



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
Curso de Graduação Farmácia-Bioquímica

LETÍCIA NAHES DE ARAÚJO

**AVALIAÇÃO DO ATOSIBAN NAS RESPOSTAS DE ANSIEDADE INDUZIDAS
PELO ESTRESSE PSICOSSOCIAL EM RATOS**

Araraquara, SP

2024

LETÍCIA NAHES DE ARAÚJO

**AVALIAÇÃO DO ATOSIBAN NAS RESPOSTAS DE ANSIEDADE INDUZIDAS
PELO ESTRESSE PSICOSSOCIAL EM RATOS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Graduação em Farmácia Bioquímica da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara, da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, para obtenção do grau de Farmacêutica Bioquímica.

Orientador: Prof. Dr. Carlos Cesar Crestani.
Coorientador: Dr. Lucas Canto de Souza.

Araraquara, SP

2024

A663a Araújo, Letícia Nahes de.
Avaliação do atosiban nas respostas de ansiedade induzidas
pelo estresse psicossocial em ratos / Letícia Nahes de Araújo. –
Araraquara, 2024.
31 f. : il.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação – Farmácia
Bioquímica) – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita
Filho”. Faculdade de Ciências Farmacêuticas.

Orientador: Carlos Cesar Crestani.
Coorientador: Lucas Canto de Souza.

1. Ansiedade. 2. Estresse psicossocial. 3. Ocitocina. I. Crestani,
Carlos Cesar, orient. II. Souza, Lucas Canto de, coorient. III. Título.

LETÍCIA NAHES DE ARAÚJO

**AVALIAÇÃO DO ATOSIBAN NAS RESPOSTAS DE ANSIEDADE INDUZIDAS
PELO ESTRESSE PSICOSSOCIAL EM RATOS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Graduação em Farmácia Bioquímica da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara, da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, para obtenção do título de Bacharel em Farmácia-Bioquímica.

Data da defesa: 09/12/2024.

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Carlos Cesar Crestani.
UNESP - Faculdade de Ciências Farmacêuticas - Campus de Araraquara

Dr. Lucas Canto de Souza.
UNESP - Faculdade de Ciências Farmacêuticas - Campus de Araraquara

Doutora Lígia Renata Rodrigues Tavares.
UNESP - Faculdade de Ciências Farmacêuticas - Campus de Araraquara

Mestre Julian Humberto Avalo Zuluaga.
UNESP - Faculdade de Ciências Farmacêuticas - Campus de Araraquara

DEDICATÓRIA

Dedico o presente trabalho a todos que me apoiaram e me ajudaram, desde a escolha até a caminhada realizada para finalizar o curso, principalmente minha família e amigos. Dedico também à minha avó Euzenir, que vive em cada lembrança e em cada sorriso que compartilhamos.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente gostaria de agradecer minha família, por sempre me darem apoio não só nos momentos difíceis enfrentados ao longo da graduação mais também em todos os momentos vividos. Agradecer meus pais, Luciana e César, por possibilitarem que eu estude em outra cidade e realizar o sonho de estudar Farmácia na UNESP. Agradeço a minha irmã Natália, por me apoiar mesmo que a distância, e ao meu avô Wilson que sempre torceu por mim.

Agradeço também aos meus amigos, antigos e os novos que ganhei durante a graduação. Vocês tornaram esses anos muito especiais para mim, e sempre lembrarei dos momentos, bons e maus, que vivemos juntos. Obrigada por tudo.

Por fim, agradeço ao laboratório de Farmacologia da FCFar, por me permitir realizar este presente trabalho. Agradeço principalmente ao meu orientador, Prof. Dr. Carlos Cesar Crestani, ao meu coorientador, Prof. Dr. Lucas Canto de Souza, e a Profa. Dra. Daniela Baptista de Souza, os quais foram extremamente importantes para minha vida acadêmica e profissional.

RESUMO

O estresse psicossocial é considerado um fator de risco para o surgimento e agravamento de diversas doenças que culminam em prejuízos duradouros à saúde, como transtornos de ansiedade. Há evidências de que a ocitocina (OCT) participa da regulação de comportamentos relacionados às emoções, como na ansiedade e comportamento social. Diante disso, esta proposta visou investigar o possível envolvimento do receptor de OCT no comportamento social e relacionados à ansiedade em ratos expostos ao modelo crônico de estresse de derrota social. Para este fim, testamos os efeitos do tratamento sistêmico (intraperitoneal) do atosiban (antagonista do receptor de OCT) (0,01, 0,1 e 1,0 mg/kg) nas respostas de evitação social e relacionados à ansiedade através dos testes de interação social (TIS) e do labirinto em cruz elevado, respectivamente. Os resultados demonstraram que o estresse de derrota social e as diferentes doses do atosiban não induziram diferenças significativas em relação à evitação social avaliada no TIS. No entanto, o protocolo experimental foi capaz de induzir comportamentos do tipo ansiogênico, que foi revertido com as maiores doses do ATO em animais avaliados no labirinto em cruz elevado.

Palavras-chave: ansiedade; estresse psicossocial; ocitocina.

ABSTRACT

Psychosocial stress is considered a risk factor for the onset and exacerbation of various diseases, culminating in long-lasting health impairments, such as anxiety disorders. There is evidence that oxytocin (OT) is involved in the regulation of emotion-related behaviors, such as anxiety and social behavior. In view of this, this study aimed to investigate the possible involvement of the OT receptor in social and anxiety-related behaviors in rats exposed to a chronic social defeat stress model. To this end, we tested the effects of systemic (intraperitoneal) treatment with atosiban (OT receptor antagonist) (0.01, 0.1, and 1.0 mg/kg) on social avoidance and anxiety-related responses using the social interaction test (SIT) and elevated plus maze, respectively. The results showed that social defeat stress and the different doses of atosiban did not induce significant differences in social avoidance as assessed by the SIT. However, the experimental protocol was able to induce anxiogenic-like behaviors, which was reversed by the highest doses of ATO in animals evaluated in the elevated plus maze.

Keywords: anxiety; psychosocial stress; oxytocin.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Esquema representativo do EDS.....	20
Figura 2 – Esquema representativo do testemunho de INA.....	20
Figura 3 – Esquema representativo do TIS.....	21
Figura 4 – Esquema representativo do LCE.....	22
Figura 5 – Esquema representativo do protocolo experimental.....	23
Figura 6 – Efeito do tratamento avaliado no TIS.....	25
Figura 7 – Efeito do tratamento avaliado no LCE.....	26

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ATO	Atosiban
BA	Braço Aberto
BF	Braço Fechado
CEUA	Comitê de Ética no Uso de Animais
CONCEA	Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal
CPFm	Córtex Pré-Frontal medial
EBA	Entradas no Braço Aberto
EDS	Estresse de Derrota Social
F	Rato Familiar
FCFAr	Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara
HPA	Hipotálamo-Pituitária-Adrenal
I	Rato Intruso
INA	Interação Não-Agressiva
LCE	Labirinto em Cruz Elevado
PVN	Núcleo Paraventricular
OCT	Ocitocina
R	Rato Residente
SAL	Solução Salina
SON	Núcleo Supraóptico
SNC	Sistema Nervoso Central
TAS	Transtorno de Ansiedade Social
TBA	Tempo no Braço Aberto
TIS	Teste de Interação Social
UNESP	Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho"
ZA	Zona de Afastamento
ZI	Zona de Interação

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
2	JUSTIFICATIVA	17
3	OBJETIVO.....	18
4	MATERIAL E MÉTODOS	19
4.1	ANIMAIS.....	19
4.2	DROGAS.....	19
4.3	ESTRESSE DE DERROTA SOCIAL (EDS)	19
4.4	TESTE DE INTERAÇÃO SOCIAL (TIS)	21
4.5	LABIRINTO EM CRUZ ELEVADO (LCE)	22
4.6	PROTOCOLO EXPERIMENTAL	22
4.7	ÉTICA.....	23
4.8	ANÁLISE ESTATÍSTICA	24
5	RESULTADOS	25
6	DISCUSSÃO	27
7	CONCLUSÃO.....	30
	REFERÊNCIAS.....	31

1. INTRODUÇÃO

O estresse pode ser definido como uma condição que perturba o equilíbrio fisiológico de indivíduos (McEwen, 2012), que pode gerar consequências como dor de cabeça, distúrbios do sono, dificuldade de concentração, depressão e ansiedade. É importante ressaltar que a capacidade do indivíduo de se adaptar ou não em resposta ao estresse depende de fatores como a idade do indivíduo e a natureza do evento estressor (Gee; Casey, 2015). Segundo Ramon M. Cosenza (2021), o estresse pode ser classificado em eustress, quando ele é um bom estresse, que nos mobiliza e prepara para enfrentar rapidamente situações significativas e concretas sendo uma crise passageira, que após o estímulo desaparecer, ocorre um retorno à fisiologia normal do organismo. Outra classificação é em distress, quando ele provoca desequilíbrio e patologias, podendo ser contínuo e motivado principalmente por mecanismos psicológicos ou situações como conflitos sociais. É importante ressaltar que o distress pode ser originado quando o eustress se prolonga de maneira excessiva, e que ele apresenta relação com outros transtornos psiquiátricos como ansiedade e depressão (Cosenza, 2021).

Em relação à ansiedade, estudos mostram que um terço da população poderá ser acometida por transtornos de ansiedade ao longo da vida (Bandelow; Michaelis, 2015), sendo ela considerada a mais prevalente entre os transtornos mentais. A ansiedade pode ser compreendida como um estado emocional subjetivo de apreensão ou tensão, que pode ser desagradável ou ameaçadora, onde a ameaça pode ser apenas uma antecipação a um perigo que nem sempre é real, e podendo continuar mesmo na ausência de um perigo (Nardi; Quevedo; Da Silva, 2014). No entanto, é importante ressaltar que a ansiedade também pode ser compreendida como um estado emocional essencial, visto que, determinado nível de ansiedade é considerado necessário para o bom desempenho em tarefas de natureza motora e cognitiva (Graeff *et al.*, 2003). Sendo assim, é entendido que a ansiedade patológica se difere da fisiológica pelas respostas emocionais exageradas e disfuncionais, onde o indivíduo apresenta uma sensação de perda de controle (Rosen; Schulkin, 1980).

De acordo com Ramon M. Cosenza (2021), a ansiedade é considerada um fenômeno do estresse, que pode vir associada a sintomas físicos, como falta de ar, palpitações, tonturas ou dores de cabeça. Ele também define que a ansiedade pode ser aprendida implicitamente, onde um estímulo que não provocava uma resposta se

associa com outro que tem esse poder, sendo que essa associação costuma ser feita sem envolver os processos conscientes, o que resulta na não identificação da causa desencadeante de sua ansiedade (Cosenza, 2021). Em situações em que a ansiedade é mais constante e persistente, pode-se gerar transtornos de ansiedade (ex. social, generalizada, fobias, transtorno de pânico) como descrito no Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais (DSM-5, 2022).

Um outro conceito derivado da ansiedade é o transtorno de ansiedade social (TAS), a qual pode ser definido como um medo persistente de estar em situações possivelmente consideradas embaraçosas pelo sujeito (Nardi; Quevedo; Da Silva, 2014), sendo voltado principalmente para circunstâncias e situações pré-existentes, originadas provavelmente de uma situação traumática, as quais o indivíduo tende a evitar. Alguns dos sintomas apresentados por indivíduos com transtorno de ansiedade social são náuseas, ataques de pânico, reações de *freezing*, ou congelamento, esquecimentos e rubor na pele, sendo que a ansiedade social é classificada como patológica quando ocorre o comprometimento na funcionalidade do indivíduo, gerando prejuízos no âmbito profissional e pessoal. A etiologia do transtorno de ansiedade social abrange diversos fatores, entre eles estão experiências sociais negativas, ativação excessiva da amígdala, e desequilíbrio hormonal sendo que, por exemplo, o desequilíbrio da serotonina está ligado com uma maior propensão de desenvolvimento de transtorno de ansiedade social (Nardi; Quevedo; Da Silva, 2014).

A OCT é um neuropeptídeo que possui ação central e periférica, e que é sintetizado por neurônios localizados nos núcleos hipotalâmicos paraventricular (PVN) e supraóptico (SON) e liberado na circulação sistêmica a partir da neuro-hipófise (Swanson; Sawchenko, 1983), ela também foi um dos primeiros neuropeptídeo a ter sua estrutura determinada e a ser sintetizado quimicamente (Du Vigneaud; Ressler; Trippett, 1953). Mediante ao fato de que a OCT está amplamente distribuída no sistema nervoso central (SNC), ela atua como neurotransmissor e desempenha importante papel na regulação de comportamentos relacionados às emoções (Yoon; Kim, 2020), como na ansiedade e na modulação do estresse. Além disso, em roedores a OCT atenua comportamentos do tipo ansioso e seu efeito ansiolítico pode estar relacionado com as ações desse neuropeptídeo em regiões como a amígdala, núcleo mediano da rafe, núcleo acumbente e hipocampo (Ayers *et al.*, 2011; Sabihi *et al.*, 2017).

A respeito dos receptores de ocitocina, estes estão amplamente distribuídos no corpo humano, como no SNC, sistema nervoso periférico e no coração (Russell; Leng; Douglas, 2003). Sendo assim, esses receptores são potenciais alvos para intervenções farmacoterapêuticas. De acordo com Gimpl e Fahrenholz, os receptores de ocitocina pertencem a família de receptores acoplados à proteína G de classe I, e eles compreendem diferentes subunidades, como Gq, Gi e Gs (Thakur; Shrivastava; Shrivastava, 2019). Em relação aos ratos, áreas relacionadas com o comportamento social e a regulação do sistema nervoso autônomo como o sistema olfatório, os gânglios da base, o sistema límbico, o córtex pré-límbico, o tálamo, o hipotálamo, o tronco cerebral e a medula espinal, possuem altas concentrações do receptor de ocitocina (Gimpl; Fahrenholz, 2001). O atosiban é um peptídeo sintético o qual é antagonista do receptor da ocitocina, possuindo licença para ser utilizado na Europa para o tratamento de parto prematuro (Kim *et al.*, 2019). Segundo os estudos, uma possível explicação para o seu risco de toxicidade ser baixo é em razão da curta duração da ação e à curta meia-vida do atosiban (Cabar *et al.*, 2008).

Com base no que foi discutido e tendo em vista o fato de que modelos animais são eficazes para se compreender os comportamentos relacionados com estímulos estressores, a utilização do modelo animal de estresse de derrota social (EDS) possibilita investigar a resposta a estressores, além do entendimento da neurobiologia da resposta ao estresse social (Faria; Laverde; Nunes-de-Souza, 2020; Victoriano *et al.*, 2020). Sendo assim, para avaliar os resultados do protocolo de EDS em roedores, o qual é responsável por causar efeitos em comportamentos relacionados à ansiedade e à evitação social (Czéh *et al.*, 2007; Deslauriers *et al.*, 2018), são utilizados testes comportamentais, como o labirinto em cruz elevado (LCE) e o teste de interação social (TIS). Através do TIS é possível avaliar o comportamento do tipo ansioso ao se calcular a razão de interação social dos animais que sofreram a derrota no EDS (Moraes-Silva *et al.*, 2019). Já o LCE é um teste comportamental que permite inferir comportamentos relacionados à ansiedade através da quantificação de parâmetros como porcentagens de entradas e porcentagens de tempo gasto nos braços abertos, e os índices da locomoção com base na frequência de entradas nos braços fechados (Carobrez; Bertoglio, 2005).

O presente trabalho teve como hipótese que a administração do atosiban, um antagonista de OCT, geraria um prejuízo na interação social, acompanhado da

diminuição na exploração dos braços abertos do LCE em animais submetidos ao EDS, e que os efeitos do estressor seriam intensificados ao bloquearmos os receptores de OCT.

2. JUSTIFICATIVA

Os transtornos de ansiedade apresentam alta prevalência podendo acometer aproximadamente um terço da população ao longo da vida. Recentemente, devido à pandemia da síndrome respiratória aguda grave causada pelo coronavírus 2 (SARS-CoV-2), os índices desses transtornos aumentaram significativamente no Brasil (Goularte *et al.*, 2021). Diante disso, torna-se importante investigar e entender como a ansiedade patológica pode se desenvolver e quais fatores influenciam esse comportamento para que assim a sociedade possa ter abordagens e tratamentos cada vez mais adequados.

3. OBJETIVO

Investigar os efeitos do tratamento sistêmico com antagonista do receptor de OCT (atosiban) na evitação social e ansiedade induzidas pelo EDS crônico.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. ANIMAIS

Ratos machos das linhagens Wistar e Long-Evans foram adquiridos do Biotério Central da UNESP (Botucatu, SP), transferidos e mantidos no biotério do Laboratório de Farmacologia da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara (FCFAR-UNESP) sob condições controladas de temperatura (23 ± 2 °C). Os animais tiveram acesso livre à ração e água, e foram submetidos à alternância de luz (12h claro/12h escuro). Todos os procedimentos e protocolos experimentais foram realizados durante a fase escura do ciclo claro/escuro dos animais e foram aprovados pelo Comitê de Ética de Uso de Animais (CEUA) da Faculdade de Ciências Farmacêuticas, UNESP (FCFAR-UNESP) com o Número de registro da autorização: 16/2022.

4.2. DROGAS

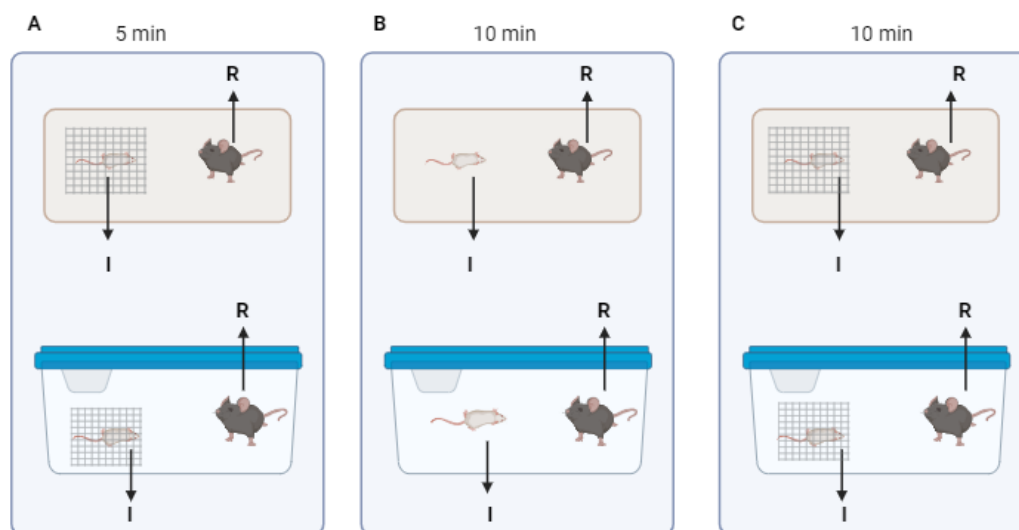
O atosiban (antagonista do receptor de OCT; Sigma-Aldrich, A3480) (0,01, 0,1 e 1 mg/kg; i.p.) foi preparado em solução salina estéril (NaCl 0.9%), que foi utilizada como controle (2 ml/kg).

4.3. ESTRESSE DE DERROTA SOCIAL (EDS)

O protocolo intruso-residente foi realizado de acordo com o descrito na literatura (Moraes-Silva *et al.*, 2019). O protocolo de EDS (Figura 1) se baseia no princípio de que animais denominados intrusos (ratos machos da linhagem Wistar) foram expostos à caixa-moradia de um animal residente agressivo não-familiar (ratos machos da linhagem Long-Evans). A derrota durou 25 minutos, divididos em três fases: fase de incitação, onde o intruso foi colocado na caixa do agressor por 5 minutos, em uma gaiola protegida dos ataques do residente; fase da derrota, onde o intruso foi retirado da gaiola protetora e exposto aos ataques do residente por 10 minutos; fase pós-derrota, onde o intruso retornou ao compartimento protegido e permaneceu 10 minutos na caixa do residente. Em seguida, o intruso retornou à sua caixa-moradia. Os episódios de derrota ocorreram em um intervalo de 48 horas ao longo de 7 dias, e os episódios foram realizados durante a fase escura do ciclo de luz. Sendo assim, cada intruso passou por quatro sessões de estresse, sendo cada

uma com um residente agressor não-familiar diferente. O grupo controle foi exposto a um procedimento semelhante, exceto que os animais passaram pela interação não-agressiva (INA) por meio do contato com um rato não-agressor e familiar (Figura 2).

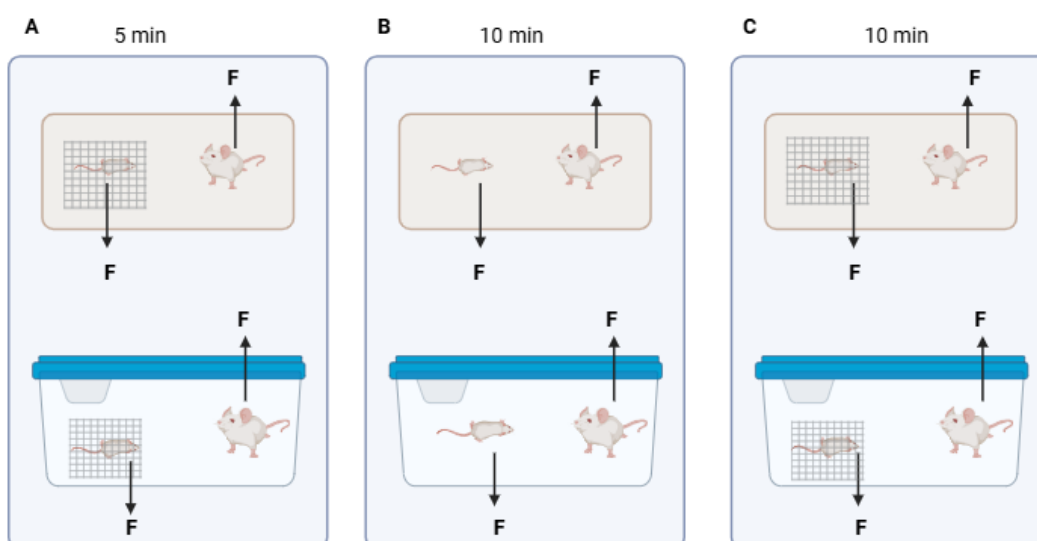
Figura 1. Esquema representativo do estresse de derrota social (EDS).



Legenda: A: fase de iniciação. B: fase de derrota. C: fase pós derrota. R: Rato residente. I: Rato intruso.

Fonte: imagem criada com BioRender.

Figura 2. Esquema representativo do grupo controle durante o testemunho de uma interação não-agressiva.



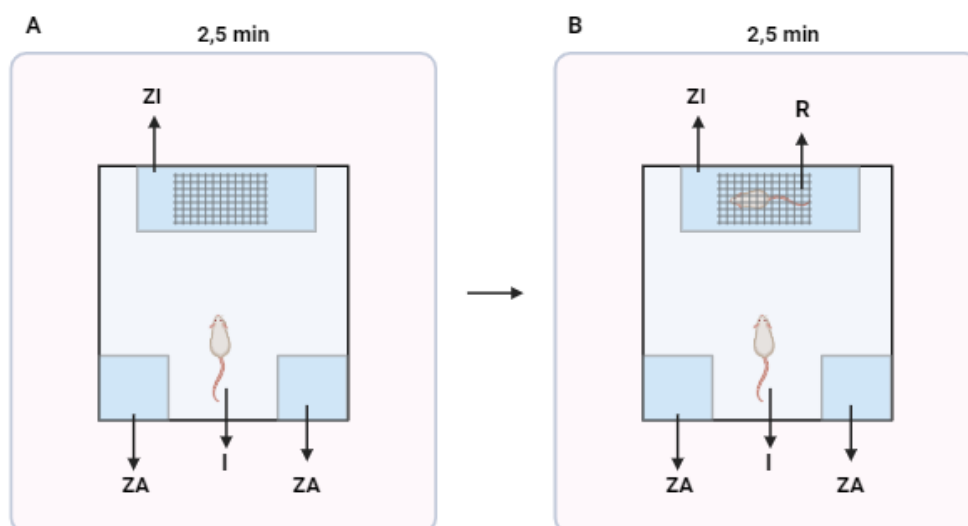
Legenda: F: Rato familiar.

Fonte: imagem criada com BioRender.

4.4. TESTE DE INTERAÇÃO SOCIAL (TIS)

Vinte quatro horas após a última sessão de EDS, os ratos intrusos passaram por um teste de interação social, onde a arena de interação, formada por uma caixa opaca de acrílico de paredes e assoalho pretos ($80 \times 80 \times 25$ cm), que possui uma caixa de contenção de acrílico (alvo, $20 \times 15 \times 24$ cm) centralizada em uma das paredes, na qual foi colocado o animal residente. A arena foi dividida em uma zona de interação (ZI: projetada a 15 cm em torno da caixa de contenção) e duas zonas de afastamento (áreas mais afastadas, medindo 15×15 cm cada, e situadas nos cantos opostos à caixa de contenção). O animal intruso foi colocado no centro da arena que está sem o alvo, podendo explorar todo o ambiente por 150 segundos. Em seguida, o rato intruso foi retirado da arena e um residente não-agressor desconhecido foi colocado na caixa de contenção (alvo). Na sequência, o intruso foi colocado novamente na arena por mais 150 segundos (Figura 3), para avaliação do comportamento de interação social. O experimento foi filmado e gravado por meio de uma câmera, para posterior análise do comportamento por meio do programa ANYMaze. A razão da interação social foi calculada através do tempo gasto na ZI com o alvo dividido pelo tempo gasto na ZI sem alvo.

Figura 3. Esquema representativo do TIS. R: Rato residente.



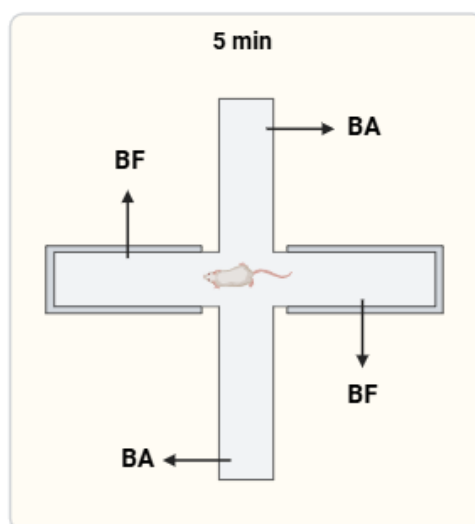
Legenda: I: Rato intruso. ZA: Zona de afastamento. ZI: Zona de interação.

Fonte: imagem criada pelo BioRender.

4.5. LABIRINTO EM CRUZ ELEVADO (LCE)

Vinte quatro horas após o TIS, os animais foram testados no LCE, o qual é formado por duas plataformas, elevadas 50 cm do chão, posicionadas de maneira perpendicular e consistindo em dois braços fechados (50 cm×10 cm) e dois abertos (50 cm × 10 cm) unidos por uma plataforma central (10 × 10 cm). Para a realização do teste, cada animal foi colocado no centro do LCE, com a cabeça voltada para um dos braços fechados, podendo explorar livremente o aparato por um período de 5 minutos, enquanto foram registrados os índices convencionais de ansiedade (entradas e tempo gasto nos braços abertos do aparelho) e locomoção (frequência de entradas nos braços fechados) (Figura 4). O experimento foi filmado e gravado por meio de um sistema de filmagem, para posterior análise dos índices convencionais de ansiedade, através das porcentagens de entradas e porcentagem de tempo gasto nos braços abertos, e da locomoção através da frequência de entradas nos braços fechados, por meio do programa X-Plo-Rat.

Figura 4. Esquema representativo do LCE.



Legenda: BA: Braço aberto. BF: Braço fechado.

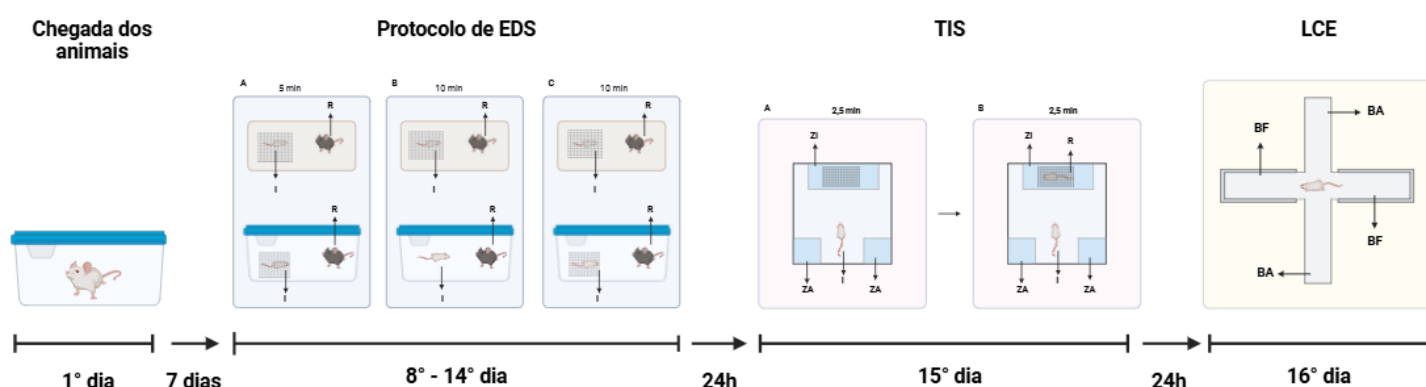
Fonte: imagem criada pelo BioRender.

4.6. PROTOCOLO EXPERIMENTAL

Os animais adquiridos do Biotério Central da UNESP (Botucatu, SP) possuíam cerca de cinquenta dias pós-natal, e foram transferidos e mantidos no

biotério do Laboratório de Farmacologia da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara (FCFAR-UNESP) por sete dias até o início dos experimentos. O protocolo do EDS foi realizado do oitavo até o décimo quarto dia, e o teste de interação social e o labirinto em cruz elevado foram realizados no décimo quinto e décimo sexto dia, respectivamente (Figura 5).

Figura 5. Esquema representativo do protocolo experimental.



Legenda: EDS: Estresse de derrota social. TIS: Teste de interação social. LCE: Labirinto em cruz elevado.

Fonte: imagem criada com BioRender.

Grupos utilizados: ratos machos adultos foram divididos em cinco grupos, onde (i) passou por interação não-agressiva (INA) recebendo 2 ml/kg de salina, (ii) passou pelo EDS recebendo 2 ml/kg de salina, (iii) passou pelo EDS recebendo 0,01 mg/Kg de atosiban, (iv) passou pelo EDS recebendo 0,1 mg/Kg de atosiban, e (v) passou pelo EDS recebendo 1,0 mg/Kg de atosiban. Tanto o atosiban quanto a solução salina foram administrados intraperitonealmente (i.p) uma hora antes de cada sessão de EDS.

4.7. ÉTICA

O protocolo experimental foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara – UNESP (CEUA/FCF/CAr. 22/2021), e foi conduzido seguindo os princípios do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), com o Número de registro da autorização: 16/2022.

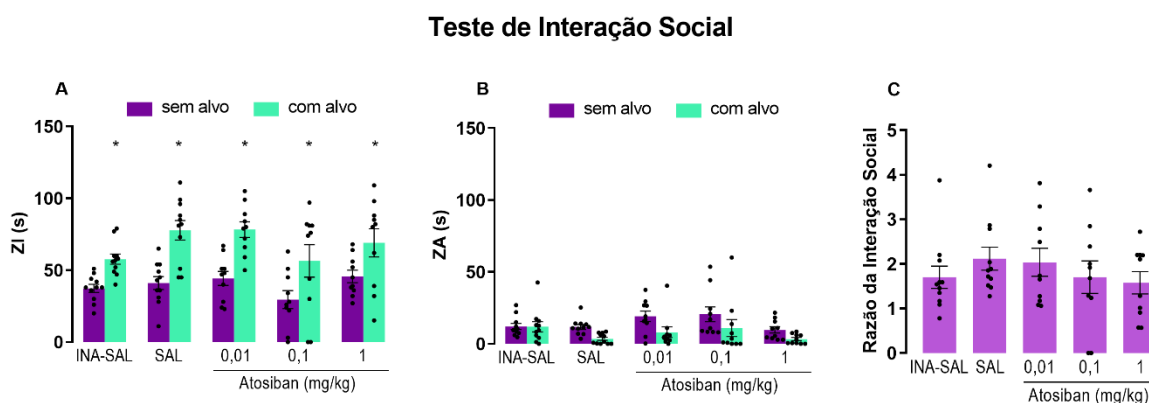
4.8. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados referentes ao TIS foram submetidos à análise de variância (ANOVA) bifatorial para medidas repetidas [fator 1: tratamento; fator 2: com alvo ou sem alvo]. Os resultados referentes ao LCE foram submetidos à análise de variância (ANOVA). Quando a ANOVA indicou interação entre os fatores, as análises foram seguidas pelo teste de comparações múltiplas de Duncan. O valor de p menor ou igual a 0,05 foi considerado como significativo.

5. RESULTADOS

Os dados obtidos no teste de interação social estão apresentados na Figura 6. A análise de variância (ANOVA) bifatorial para medidas repetidas indicou não haver diferença significativa na ZI e ZA (Fig. 6A e 6B) para o fator tratamento [ZI: $F_{(4,47)} = 2,39$, $p = 0,06$; ZA: $F_{(4,47)} = 2,01$, $p = 0,11$] e nem interação entre os fatores [ZI: $F_{(4,47)} = 0,89$, $p = 0,48$; ZA: $F_{(4,47)} = 1,33$, $p = 0,27$]. Já para o fator alvo, a ANOVA bifatorial apontou diferença significativa [ZI: $F_{(1,47)} = 71,47$, $p \leq 0,005$; ZA: $F_{(1,47)} = 18,35$, $p \leq 0,005$]. Com relação à razão da interação social (Fig. 6C), a ANOVA revelou não haver diferença entre os grupos [$F_{(4,47)} = 0,67$, $p = 0,62$]. Estes resultados sugerem que nem o estresse e nem as diferentes doses de ATO interferiram no comportamento de evitação social avaliado no TIS.

Figura 6. Efeito do tratamento com atosiban sobre o comportamento de evitação social em ratos submetidos ao protocolo de estresse de derrota social.



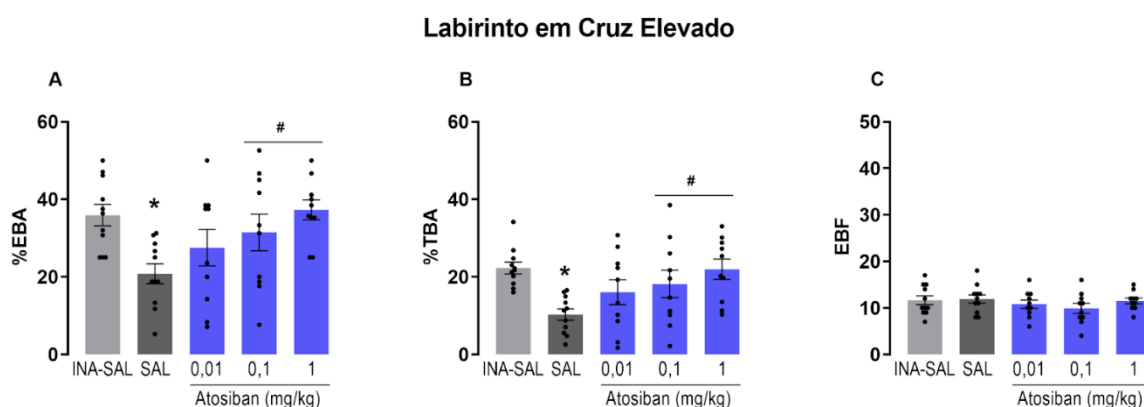
Legenda: o gráfico A é referente ao tempo gasto na zona de interação (ZI); o gráfico B é referente ao tempo gasto na zona de afastamento (ZA); e o gráfico C é referente ao índice de interação social. As colunas representam as médias ($\pm$ EPM). * $p < 0,05$ comparado ao respectivo grupo sem alvo. INA: interação não-agressiva; SAL: salina; EDS: estresse de derrota social; ZI, zona de interação; ZA, zona de afastamento.

Fonte: elaborado pela autora.

Os dados obtidos no labirinto em cruz elevado foram apresentados na Figura 7. A ANOVA bifatorial apontou diferença significativa entre os grupos com relação a porcentagem de entradas nos braços abertos (%EBA) [$F_{(4,47)} = 3,65$, $p = 0,01$] (Fig. 7A) e porcentagem de tempo nos braços abertos (%TBA) [$F_{(4,47)} = 3,92$, $p = 0,008$]

(Fig. 7B), mas não com relação ao número de entradas nos braços fechados (EBF) [$F_{(4,47)} = 0,78$, $p = 0,54$] (Fig. 7C). O teste *post hoc* de Duncan revelou que os animais que passaram pelo EDS e receberam salina apresentaram diminuição da exploração dos braços abertos do LCE quando comparados ao grupo INA-SAL (%EBA, $p \leq 0,05$; %TBA, $p \leq 0,05$), e que o ATO nas doses de 0,1 e 1 mg/kg foram capazes de reverter o efeito do estresse.

Figura 7. Efeito do tratamento com atosiban sobre o comportamento de evitação social em ratos submetidos ao protocolo de estresse de derrota social avaliados no Labirinto em Cruz Elevado.



Legenda: o gráfico A representa a porcentagem de entrada no braço aberto. O gráfico B representa a porcentagem de tempo gasto nos braços abertos. O gráfico C representa o número de entradas nos braços fechados. As colunas representam as médias ($\pm$ EPM). * $p < 0,05$ comparado ao respectivo grupo INA; # $p < 0,05$ comparado ao grupo EDS. INA: interação não-agressiva; SAL: salina; EDS: estresse de derrota social; ZI, zona de interação; ZA, zona de afastamento.

Fonte: elaborado pela autora.

6. DISCUSSÃO

O presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito do tratamento sistêmico com antagonista do receptor de OCT (atosiban) na evitação social e ansiedade induzidas pelo estresse de derrota social crônico em ratos. À vista disso, os resultados que foram obtidos com este trabalho nos mostram que não houve diferenças significativas entre os grupos experimentais em relação às respostas de evitação social obtidas com a exposição ao TIS, apesar de que podemos observar no LCE que os grupos que receberam tratamento nas maiores doses apresentaram diminuição de respostas relacionadas a ansiedade quando comparado com o grupo controle que sofreu a derrota. Além disso, os resultados mostram que não foram apresentadas alterações significativas entre os grupos em relação às entradas nos braços fechados, sugerindo que os episódios de EDS e as diferentes doses de atosiban não influenciaram na locomoção dos animais.

Como explicado anteriormente, o Teste de Interação Social (TIS) auxilia na avaliação do comportamento do tipo ansioso, principalmente a ansiedade social, com base no índice de interação social dos animais que sofreram a derrota ao se colocar esses animais em uma situação nova, que tende a instigar a curiosidade deles. Portanto, com base nos resultados do teste de interação social apresentados podemos inferir que a presença do alvo induziu maior exploração na zona de interação (ZI), independentemente das condições experimentais, indicando que, tanto os animais que receberam tratamento quanto os que receberam salina, não apresentaram evitação social. Observou-se também que os animais passaram menos tempo na zona de afastamento (ZA), especialmente na presença do alvo.

Com o Labirinto em Cruz Elevado (LCE) pode-se avaliar os índices convencionais de ansiedade e os índices da locomoção ao se analisar as porcentagens de entradas e de tempo gasto nos braços abertos, e a frequência de entradas nos braços fechados, conforme os animais exploram um novo ambiente. Ao analisar os resultados obtidos com o LCE pode-se observar que os animais que passaram pelo protocolo de EDS e pelo tratamento com o fármaco apresentaram maiores porcentagem de entrada e de tempo nos braços abertos quando comparados com os animais que receberam apenas salina (Figuras 7A e 7B), o que evidencia que o tratamento resultou em uma diminuição das respostas relacionadas com a ansiedade. No entanto, não foram observadas diferenças significativas entre

os grupos em relação às entradas nos braços fechados (Figura 7C), concluindo que nem o protocolo de EDS nem o tratamento alteraram a atividade locomotora dos animais. À vista disso, concluiu-se que os resultados obtidos não confirmam a hipótese principal deste trabalho.

Com base nos dados presentes na literatura, o estresse está amplamente relacionado com a ansiedade, sendo ele um dos possíveis fatores de risco tanto para a ansiedade quanto para outros transtornos psiquiátricos. Como discutido anteriormente, a ansiedade é o transtorno mental mais prevalente na sociedade, e apesar de que um certo nível de ansiedade seja necessário para o desempenho de tarefas (Graeff *et al.*, 2003), quando ela se torna patológica pode gerar transtornos de ansiedade, como por exemplo, o transtorno de ansiedade social (TAS).

Segundo estudos, estímulos estressores, como a derrota social, ativam o sistema ocitocinérgico, o que resulta no aumento da liberação na circulação sistêmica da ocitocina, além de provocar um aumento da expressão do gene da OCT nos núcleos hipotalâmicos paraventricular (PVN) e supraóptico (Neumann; Slattery, 2016). Com base nesse fato, a liberação da ocitocina está relacionada com a modulação de comportamentos associados com a ansiedade, e o estudo de sua ação no organismo, além da ação de seus receptores, é de grande importância para compreender os comportamentos que estão associados com a ansiedade. Segundo estudos, a ocitocina cerebral está relacionada com o comportamento de preferência social que ocorre naturalmente em ratos e camundongos, conforme analisado no teste de evitação de preferência social (Lukas *et al.*, 2011), além de ser demonstrado que a ocitocina tem uma influência facilitadora em vários aspectos do comportamento social humano (Heinrichs *et al.*, 2009, McCall e Singer, 2012), sugerindo que a ocitocina, com seus efeitos pró-sociais e ansiolíticos, pode ser utilizada no tratamento de disfunções sociais, a fim de reduzir a ansiedade social (Neumann; Slattery, 2016).

Os receptores de ocitocina estão presentes em áreas relacionadas com o comportamento social. Os antagonistas dos receptores da ocitocina, tal como o atosiban, atuam dificultando ou impedindo a ativação destes receptores, o que inibe a ação da ocitocina, e dessa forma, impede que esse neurotransmissor atue na regulação de comportamentos relacionados às emoções, como na ansiedade e comportamento social. Sendo assim, em teoria os animais os quais passaram pelo tratamento sistêmico (intraperitoneal) com o atosiban deveriam apresentar níveis

superiores de evitação social e ansiedade, quando comparados com os animais do grupo controle, visto que o bloqueio dos receptores de ocitocina utilizando um antagonista desses receptores reduziu significativamente a preferência social (Neumann; Slattey, 2016). Contudo, ao se analisar os resultados obtidos no presente estudo, nota-se uma ausência de diferenças significativas em relação à evitação social entre os grupos tratados com atosiban e o grupo controle, obtidas com o TIS, e que a análise do LCE indica uma diminuição nas respostas relacionadas à ansiedade nos grupos tratados com as maiores doses em comparação com o grupo controle.

Esses resultados contraditórios podem ser atribuídos à alta afinidade do atosiban pelos receptores de vasopressina (Bossmar, 1998), visto que a estrutura da ocitocina e da vasopressina, assim como as estruturas dos seus receptores, são similares (Gimpl; Fahrenholz, 2001). A vasopressina é um nanopeptídeo que se liga aos receptores acoplados à proteína G (Pierce; French; Murray, 2020), e que possui um papel ansiogênico, estando associada ao aumento da vigilância e em comportamentos sociais tipicamente masculinos, incluindo agressão (Heinrichs; Von Dawans; Domes, 2009). Tendo em vista o fato de que o atosiban atua também como antagonista dos receptores AVP1A (Mak *et al.*, 2012), ele não pode ser considerado um antagonista seletivo de OCT, o que resulta no fármaco não estar se ligando integralmente aos receptores de ocitocina. Sendo assim, o ATO não inibe completamente a ação da ocitocina, permitindo que ela apresente uma certa atuação na regulação do comportamento do tipo ansioso. Essa dualidade de efeitos do atosiban pode explicar a complexidade das respostas comportamentais observadas nos animais tratados, sugerindo a necessidade de uma investigação mais aprofundada sobre os mecanismos de ação e os efeitos comportamentais desse antagonista de receptores.

7. CONCLUSÃO

O presente trabalho indica que o protocolo de estresse de derrota social (EDS) em ratos não foi sensível em alterar os comportamentos de evitação social, mas foi capaz de induzir comportamento do tipo ansiogênico avaliado no LCE. Além disso, doses maiores de atosiban reverteram o efeito ansiogênico do EDS, o que sugere que a depender da dose, o atosiban pode bloquear tanto receptores de ocitocina como de vasopressina. Neste sentido, novos estudos utilizando antagonistas ocitocinérgicos mais seletivos devem ser conduzidos para investigar a participação da neurotransmissão ocitocinérgica na modulação de respostas relacionadas ao estresse de derrota social.

REFERÊNCIAS

AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION. Diagnostic and statistical manual of mental disorders: DSM-5. 5. ed. Arlington, VA: American Psychiatric Association, 2014.

AYERS, L. W. *et al.* Oxytocin reduces background anxiety in a fear-potentiated startle paradigm: peripheral vs central administration. **Neuropsychopharmacology**: official publication of the American College of Neuropsychopharmacology, v. 36, n. 12, p. 2488–2497, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/npp.2011.138>. Acesso em: 20 ago. 2023.

BANDELOW, B.; MICHAELIS, S. Epidemiology of anxiety disorders in the 21st century. **Dialogues in clinical neuroscience**, v. 17, n. 3, p. 327–335, 2015.

BAUMGARTNER, T. *et al.* Oxytocin shapes the neural circuitry of trust and trust adaptation in humans. **Neuron**, v. 58, n. 4, p. 639–650, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2008.04.009>. Acesso em: 08 ago. 2023.

BENARROCH, E. E. Oxytocin and vasopressin: social neuropeptides with complex neuromodulatory functions. **Neurology**, v. 80, n. 16, p. 1521–1528, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1212/WNL.0b013e31828cfb15>. Acesso em: 20 ago. 2023.

BOSSMAR, T. Treatment of preterm labor with the oxytocin and vasopressin antagonist Atosiban. **Journal of perinatal medicine**, v. 26, n. 6, p. 458–465, 1998. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2021.69573510.1515/jpme.1998.26.6.458>. Acesso em: 08 ago. 2023.

CABAR, F. R. *et al.* O atosibano como agente tocolítico: uma nova proposta de esquema terapêutico. **Revista brasileira de ginecologia e obstetrícia**: revista da Federacao Brasileira das Sociedades de Ginecologia e Obstetrícia, v. 30, n. 2, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-72032008000200007>. Acesso em: 03 ago. 2023.

CAROBREZ, A. P.; BERTOGLIO, L. J. Ethological and temporal analyses of anxiety-like behavior: the elevated plus-maze model 20 years on. **Neuroscience and biobehavioral reviews**, v. 29, n. 8, p. 1193–1205, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2005.04.017>. Acesso em: 10 ago. 2023.

COSENZA, R. M. **Neurociência e mindfulness**: meditação, equilíbrio emocional e redução do estresse. [s.l.] Artmed Editora, 2021. ISBN 9786558820062.

CRUZ, A. P.; FREI, F.; GRAEFF, F. G. Ethopharmacological analysis of rat behavior on the elevated plus-maze. **Pharmacology, biochemistry, and behavior**, v. 49, n. 1, p. 171–176, 1994. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/0091-3057\(94\)90472-3](https://doi.org/10.1016/0091-3057(94)90472-3). Acesso em: 10 ago. 2023.

CZÉH, B. *et al.* Chronic social stress inhibits cell proliferation in the adult medial prefrontal cortex: Hemispheric asymmetry and reversal by fluoxetine

treatment. **Neuropsychopharmacology**: official publication of the American College of Neuropsychopharmacology, v. 32, n. 7, p. 1490–1503, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/sj.npp.1301275>. Acesso em: 03 ago. 2023.

DEMPSTER, E. L. Evidence of an association between the vasopressin V1b receptor gene (AVPR1B) and childhood-onset mood disorders. **Archives of general psychiatry**, v. 64, n. 10, p. 1189, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2021.69573510.1001/archpsyc.64.10.1189>. Acesso em: 11 set. 2023.

DESLAURIERS, J. *et al.* Current status of animal models of posttraumatic stress disorder: Behavioral and biological phenotypes, and future challenges in improving translation. **Biological psychiatry**, v. 83, n. 10, p. 895–907, 2018.

DU VIGNEAUD, V.; RESSLER, C.; TRIPPETT, S. The sequence of amino acids in oxytocin, with a proposal for the structure of oxytocin. **The journal of biological chemistry**, v. 205, n. 2, p. 949–957, 1953.

FARIA, M. P.; LAVERDE, C. F.; NUNES-DE-SOUZA, R. L. Anxiogenesis induced by social defeat in male mice: Role of nitric oxide, NMDA, and CRF1 receptors in the medial prefrontal cortex and BNST. **Neuropharmacology**, v. 166, n. 107973, p. 107973, 2020.

FLENADY, V. *et al.* Oxytocin receptor antagonists for inhibiting preterm labour. **Cochrane database of systematic reviews**, v. 2014, n. 6, p. CD004452, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2021.69573510.1002/14651858.CD004452.pub3>. Acesso em: 11 set. 2023.

GEE, D. G.; CASEY, B. J. The impact of developmental timing for stress and recovery. **Neurobiology of stress**, v. 1, p. 184–194, 2015.

GIMPL, G.; FAHRENHOLZ, F. The oxytocin receptor system: Structure, function, and regulation. **Physiological reviews**, v. 81, n. 2, p. 629–683, 2001. Disponível em: <https://doi.org/10.1152/physrev.2001.81.2.629>. Acesso em: 11 set. 2023.

GOLDEN, S. A. *et al.* A standardized protocol for repeated social defeat stress in mice. **Nature protocols**, v. 6, n. 8, p. 1183–1191, 2011.

GOULARTE, J. F. *et al.* COVID-19 and mental health in Brazil: Psychiatric symptoms in the general population. **Journal of psychiatric research**, v. 132, p. 32–37, 2021.

GOULD, B. R.; ZINGG, H. H. Mapping oxytocin receptor gene expression in the mouse brain and mammary gland using an oxytocin receptor–LacZ reporter mouse. **Neuroscience**, v. 122, n. 1, p. 155–167, 2003. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0306-4522\(03\)00283-5](https://doi.org/10.1016/S0306-4522(03)00283-5). Acesso em: 10 ago. 2023.

GRAEFF, F. G. *et al.* Pharmacology of human experimental anxiety. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 36, n. 4, p. 421–432, 2003.

HAMMELS, C. *et al.* Defeat stress in rodents: From behavior to molecules. **Neuroscience and biobehavioral reviews**, v. 59, p. 111–140, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2015.10.006>. Acesso em: 10 ago. 2023.

HEINRICHS, M.; VON DAWANS, B.; DOMES, G. Oxytocin, vasopressin, and human social behavior. **Frontiers in neuroendocrinology**, v. 30, n. 4, p. 548–557, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.yfrne.2009.05.005>. Acesso em: 11 set. 2023.

HURLEMANN, R. *et al.* Oxytocin enhances amygdala-dependent, socially reinforced learning and emotional empathy in humans. **The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience**, v. 30, n. 14, p. 4999–5007, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2021.69573510.1523/JNEUROSCI.5538-09.2010>. Acesso em: 03 ago. 2023.

INSEL, T. R.; SHAPIRO, L. E. Oxytocin receptor distribution reflects social organization in monogamous and polygamous voles. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 89, n. 13, p. 5981–5985, 1992.

KIM, S. H. *et al.* Oxytocin receptor antagonists, atosiban and nolasiban, inhibit prostaglandin F2 α -induced contractions and inflammatory responses in human myometrium. **Scientific reports**, v. 9, n. 1, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41598-019-42181-2>. Acesso em: 08 ago. 2023.

LUKAS, M. *et al.* The neuropeptide oxytocin facilitates pro-social behavior and prevents social avoidance in rats and mice. **Neuropsychopharmacology: official publication of the American College of Neuropsychopharmacology**, v. 36, n. 11, p. 2159–2168, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2021.69573510.1038/npp.2011.95>. Acesso em: 20 ago. 2023.

MAK, P. *et al.* Modulation of anxiety behavior in the elevated plus maze using peptidic oxytocin and vasopressin receptor ligands in the rat. **Journal of psychopharmacology (Oxford, England)**, v. 26, n. 4, p. 532–542, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1177/0269881111416687>. Acesso em: 15 ago. 2023.

MCEWEN, B. S. Brain on stress: how the social environment gets under the skin. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 109 Suppl 2, n. supplement_2, p. 17180–17185, 2012.

MORAIS-SILVA, G. *et al.* Cardiovascular outcomes related to social defeat stress: New insights from resilient and susceptible rats. **Neurobiology of stress**, v. 11, n. 100181, p. 100181, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ynstr.2019.100181>. Acesso em: 15 ago. 2023.

NARDI, A. E.; QUEVEDO, J.; DA SILVA, A. G. **Transtorno de Ansiedade Social: Teoria e Clínica**. [s.l.] Artmed Editora, 2014. ISBN 9788582710364.

National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Summary for CID 439302, Oxytocin. Retrieved April 8, 2023. Disponível em: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Oxytocin>. Acesso em: 03 ago. 2023.

National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Summary for CID 5311010, Atosiban, PubChem. Disponível em: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Atosiban>. Acesso em: 03 ago. 2023.

NEUMANN, I. D.; LANDGRAF, R. Balance of brain oxytocin and vasopressin: implications for anxiety, depression, and social behaviors. **Trends in neurosciences**, v. 35, n. 11, p. 649–659, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.tins.2012.08.004>. Acesso em: 22 ago. 2023.

NEUMANN, I. D.; SLATTERY, D. A. Oxytocin in general anxiety and social fear: A translational approach. **Biological psychiatry**, v. 79, n. 3, p. 213–221, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2015.06.004>. Acesso em: 22 ago. 2023.

PELLOW, S.; FILE, S. E. Anxiolytic and anxiogenic drug effects on exploratory activity in an elevated plus-maze: a novel test of anxiety in the rat. **Pharmacology, biochemistry, and behavior**, v. 24, n. 3, p. 525–529, 1986.

PIERCE, M. L.; FRENCH, J. A.; MURRAY, T. F. Comparison of the pharmacological profiles of arginine vasopressin and oxytocin analogs at marmoset, macaque, and human vasopressin 1a receptor. **Biomedecine & pharmacotherapie [Biomedicine & pharmacotherapy]**, v. 126, n. 110060, p. 110060, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2020.110060>. Acesso em: 12 out. 2024.

ROSEN, J. B.; SCHULKIN, J. From normal fear to pathological anxiety. **Psychological review**, v. 105, n. 2, p. 325–350, 1998.

RUSSELL, J. A.; LENG, G.; DOUGLAS, A. J. The magnocellular oxytocin system, the fount of maternity: adaptations in pregnancy. **Frontiers in neuroendocrinology**, v. 24, n. 1, p. 27–61, 2003.

SABIHI, S. *et al.* Oxytocin in the medial prefrontal cortex regulates maternal care, maternal aggression and anxiety during the postpartum period. **Frontiers in behavioral neuroscience**, v. 8, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2014.00258>. Acesso em: 03 ago. 2023.

SABIHI, S. *et al.* Oxytocin in the prelimbic medial prefrontal cortex reduces anxiety-like behavior in female and male rats. **Psychoneuroendocrinology**, v. 45, p. 31–42, 2014b. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2014.03.009>. Acesso em: 03 ago. 2023.

SABIHI, S. *et al.* Oxytocin in the medial prefrontal cortex attenuates anxiety: Anatomical and receptor specificity and mechanism of action. **Neuropharmacology**, v. 125, p. 1–12, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2017.06.024>. Acesso em: 03 ago. 2023.

SANTOS-COSTA, N. *et al.* Glutamatergic neurotransmission controls the functional lateralization of the mPFC in the modulation of anxiety induced by social defeat stress in male mice. **Frontiers in behavioral neuroscience**, v. 15, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2021.695735>. Acesso em: 20 out. 2024.

SMELTZER, M. D. *et al.* Dopamine, oxytocin, and vasopressin receptor binding in the medial prefrontal cortex of monogamous and promiscuous voles. **Neuroscience letters**, v. 394, n. 2, p. 146–151, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2005.10.019>. Acesso em: 15 ago. 2023.

SULLIVAN, R. M.; GRATTON, A. Lateralized effects of medial prefrontal cortex lesions on neuroendocrine and autonomic stress responses in rats. **The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience**, v. 19, n. 7, p. 2834–2840, 1999. Disponível em: <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.19-07-02834>. Acesso em: 11 set. 2023.

SWANSON, L. W.; SAWCHENKO, P. E. Hypothalamic integration: organization of the paraventricular and supraoptic nuclei. **Annual review of neuroscience**, v. 6, n. 1, p. 269–324, 1983.

THAKUR, P.; SHRIVASTAVA, R.; SHRIVASTAVA, V. K. Effects of exogenous oxytocin and atosiban antagonist on GABA in different region of brain. **IBRO reports**, v. 6, p. 185–189, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ibror.2019.04.001>. Acesso em: 20 out. 2024.

TRIBOLLET, E.; BARBERIS, C. Vasopressin and oxytocin receptors in the central nervous system. **Critical reviews in neurobiology**, v. 10, n. 1, p. 119–154, 1996. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2021.69573510.1615/critrevneurobiol.v10.i1.60>. Acesso em: 20 out. 2024.

YOON, S.; KIM, Y.-K. The role of the oxytocin system in anxiety disorders. In: **Advances in Experimental Medicine and Biology**. Singapore: Springer Singapore, 2020. p. 103–120. Disponível em: https://doi.org/10.1007/978-981-32-9705-0_7. Acesso em: 20 ago. 2023.