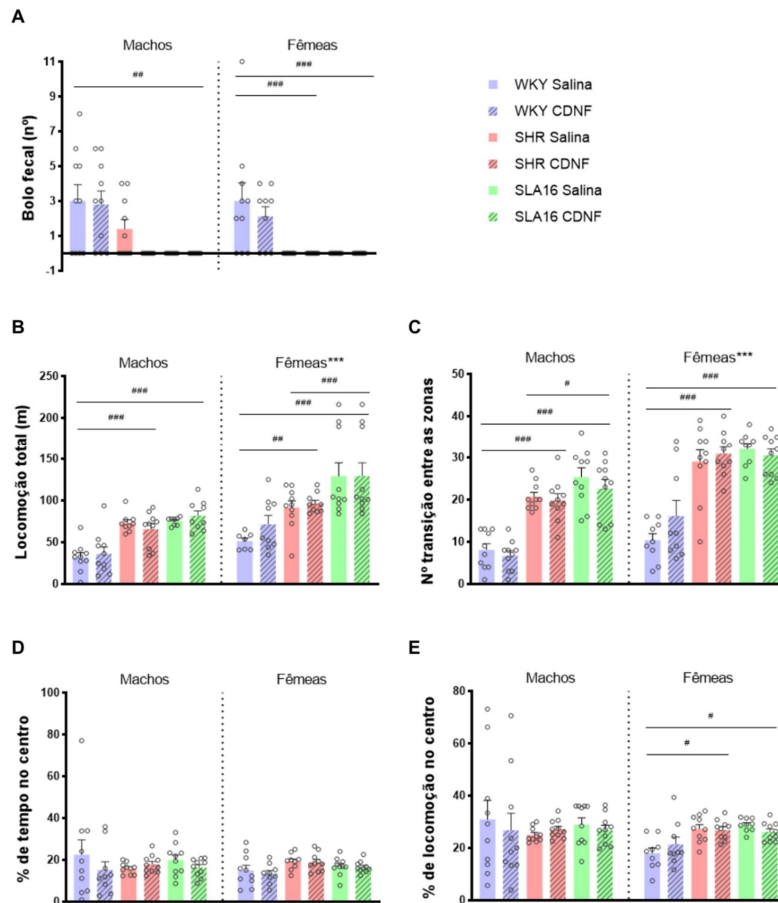
A ANOVA de três vias para análise do número de transição entre as zonas também mostrou efeitos linhagem [F (2, 105) =90,880, p=0,00000] e sexo [F (1, 105) =45,415, p=0,00000]. O teste de pós-hoc confirmou estes efeitos, mostrando que os animais das linhagens SHR e SLA16 transitaram mais entre as zonas do que os animais WKY, independentemente de sexo e tratamento (p=0,000 para ambas as linhagens), e que fêmeas transitaram mais que machos de maneira independente do sexo e da linhagem (p=0,000). Além disso, foi observada uma tendência de animais SLA16 transitarem mais entre as zonas do que

animais SHR ( $p=0,076$ ) e, quando analisamos a interação entre linhagem e sexo, constatamos que este efeito é sexo dependente, onde machos SLA16 transitam mais do que machos SHR ( $p=0,054$ ) (figura 4C).

Na análise de percentual de tempo no centro, a ANOVA de três vias não mostrou interação entre os fatores. No entanto, quando analisamos separadamente machos de fêmeas, a ANOVA de duas vias mostrou efeito linhagem entre as fêmeas [ $F(2, 52)=4,6720, p=0,01361$ ] e o teste pós-hoc confirmou que fêmeas SHR passam um percentual de tempo maior na área central do campo aberto quando comparadas com as fêmeas controles WKY ( $p=0,004$ ) (figura 4D).

A figura 4E ilustra os resultados da análise do percentual de locomoção no centro. A ANOVA de 3 vias mostrou uma tendência de interação entre sexo e linhagem [ $F(2, 105)=2,7478, p=0,06868$ ] e o teste pós-hoc confirmou as diferentes linhagens tem um padrão de locomoção no centro do campo aberto de maneira dependente do sexo. Fêmeas das linhagens SHR e SLA16 se locomovem mais no centro do que as fêmeas WKY ( $p=0,034$  e  $0,032$ , respectivamente (figura 4E).





**Figura 4:** Teste do campo aberto. Efeitos a médio prazo da administração intranasal de CDFN sobre o número de bolos fecais (A), locomoção total (B), número de transição entre as zonas central e periférica (C), percentual de tempo no centro (D) e percentual de locomoção no centro (E) em animais WKY, SHR e SLA16 (n = 7-10). Os valores estão representados como média  $\pm$  E.P.M. \*\*\* $p \leq 0,001$  comparando os sexos; # $p \leq 0,05$ , ## $p \leq 0,01$  e ### $p \leq 0,001$  comparando as linhagens.

## 5.2. Teste do labirinto em cruz elevado

A figura 5 mostra os resultados do labirinto em cruz elevado. Na análise do percentual de entradas nos braços abertos do labirinto, a ANOVA de três vias mostrou efeito linhagem [F

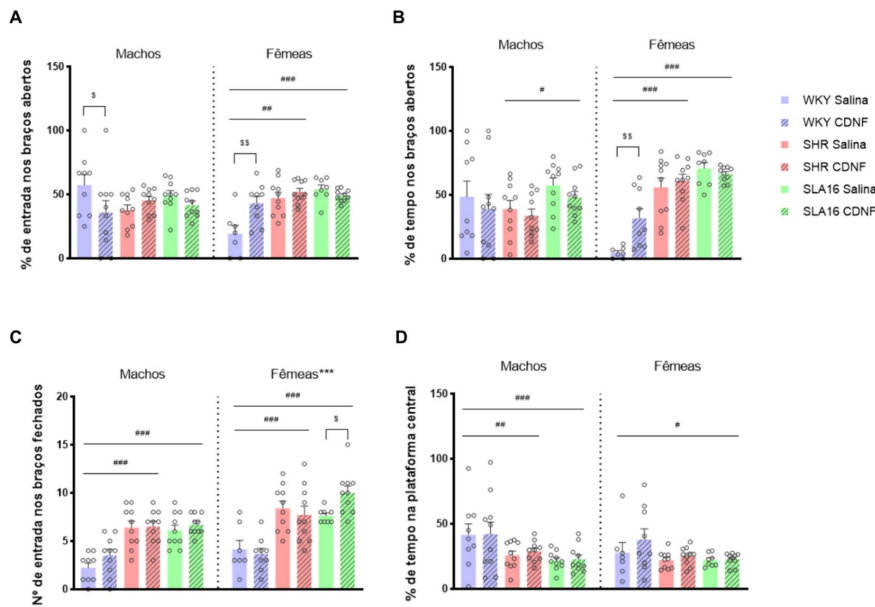
(2, 101) = 3,6303,  $p=0,03003$ ] e interação entre os fatores linhagem e sexo [F (2, 101) = 6,3653,  $p=0,00249$ ], sexo e tratamento [F (1, 101) = 6,7130,  $p=0,01099$ ] e linhagem, sexo e tratamento [F (2, 101) = 6,5365,  $p=0,00214$ ]. O teste pós-hoc confirmou estes efeitos, mostrando que as fêmeas SHR apresentam um percentual de entrada nos braços abertos maior do que as fêmeas SLA16, independentemente do tratamento ( $p=0,0003$  e  $0,0009$ , respectivamente); que as fêmeas WKY tratadas com CDNF apresentam um percentual de entrada no braços abertos maior do que as fêmeas WKY tratadas com salina ( $p=0,003$ ); e que nos machos ocorre o oposto, com os machos WKY tratados com CDNF apresentando um menor percentual de entradas nos braços abertos quando comparados aos machos WKY tratados com salina ( $p=0,011$ ) (figura 5A).

Na análise do percentual de tempo nos braços abertos, a ANOVA de três vias mostrou efeito linhagem [F (2, 101) = 16,844,  $p=0,00000$ ] e interação entre os fatores linhagem e sexo [F (2, 101) = 12,796,  $p=0,00001$ ] e sexo e tratamento [F (1, 101) = 4,3995,  $p=0,03844$ ]. O teste pós-hoc confirmou estes efeitos, mostrando que os machos SLA16 passam um percentual de tempo nos braços abertos maior do que os machos SHR ( $p=0,029$ ) e que as fêmeas WKY passam um percentual de tempo nos braços abertos menor do que as fêmeas SHR ( $p=0,000$ ) e SLA16 ( $p=0,000$ ), independentemente do tratamento. Além disso, mostrou um efeito tratamento nas fêmeas WKY, onde as fêmeas tratadas com CDNF apresentaram um maior percentual de tempo nos braços abertos do que as fêmeas tratadas com salina ( $p=0,009$ ) (figura 5B).

A figura 5C mostra a análise do número de entrada nos braços fechados. A ANOVA de três vias mostrou efeitos linhagem [F (2, 101) = 49,284,  $p=0,00000$ ] e sexo [F (1, 101) = 19,955,  $p=0,00002$ ]. O teste pós-hoc confirmou esses efeitos, mostrando que as fêmeas entram mais vezes nos braços fechados do que os machos, independentemente da linhagem e do tratamento ( $p=0,000$ ) e que tanto os machos quanto as fêmeas controles WKY entram menos nos braços fechados do que os machos e fêmeas SHR ( $p=0,000$ , para ambos os sexos) e do que os machos e as fêmeas SLA16 ( $p=0,000$ ). Além disso, também mostrou um efeito tratamento dependente da linhagem e do sexo, onde as fêmeas SLA16 tratadas com CDNF entram mais vezes nos braços fechados do que as fêmeas SLA16 tratadas com salina ( $p=0,018$ ).

Na análise do percentual de tempo na plataforma central apresentada na figura 5D, a ANOVA de três vias mostrou apenas um efeito linhagem [F (2, 101) = 8,9415,  $p=0,00027$ ]. No entanto, o teste pós-hoc mostrou que este efeito é dependente do sexo. Os

machos WKY apresentam um percentual de tempo na plataforma central maior do que os machos SHR ( $p=0,008$ ) e do que os machos SLA16 ( $p=0,000$ ), independentemente do tratamento. Já entre as fêmeas, observamos que as WKY apresentam um percentual de tempo na plataforma central maior do que as SLA16 somente ( $p=0,050$ ), embora haja uma tendência de apresentarem um percentual maior do que as SHR também ( $p=0,074$ ).



**Figura 5:** Teste do labirinto em cruz elevado. Efeitos a médio prazo da administração intranasal de CDFN sobre o percentual de entrada nos braços abertos (A), percentual de tempo nos braços abertos (B), número de entradas nos braços fechados (C), percentual de tempo na plataforma central (D) em animais WKY, SHR e SLA16 ( $n = 7-10$ ). Os valores estão representados como média  $\pm$  E.P.M. \*\*\* $p \leq 0,001$  comparando os sexos; # $p \leq 0,05$ , ## $p \leq 0,01$  e ### $p \leq 0,001$  comparando as linhagens; § $p \leq 0,05$  e §§ $p \leq 0,01$  comparando os tratamentos em cada linhagem.

## 6. DISCUSSÃO

O TDAH é um transtorno do neurodesenvolvimento caracterizado pelo desenvolvimento inapropriado dos níveis de impulsividade, hiperatividade e desatenção (KUNTSI et al., 2006; ARNSTEN, 2009; TRIPP; WICKENS, 2009). Condições comórbidas no TDAH causam consideráveis prejuízos funcionais e psicossociais e desempenham um papel fundamental na progressão dos sintomas e no curso da doença (CUFFE et al., 2020). Dentre as principais condições comórbidas do TDAH está o transtorno de ansiedade. Indivíduos com TDAH e que possuem ansiedade exibem sintomas mais graves de desatenção e hiperatividade,

além de terem um início mais precoce do transtorno (REIMHERR et al., 2017; SCHATZ AND ROSTAIN, 2006). A busca pela compreensão de fatores que desempenham papéis na neurobiologia do transtorno é de suma importância e está em constante ascensão. Assim, este trabalho avaliou se a administração intranasal do fator neurotrófico de dopamina cerebral (CDNF) pode exercer algum papel na neurobiologia do TDAH, especificamente na indução de alterações na atividade locomotora e no perfil ansioso nas linhagens SHR, SLA16 e Wistar Kyoto.

Segundo Hall (1934), criador do campo aberto, sugere, a defecação seria uma resposta relacionada ao aumento da ansiedade/emocionalidade em roedores quando expostos ao ambiente novo. Tendo isto em vista, a defecação reduzida em SHR e SLA16, pode indicar menor nível de ansiedade destes animais quando comparados com a linhagem WKY. Além disso, os machos SHR tratados com CDFN defecaram menos que os tratados com salina, sugerindo assim um possível efeito ansiolítico do CDFN especificamente em animais machos desta linhagem.

No teste do CA é possível observar a atividade locomotora, com o parâmetro de distância total percorrida, e o perfil emocional dos animais, avaliando os parâmetros de tempo e distância percorrida em cada área do aparato. O número de transição entre as zonas nos permite avaliar tanto a atividade locomotora quanto a exposição a áreas potencialmente aversivas. Em relação à atividade locomotora, os resultados do presente estudo mostram que no CA as linhagens SHR e SLA16 tanto machos quanto fêmeas, se locomovem mais do que os animais WKY. Indo de encontro com outros estudos que também demonstraram que as linhagens SHR e SLA16 apresentam maior atividade locomotora quando comparadas às linhagens Wistar Kyoto e Lewis, respectivamente, quando observada no mesmo aparato (DE MEDEIROS et al., 2013; ANSELMINI et al., 2016; GRANZOTTO, 2016).

Animais com níveis elevados de ansiedade tendem a permanecer próximos às paredes laterais do campo aberto, onde se encontrariam mais protegidos, permanecendo assim menos tempo na área central da arena (SAJDYK et al. 2002, LACERDA 2006). Quando analisamos o percentual de tempo no centro do CA, observamos que as fêmeas da linhagem SHR se locomovem mais na região central quando comparadas com as fêmeas da linhagem WKY, conforme também observado por Sagvolden et al. (1993). Observamos este mesmo padrão de maior locomoção na área central das fêmeas SLA16 em comparação com as fêmeas WKY. Este padrão condiz com os resultados obtidos por De Medeiros et al. (2013), que mostraram que

**Comentado [JP1]:** Todos os artigos que li não trazem diferenças sobre o CA ser redondo ou quadro

fêmeas SLA16 apresentam um perfil de maior locomoção em áreas potencialmente aversivas em diferentes testes comportamentais quando comparadas com a linhagem controle SHR. Não foram observadas diferenças entre as linhagens SHR e SLA16 para o parâmetro de tempo no centro, mas estudos anteriores mostraram que as fêmeas da linhagem SLA16 permanecem mais tempo na área central do CA em relação a linhagem SHR (DE MEDEIROS et al., 2013; ANSELMÍ et al., 2016; DOS ANJOS, 2017; SOARES, 2019). Em conjunto, estes resultados sugerem que a linhagem SHR apresenta maior índice de ansiedade/emocionalidade quando comparada à linhagem SLA16 e que o *locus* Anxrr-16 influencia tanto a atividade locomotora como a emocionalidade (ACUNÃ, 2015; DE MEDEIROS et al., 2014; ANSELMÍ et al., 2016; SQUARIZ, 2018; MEDEIROS et al., 2013; DOS ANJOS, 2017; SOUZA, 2019; SOARES, 2018).

No labirinto em cruz elevado avaliamos o comportamento tipo ansioso. O presente estudo mostra que as fêmeas das linhagens SHR e SLA16, quando comparadas com a linhagem WKY, apresentaram maior tempo de exploração dos braços abertos e maior percentual de entradas nos mesmos, corroborando o perfil menos ansioso das linhagens observado nos resultados de SOARES (2018), que observou esse mesmo padrão ao comparar as linhagens SHR e SLA16 com a Wistar. Entretanto, ao analisarmos a percentagem de tempo na plataforma central observamos que os machos SHR e SLA16 passam menos tempo nesta região do que os machos WKY e, entre as fêmeas, apenas as SLA16 tem uma redução neste parâmetro quando comparadas com as WKY, demonstrando assim que estes animais, além de apresentarem um perfil menos ansioso, também se mostram mais impulsivos e se expõem mais a riscos.

Em relação ao sexo, o comportamento mais hiperativo demonstrado pelas fêmeas de todas as linhagens já está bem consolidado em estudos que comparam as linhagens SHR com WKY e SHR com SLA16 (DE MEDEIROS, 2014; BAYLESS; PEREZ; DANIEL, 2015; NUNES, 2018; LARA, 2022). Uma ampla variedade de evidências sugere que, em roedores, as fêmeas são geralmente mais ativas do que os machos. Essa diferença pode ser explicada pelos efeitos dos hormônios sexuais (LIGHTFOOT, 2008), onde o estrogênio é o principal alvo que explicaria esses efeitos. Segundo Garey (2001), quando o estrogênio se ligar ao seu receptor alfa se tornaria um mediador primário para o aumento locomotor das ratas. Em 2012, Host et al. publicou um estudo mostrando que fêmeas apresentam maior excitação em ambientes novos do que machos. Ele sugeriu que essas diferenças comportamentais apresentadas entre os sexos são devidas à desigualdade da reatividade do eixo HPA (Hipotálamo-Hipófise-Adrenal), onde

fêmeas secretam quantidades maiores de corticosterona do que os machos, assim tendo diferenças nas respostas ligadas a fatores estressores (HOST et al., 2012).

Em estudos com modelos da doença de Parkinson e isquemias, foi demonstrado que o CDNF restaurou as funções motoras e teve um efeito protetor sobre os neurônios dopaminérgicos (LINDHOLM et al, 2007; ZHANG et al, 1905; HUNTTENEN; SAARMA 2019). Entretanto, no presente trabalho a administração i.n. de CDNF não alterou a locomoção no CA nos parâmetros analisados em nenhuma das três linhagens e em ambos os sexos, porém modulou as respostas comportamentais no LCE. Nos animais controle WKY, a administração de CDNF mostrou efeitos opostos entre os sexos. Nos machos, o CDNF mostrou um efeito ansiogênico, diminuindo o percentual de entrada nos braços abertos; e nas fêmeas mostrou um efeito ansiolítico, aumentando tanto o percentual de entrada quanto o tempo que elas passam nos braços abertos. Um estudo publicado por CHEN et al. (2020) utilizando *zebrafish knockout* para o gene *cdnf*, mostrou que os animais knockout apresentavam um comportamento menos ansioso, então pode-se deduzir que o CDNF parece promover efeitos ansiogênicos como os que observamos nas fêmeas WKY (CHEN et al., 2020). Já os efeitos observados nos machos, pode ter relação com um estudo que demonstrou que a indução da superexpressão de CDNF no hipocampo dorsal de ratos prejudica a formação do medo condicionado (KEMPPAINEN et al, 2015). Além disso, o CDNF também foi capaz de modular a atividade exploratória das fêmeas SLA16 no aparato, percebido pelo aumento do número de entradas nos braços fechados. Não foram observados efeitos do tratamento sobre os animais SHR.

## 7. CONCLUSÃO

Os resultados do presente estudo indicam a existência de diferenças na atividade locomotora e na emocionalidade dos animais das três linhagens, com a linhagem SHR e SLA16 mostrando um perfil menos ansioso, mais exploratório e impulsivo que a linhagem WKY. Embora o CDNF exerça um papel importante no sistema dopaminérgico, este estudo mostra que a administração intranasal deste FNT não gera efeitos nas alterações comportamentais relacionadas a locomoção e emocionalidade vistas nos animais SHR e SLA16. No entanto, mostrou efeitos sobre a emocionalidade em animais controle WKY, gerando um efeito ansiolítico nas fêmeas e ansiogênico nos machos; e sobre a atividade exploratória das fêmeas SLA16, evidenciando que o CDNF exerce um papel na modulação desses comportamentos, só não é específico na linhagem alvo (SHR).

## 8. REFERÊNCIAS

- ACUNÃ, L. R. Investigação do fenômeno de tolerância à primeira exposição (one-trial tolerance) utilizando uma linhagem congênica de ratos (SLA16) e seu controle isogênico SHR, 2015. 69p. Dissertação (Mestrado em Biologia Celular e do Desenvolvimento) - Programa de Pós - graduação em Biologia Celular e do Desenvolvimento, **Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis**. 2015.
- AIRAKSINEN, M. S.; SAARMA, M. The GDNF family: signalling, biological functions and therapeutic value. **Nature reviews. Neuroscience**, v. 3, n. 5, p. 383–394, 2002.
- ANSELM, M. et al. Genetic evidence for chromosome 4 loci influencing learning and memory. **Neurobiology of Learning and Memory**, v. 131, p. 182–191, maio 2016.
- ARNSTEN, A. F. T. The emerging neurobiology of attention deficit hyperactivity disorder: The key role of the prefrontal association cortex. **The Journal of Pediatrics**, v. 154, n. 5, p. I-S43, 1 maio 2009.
- BANKS, W. A. From blood–brain barrier to blood–brain interface: new opportunities for CNS drug delivery. **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 15, n. 4, p. 275–292, 22 jan. 2016.
- BAYLESS, D. W.; PEREZ, M. C.; DANIEL, J. M. Comparison of the validity of the use of the spontaneously hypertensive rat as a model of attention deficit hyperactivity disorder in males and females. **Behavioural Brain Research**, v. 286, p. 85–92, 1 jun. 2015.
- BERGMAN, O. et al. Study on the possible association of brain-derived neurotrophic factor polymorphism with the developmental course of symptoms of attention deficit and hyperactivity. **The International Journal of Neuropsychopharmacology**, v. 14, n. 10, p. 1367–1376, 5 abr. 2011.
- BILGIÇ, A. et al. Serum brain-derived neurotrophic factor, glial-derived neurotrophic factor, nerve growth factor, and neurotrophin-3 levels in children with attention-deficit/hyperactivity disorder. **European Child & Adolescent Psychiatry**, v. 26, n. 3, p. 355–363, 25 ago. 2016.
- BOTHWELL, M. Recent advances in understanding neurotrophin signaling. **F1000Research**, v. 5, n. 1885, p. 1885, 2016.
- BRAATEN, E. B. et al. Revisiting the association between attention-deficit/hyperactivity disorder and anxiety disorders: a familial risk analysis. **Biological Psychiatry**, v. 53, n. 1, p. 93–99, jan. 2003.
- CAREY, M. P. et al. Differential distribution, affinity and plasticity of dopamine D-1 and D-2 receptors in the target sites of the mesolimbic system in an animal model of ADHD. **Behavioural Brain Research**. v. 94, n. 1, p. 173–185, 1 jul. 1998.
- CAYE, A. et al. Predictors of persistence of ADHD into adulthood: a systematic review of the literature and meta-analysis. **European Child & Adolescent Psychiatry**, v. 25, n. 11, p. 1151–1159, 28 mar. 2016.

CHELARU, M. I.; YANG, P. B.; DAFNY, N. Sex differences in the behavioral response to methylphenidate in three adolescent rat strains (WKY, SHR, SD). **Behavioural Brain Research**, v. 226, n. 1, p. 8–17, jan. 2012.

CHENG, J.-T.; LI, J.-S. Intra-orbitofrontal cortex injection of haloperidol removes the beneficial effect of methylphenidate on reversal learning of spontaneously hypertensive rats in an attentional set-shifting task. **Behavioural Brain Research**, v. 239, p. 148–154, fev. 2013.

CHIAVEGATTO, S. et al. Expression of  $\alpha$ -synuclein is increased in the hippocampus of rats with high levels of innate anxiety. **Molecular Psychiatry**, v. 14, n. 9, p. 894–905, 22 abr. 2008.

COELHO, L. et al. Transtorno do déficit de atenção e hiperatividade (TDAH) na criança: aspectos neurobiológicos, diagnóstico e conduta terapêutica. **Acta Médica Portuguesa**, v. 23, n. 4, p. 689–96, 2010.

CORRÊA, F. O cromossomo 4 influencia comportamentos relacionados à memória em um modelo genético de ratos. 2015. 119 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Farmácia, Departamento de Biologia Celular, Embriologia e Genética, **Universidade Federal de Santa Catarina**, Florianópolis, 2015.

CORTESE, S. The neurobiology and genetics of Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder (ADHD): What every clinician should know. **European Journal of Paediatric Neurology**, v. 16, n. 5, p. 422–433, set. 2012.

COUTO, T. S., MELO-JUNIOR, M. R., & GOMES, C. R. A. (2010). ASPECTOS NEUROBIOLÓGICOS DO TRANSTORNO DO DÉFICIT DE ATENÇÃO E HIPERATIVIDADE (TDAH): uma revisão. **Ciências & Cognição**, v. 15, n. 1, p. pp. 241-251, 2010

CUFFE, S. P. et al. ADHD and Psychiatric Comorbidity. *Journal of Attention Disorders*, v. 24, n. 9, p. 108705471561343, 25 nov. 2020.

DAVIDS, E. et al. Animal models of attention-deficit hyperactivity disorder. *Brain Research Reviews*, v. 42, p. 1–21, 2003.

DE MEDEIROS, G. F. et al. Low-anxiety rat phenotypes can be further reduced through genetic intervention. **PLoS one**, v. 8, n. 12, p. e83666, 2013.

DE MEDEIROS, G.F. et al. The Long Way from Complex Phenotypes to Genes: The Story of Rat Chromosome 4 and Its Behavioral Effects. **World Journal of Neuroscience**, v. 4, p. 203-215. 2014.

DELA PEÑA, I. et al. Reinforcing effects of methamphetamine in an animal model of Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder-the Spontaneously Hypertensive Rat. **Behavioral and Brain Functions**, v. 6, n. 1, p. 72, 2010.

DHURIA, S. V.; HANSON, L. R.; FREY, W. H. Intranasal delivery to the central nervous system: Mechanisms and experimental considerations. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 99, n. 4, p. 1654–1673, abr. 2010.



DICARLO, G. E.; WALLACE, M. T. Modeling dopamine dysfunction in autism spectrum disorder: From invertebrates to vertebrates. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 133, p. 104494, 1 fev. 2022.

DONIZETTI, I. DA S. TDAH e a importância de um diagnóstico correto. **Caderno Intersaberes**, v. 11, n. 32, p. 18–31, 20 maio 2022.

DOS ANJOS, P.A.R. “Fêmeas Das Linhagens SHR e SLA16: Um Modelo Genético Para o Estudo Dos Efeitos Do Etanol.” .2017. 106p. Dissertação, Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, **Universidade Federal de Santa Catarina**, Florianópolis. 2017

DRECHSLER, R. et al. ADHD: Current Concepts and Treatments in Children and Adolescents. **Neuropediatrics** v. 51, p. 315–335. 2020

DRECHSLER, R. et al. ADHD: Current Concepts and Treatments in Children and Adolescents. **Neuropediatrics**, v. 51, n. 5, p. 315–335, 19 jun. 2020.

FARAONE, S. V. et al. Attention-deficit/hyperactivity disorder. **Nature Reviews. Disease Primers**, v. 10, n. 1, p. 11, 22 fev. 2024.

FURTADO, D. et al. Overcoming the Blood-Brain Barrier: The Role of Nanomaterials in Treating Neurological Diseases. **Advanced Materials**, v. 30, n. 46, p. 1801362, 31 jul. 2018.

GIDZIELA, A. et al. A meta-analysis of genetic effects associated with neurodevelopmental disorders and co-occurring conditions. **Nature Human Behaviour**, 20 fev. 2023.

GRANZOTTO, N. Efeitos farmacogenéticos do tratamento com cafeína em ratos isogênicos SHR e SLA16. 2016. 91 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Farmácia, Departamento de Biologia Celular, Embriologia e Genética, **Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis**, 2016.

HALL, C. S. Emotional behavior in the rat. I. Defecation and urination as measures of individual differences in emotionality. **Journal of Comparative Psychology**, v. 18, n. 3, p. 385–403, 1934.

HAN, D. D.; GU, H. H. Comparison of the monoamine transporters from human and mouse in their sensitivities to psychostimulant drugs. **BMC pharmacology**, v. 6, n. 1, p. 6, 2006.

HELLMAN, M. et al. Mesencephalic Astrocyte-derived Neurotrophic Factor (MANF) Has a Unique Mechanism to Rescue Apoptotic Neurons. **Journal of Biological Chemistry**, v. 286, n. 4, p. 2675–2680. 2011

HONG, Q. et al. Prefrontal cortex Homer expression in an animal model of attention-deficit/hyperactivity disorder. **Journal of the neurological sciences**, v. 287, n. 1-2, p. 205–11, Autumn 2009.

HORST, J. P. et al. Relevance of Stress and Female Sex Hormones for Emotion and Cognition.

**Cellular and Molecular Neurobiology**, v. 32, n. 5, p. 725–735, 24 nov. 2011.

HUANG, E. J.; REICHARDT, L. F. Neurotrophins: roles in neuronal development and function. **Annual review of neuroscience**, v. 24, n. 1, p. 677–736, 2001.

HUTTUNEN, H. J. AND M. SAARMA. CDNF Protein Therapy in Parkinson's Disease." **Cell Transplant**, v. 28(4), p. 349-366. 2019.

JARRETT, M. A.; OLLENDICK, T. H. A conceptual review of the comorbidity of attention-deficit/hyperactivity disorder and anxiety: Implications for future research and practice. **Clinical Psychology Review**, v. 28, n. 7, p. 1266–1280, out. 2008.

JONES, D. R.; MOUSSAUD, S.; MCLEAN, P. Targeting heat shock proteins to modulate  $\alpha$ -synuclein toxicity. **Therapeutic advances in neurological disorders**, v. 7, n. 1, p. 33–51, 2014.

JONES, D. R.; MOUSSAUD, S.; MCLEAN, P. Targeting heat shock proteins to modulate  $\alpha$ -synuclein toxicity. **Therapeutic Advances in Neurological Disorders**, v. 7, n. 1, p. 33–51, 5 jul. 2013.

KAUTZKY, A. et al. Machine learning classification of ADHD and HC by multimodal serotonergic data. **Translational psychiatry**, v. 10, n. 1, p. 104, 2020.

KESSLER, R. C. et al. The prevalence and correlates of adult ADHD in the United States: results from the National Comorbidity Survey Replication. **The American journal of psychiatry**, v. 163, n. 4, p. 716–23, 2006.

KIM, H. et al. Treadmill exercise and methylphenidate ameliorate symptoms of attention deficit/hyperactivity disorder through enhancing dopamine synthesis and brain-derived neurotrophic factor expression in spontaneous hypertensive rats. **Neuroscience Letters**, v. 504, n. 1, p. 35–39, out. 2011.

KLEIN, M. O. et al. Dopamine: Functions, Signaling, and Association with Neurological Diseases. **Cellular and Molecular Neurobiology**, v. 39, n. 1, p. 31–59, 16 nov. 2018.

KOYUNCU, A. et al. ADHD and Anxiety Disorder Comorbidity in Children and Adults: Diagnostic and Therapeutic Challenges. **Current Psychiatry Reports**, v. 24, p. 129–140, 25 jan. 2022.

KUNTSI, J.; MCLOUGHLIN, G.; ASHERSON, P. Attention Deficit Hyperactivity Disorder. **NeuroMolecular Medicine**, v. 8, n. 4, p. 461–484, 2006.

LACERDA, G.F.M.L. 2006. Ansiedade em modelos animais: efeito de drogas nas dimensões extraídas da análise fatorial. Dissertação de Mestrado. **UFPR / Setor de Ciências Biológicas**, Curitiba. 74p.

LANGE, K. W. et al. The history of attention deficit hyperactivity disorder. **ADHD Attention Deficit and Hyperactivity Disorders**, v. 2, n. 4, p. 241–255, 30 nov. 2010.

LARA, M. Análise inter-hemisférica das oscilações cerebrais e de correlatos neuroquímicos em ambos os sexos do modelo murino do Transtorno de Déficit de Atenção e Hiperatividade (TDAH). Dissertação (Mestrado em Bioquímica) - **Universidade Federal do Rio Grande do Sul**. Instituto de Ciências Básicas da Saúde. Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas: Bioquímica. 2022

LATGE, C. et al. The Solution Structure and Dynamics of Full-length Human Cerebral Dopamine Neurotrophic Factor and Its Neuroprotective Role against  $\alpha$ -Synuclein Oligomers. **Journal of Biological Chemistry**, v. 290, n. 33, p. 20527–20540, ago. 2015.

LEE, D.; MINKO, T. Nanotherapeutics for Nose-to-Brain Drug Delivery: An Approach to Bypass the Blood Brain Barrier. **Pharmaceutics**, v. 13, n. 12, p. 2049, 30 nov. 2021.

LEE, Y. H.; SONG, G. G. BDNF 196 G/A and COMT Val158Met Polymorphisms and Susceptibility to ADHD: A Meta-Analysis. **Journal of Attention Disorders**, v. 22, n. 9, p. 872–877, 17 fev. 2015.

LEMO, A. K.; COIMBRA, C. C. G. DA R.; DEUS, D. M. V. DE. Atualizações sobre o sistema dopaminérgico: neuroplasticidade, adolescência, envolvimento com Esquizofrenia, Transtorno Obsessivo Compulsivo e TDAH. **Revista Hum@nae**, v. 18, n. 1, 6 fev. 2024.

LEÓN-BARRIERA, R. et al. Treating ADHD and Comorbid Anxiety in Children: A Guide for Clinical Practice. **Clinical Pediatrics**, v. 62, n. 1, p. 000992282211112, 19 jul. 2022.

LEVY, F. The dopamine theory of attention deficit hyperactivity disorder (ADHD). **The Australian and New Zealand journal of psychiatry**, v. 25, n. 2, p. 277–283, 1991.

LI, H. et al. Sex-specific association of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) Val66Met polymorphism and plasma BDNF with attention-deficit/hyperactivity disorder in a drug-naïve Han Chinese sample. **Psychiatry Research**, v. 217, n. 3, p. 191–197, jul. 2014.

LIGHTFOOT, J. T. Sex Hormones' Regulation of Rodent Physical Activity: A Review. **International Journal of Biological Sciences**, p. 126–132, 2008.

LINDAHL M. et al. Unconventional neurotrophic factors CDNF and MANF: Structure, physiological functions and therapeutic potential. **Neurobiol Dis**, v. 97, p. 90-102. 2017.

LINDHOLM, P. et al. Novel neurotrophic factor CDNF protects and rescues midbrain dopamine neurons in vivo. **Nature**, v. 448(7149), p. 73-77. 2007.

LOPES, S. C. Administração intranasal do fator neurotrófico de dopamina cerebral (CDNF) como estratégia terapêutica na doença de Parkinson. 2019. 185 p. Tese (Doutorado em Farmacologia) — **Universidade Federal de Santa Catarina**, Centro de Ciências Biológicas, Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, Florianópolis, 2019.

MADUREIRA, D. Q. M.; CARVALHO, L. A. V. DE; CHENIAUX, E. Modelagem neurocomputacional do circuito tálamo-cortical: implicações para compreensão do transtorno

de déficit de atenção e hiperatividade. **Arquivos de Neuro-Psiquiatria**, v. 65, n. 4a, p. 1043–1049, dez. 2007.

MARQUES, D. M. Análise neuroquímica e morfométrica de culturas de neurônios corticais do modelo murino do TDAH. Dissertação (Mestrado em Bioquímica) – Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas: Bioquímica, **Universidade Federal do Rio Grande do Sul**, Porto Alegre, 2018.

MCKINNEY, W. T.; BUNNEY, W. E. Animal Model of Depression. **Archives of General Psychiatry**, v. 21, n. 2, p. 240, 1 ago. 1969.

MICHELINI, G. et al. Aetiological overlap between anxiety and attention deficit hyperactivity symptom dimensions in adolescence. **Journal of Child Psychology and Psychiatry**, v. 56, n. 4, p. 423–431, 8 set. 2014.

MIGNANI, S. et al. Non-invasive intranasal administration route directly to the brain using dendrimer nanoplateforms: An opportunity to develop new CNS drugs. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 209, p. 112905, jan. 2021.

MILBERGER, S. et al. Attention deficit hyperactivity disorder and comorbid disorders: issues of overlapping symptoms. **American Journal of Psychiatry**, v. 152, n. 12, p. 1793–1799, dez. 1995.

MORMÈDE, P. et al. Marker-assisted selection of a neuro-behavioural trait related to behavioural inhibition in the SHR strain, an animal model of ADHD. **Genes, Brain and Behavior**, v. 1, n. 2, p. 111–116, 25 abr. 2002.

NIGG, J. T.; GOLDSMITH, H. H.; SACHEK, J. Temperament and Attention Deficit Hyperactivity Disorder: The Development of a Multiple Pathway Model. **Journal of Clinical Child & Adolescent Psychology**, v. 33, n. 1, p. 42–53, fev. 2004.

NUNES, F. et al. Differential Behavioral and Biochemical Responses to Caffeine in Male and Female Rats from a Validated Model of Attention Deficit and Hyperactivity Disorder. **Molecular Neurobiology**, v. 55, n. 11, p. 8486–8498, 1 nov. 2018.

OKAMOTO, K.; AOKI, K. Development of a Strain of Spontaneously Hypertensive Rats. **Japanese Circulation Journal**, v. 27, n. 3, p. 282–293, 1963.

PACHECO, P. V. A influência do fator neurotrófico derivado do cérebro e dos exercícios físicos sobre a neuroplasticidade após acidente vascular encefálico. **repositorio.ufmg.br**, 3 fev. 2009.

PALLANTI, S.; SALERNO, L. **The Burden of Adult ADHD in Comorbid Psychiatric and Neurological Disorders**. Cham: Springer International Publishing, 2020. <https://doi.org/10.1007/978-3-030-39051-8>. This is a chapter of a book describing the diagnostic and treatment challenges associated with ADHD and anxiety disorder comorbidity

PANDOLFO, P. et al. Increased sensitivity of adolescent spontaneously hypertensive rats, an

animal model of attention deficit hyperactivity disorder, to the locomotor stimulation induced by the cannabinoid receptor agonist WIN 55,212-2. *European Journal of Pharmacology*, v. 563, p. 141–148. 2007.

PARK, H. et al. Temperament and characteristics related to attention deficit/hyperactivity disorder symptoms. *Comprehensive Psychiatry*, v. 70, p. 112–117, out. 2016.

PARKASH, V. et al. The structure of the conserved neurotrophic factors MANF and CDFN explains why they are bifunctional. *Protein Eng Des Sel*, v. 22(4), p. 233–241. 2009.

PERRIN, S.; LAST, C. G. Relationship between ADHD and Anxiety in Boys: Results from a Family Study. *Journal of the American Academy of Child & Adolescent Psychiatry*, v. 35, n. 8, p. 988–996, ago. 1996.

PIRES, V. A. et al. Chronic caffeine treatment during prepubertal period confers long-term cognitive benefits in adult spontaneously hypertensive rats (SHR), an animal model of attention deficit hyperactivity disorder (ADHD). *Behavioural Brain Research*, v. 215, n. 1, p. 39–44, 20 dez. 2010.

PLISZKA, S. R. ADHD and Anxiety: Clinical Implications. *Journal of Attention Disorders*, v. 23, n. 3, p. 203–205, 9 jan. 2019.

POLANCZYK, G. et al. The Worldwide Prevalence of ADHD: A Systematic Review and Meta-regression Analysis. *American Journal of Psychiatry*, v. 164, n. 6, p. 942–948, 1 jun. 2007.

POLDERMAN, T. J. C. et al. Meta-analysis of the heritability of human traits based on fifty years of twin studies. *Nature Genetics*, v. 47, n. 7, p. 702–709, 18 maio 2015.

PORSOLT, R. D. et al. Behavioural despair in rats: a new model sensitive to antidepressant treatments. *Eur J Pharmacol*, v. 47, n. 4, p. 379–91, 1978.

PORTELLA, G. Revisão bibliográfica de artigos com ratos espontaneamente hipertensivos (SHR) em pesquisas de modelo animal de TDAH. 2020. 97 f. Dissertação (Mestrado em Psicologia Experimental) - Programa de Estudos Pós-Graduados em Psicologia Experimental: Análise do Comportamento, **Pontifícia Universidade Católica de São Paulo**, São Paulo, 2020.

PREDIGER R. D. S. et al. Single Intranasal Administration of 1-Methyl-4-Phenyl 1,2,3,6-Tetrahydropyridine in C57BL/6 Mice Models Early Preclinical Phase of Parkinson's Disease. *Neurotox Res*, v. 17, p. 114–129. 2010.

PREDIGER R. D. S. et al. The risk is in the air: Intranasal administration of MPTP to rats reproducing clinical features of Parkinson's disease. *Experimental Neurology*, v. 202, p. 91–403. 2006.

PREDIGER R. D. S. et al. Risk is in the Air An Intranasal MPTP (1-Methyl-4-Phenyl 1,2,3,6-Tetrahydropyridine) Rat Model of Parkinson's Disease. *International Symposium on Olfaction and Taste: Ann. N.Y. Acad. Sci.*, v. 1170, p. 629–636. 2009.

PRUT, L. AND C. BELZUNG. The open field as a paradigm to measure the effects of drugs on anxiety-like behaviors: a review. **Eur J Pharmacol**, v. 463(1-3), p. 3-33. 2003.

RAMOS, A.; MORMÈDE, P. Stress and emotionality: a multidimensional and genetic approach. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 22, n. 1, p. 33–57, dez. 1997.

REGAN, S. L.; WILLIAMS, M. T.; VORHEES, C. V. Review of rodent models of attention deficit hyperactivity disorder. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 132, p. 621–637, jan. 2022.

REIMHERR, F. W. et al. ADHD and Anxiety: Clinical Significance and Treatment Implications. **Current Psychiatry Reports**, v. 19, n. 12, 20 nov. 2017.

RUSSELL, V. A. et al. Methylphenidate affects striatal dopamine differently in an animal model for attention-deficit/hyperactivity disorder—the spontaneously hypertensive rat. **Brain Research Bulletin**, v. 53, n. 2, p. 187–192, set. 2000.

RUSSELL, V. A.; SAGVOLDEN, T.; JOHANSEN, E. Animal models of attention-deficit hyperactivity disorder. **Behavioral and Brain Functions**, v. 1, n. 1, p. 9, 2005.

RUSSELL, V. et al. Differences between electrically-, ritalin- and d-amphetamine-stimulated release of [3H]dopamine from brain slices suggest impaired vesicular storage of dopamine in an animal model of Attention-Deficit Hyperactivity Disorder. **Behavioural Brain Research**, v. 94, n. 1, p. 163–171, jul. 1998.

S. HERSH, D. et al. Evolving Drug Delivery Strategies to Overcome the Blood Brain Barrier. **Current Pharmaceutical Design**, v. 22, n. 9, p. 1177–1193, 4 mar. 2016.

SAGVOLDEN, T. Behavioral validation of the spontaneously hypertensive rat (SHR) as an animal model of attention-deficit/hyperactivity disorder (AD/HD). **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 24, n. 1, p. 31–39, jan. 2000.

SAJDYK, T. J.; SCHOBBER, D. A.; GEHLERT, D. R. Neuropeptide Y receptor subtypes in the basolateral nucleus of the amygdala modulate anxiogenic responses in rats. **Neuropharmacology**, v. 43, n. 7, p. 1165–1172, dez. 2002.

SCASSELLATI, C. et al. Serum brain-derived neurotrophic factor (BDNF) levels in attention deficit–hyperactivity disorder (ADHD). **European Child & Adolescent Psychiatry**, v. 23, n. 3, p. 173–177, 28 jun. 2013.

SCHATZ, D. B.; ROSTAIN, A. L. ADHD With Comorbid Anxiety. **Journal of Attention Disorders**, v. 10, n. 2, p. 141–149, nov. 2006.

SEBBEN, A, et al. Efeito de fatores neurotróficos sobre o reparo de nervo periférico. **Scientia Medica**, [S. l.], v. 21, n. 2, p. 81–89, 2011.

SHIM, S.-H. et al. Increased levels of plasma brain-derived neurotrophic factor (BDNF) in

children with attention deficit-hyperactivity disorder (ADHD). **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, v. 32, n. 8, p. 1824–1828, dez. 2008.

SHIM, S.-H. et al. Increased levels of plasma glial-derived neurotrophic factor in children with attention deficit hyperactivity disorder. **Nordic Journal of Psychiatry**, v. 69, n. 7, p. 546–551, 9 mar. 2015.

SOARES, B. S. Efeitos da administração intranasal de MPTP em ratas SHR, SLA16 e Wistar: Influência de fatores genéticos e ambientais em um modelo animal da doença de Parkinson. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia) – **Universidade Federal de Santa Catarina**, Centro de Ciências da Saúde, Florianópolis, 29 nov. 2018

SOUZA, R. V. Avaliação de endofenótipos do transtorno de déficit de atenção e hiperatividade em ratas das linhagens SHR e SLA16. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia) – **Universidade Federal de Santa Catarina**, Centro de Ciências da Saúde, Florianópolis, 2018.

SPECK, A. E et al. Treadmill Exercise Attenuates L-DOPA-Induced Dyskinesia and Increases Striatal Levels of Glial Cell-Derived Neurotrophic Factor (GDNF) in Hemiparkinsonian Mice. **Molecular Neurobiology** v. 56, p. 2944–2951. 2019.

SQUARIZ, J. Investigação dos efeitos do metilfenidato em um modelo genético relacionado à endofenótipos do TDAH. Dissertação (Mestrado em Biologia Celular e do Desenvolvimento) – **Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Biológicas**, Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e do Desenvolvimento, Florianópolis, 2018.

TANG, T. et al. Cerebral dopamine neurotrophic factor: A potential therapeutic agent for Parkinson's disease. **Neuroscience bulletin**, v. 33, n. 5, p. 568–575, 2017.

Tannock R. Attention deficit disorders with anxiety disorders. In: Brown TE, editor. Attention-deficit disorders and comorbidities in children, adolescents and adults. New York: American Psychiatric Press; 2000. p. 125–75.

THAPAR, A. et al. Practitioner Review: What have we learnt about the causes of ADHD? **Journal of Child Psychology and Psychiatry**, v. 54, n. 1, p. 3–16, 11 set. 2013.

TRIPP, G.; WICKENS, J. R. Neurobiology of ADHD. **Neuropharmacology**, v. 57, n. 7-8, p. 579–589, dez. 2009.

TSAL, S.-J. Role of neurotrophic factors in attention deficit hyperactivity disorder. **Cytokine & Growth Factor Reviews**, v. 34, p. 35–41, abr. 2017.

VILAR M. AND MIRA H. Regulation of neurogenesis by neurotrophins during adulthood: expected and unexpected roles. **Front Neurosci**, v. 10, p. 26. 2016.

WEISS, M.; GIBBINS, C.; HUNTER, J. D. Attention-deficit hyperactivity disorder and anxiety disorders in adults. **Cambridge University Press eBooks**, p. 130–137, 20 jul. 2011.

WILLNER, P. Validation criteria for animal models of human mental disorders: Learned

helplessness as a paradigm case. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, v. 10, n. 6, p. 677–690, jan. 1986.

YOON, S. Y. et al. Oroxylin A improves attention deficit hyperactivity disorder-like behaviors in the spontaneously hypertensive rat and inhibits reuptake of dopamine in vitro. **Archives of Pharmacal Research**, v. 36, n. 1, p. 134–140, jan. 2013.

YURTERI, N., ŞAHİN, İ. E., & TUFAN, A. E. (2019). Altered serum levels of vascular endothelial growth factor and glial-derived neurotrophic factor but not fibroblast growth factor-2 in treatment-naive children with attention deficit/hyperactivity disorder. **Nordic Journal of Psychiatry**. v. 73, n. 4-5, p. 302–307, 7 jun. 2019.

ZHANG, J. et al. Peripheral brain-derived neurotrophic factor in attention-deficit/hyperactivity disorder: A comprehensive systematic review and meta-analysis. **Journal of Affective Disorders**, v. 227, p. 298–304, 1 fev. 2018.