



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

MARIANA THIELE

AVALIAÇÃO DAS RESPOSTAS DEFENSIVAS DE CAMUNDONGOS
SUBMETIDOS AO ESTRESSE PSICOSSOCIAL

Araraquara, SP

2023

MARIANA THIELE

**AVALIAÇÃO DAS RESPOSTAS DEFENSIVAS DE CAMUNDONGOS
SUBMETIDOS AO ESTRESSE PSICOSSOCIAL**

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. Ricardo Luiz Nunes de Souza

Coorientadora: Prof. Dra. Daniela Baptista de Souza

Araraquara, SP

2023

T729a Thiele, Mariana.
Avaliação das respostas defensivas de camundongos submetidos ao estresse psicossocial / Mariana Thiele. – Araraquara: [s.n.], 2023.
32 f. : il.

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

Orientador: Ricardo Luiz Nunes de Souza.
Coorientadora: Daniela Baptista de Souza.

1. Ansiedade. 2. Camundongos machos. 3. Estresse psicossocial. I. Souza, Ricardo Luiz Nunes de, orient. II. Souza, Daniela Baptista de, coorient. III. Título.

DEDICATÓRIA

A todos que torceram pelo meu sucesso, apoiaram minhas decisões (ainda que não concordassem), ajudaram-me durante o caminho e celebraram comigo as minhas conquistas. Assim, acabo de descrever a presença principalmente da minha família na minha vida. Dedico esse trabalho, não somente, mas especialmente a eles.

AGRADECIMENTOS

O meu primeiro e mais carinhoso agradecimento é à minha família. Obrigada principalmente aos meus pais, Luciana Helena e Maurício, por permitirem que eu esteja onde estou. Vocês proporcionaram oportunidades inimagináveis para mim, inclusive, jamais imaginaríamos que eu estudaria na UNESP Araraquara, e só foi possível por toda a ajuda e apoio que me deram durante meu crescimento.

Obrigada aos meus irmãos, Camila, João Victor e João Pedro. Vocês fazem a vida ser mais divertida e um tanto quanto bagunçada. Sempre difícil a despedida quando volto à Morada do Sol, mas também sempre renovador voltar para casa sabendo que vocês estão me esperando, junto de Theodoro Francisco, Maria Madalena e Maria Flor. Obrigada também aos meus avós, Regina Maria e Arthur Carlos!

Em 2018, conheci aqueles que seriam minha família de Araraquara e sou eternamente grata por tudo que vivemos e construímos juntos. Muito obrigada por nossa família existir e por todo amor (e risadas) que torna ela possível! Obrigada especial ao Dose de Farma que foi umas das melhores surpresas da graduação!

Agradeço a Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara (professores, alunos e funcionários) por toda a convivência, o ensinamento e oportunidades de crescimento profissional e pessoal. Tive a honra e prazer de fazer parte de diversas extensões ao longo da minha graduação, pelas quais eu tenho um carinho muito grande e espero que se tornem cada vez maiores!

No final da graduação, reencontrei o esporte que amo no time de cheerleading Morceguetes. Vocês sabem da importância que possuem na minha vida. Obrigada, Morceguetes, por ser casa para mim!

Ao laboratório de Farmacologia da FCFAr, muito obrigada! Agradeço principalmente ao meu orientador, Prof. Dr. Ricardo Luiz Nunes de Souza, e aos meus co-orientadores que foram de suma importância na minha vida profissional, Prof. Dr. Lucas Canto de Souza e Profa. Dra. Daniela Baptista de Souza.

Por fim, agradeço o Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo auxílio financeiro por meio da bolsa PIBIC durante a realização desse projeto (Edital 4/2021 PIBIC - N° 3833).

Resumo

O estresse pode ser desencadeado por testemunho a um evento aversivo social, e estudos evidenciam que o estresse resulta em respostas relacionadas ao comportamento do tipo ansiogênico. Cabe destacar ainda, que a idade do indivíduo testemunha pode exercer uma importante influência sobre os efeitos do estresse de origem psicossocial. Sendo assim, o presente estudo teve como objetivo investigar a influência da idade sobre as respostas relacionadas à ansiedade em camundongos de 56 (adolescentes) e 91 dias pós-natal (adultos) submetidos ao protocolo de estresse de testemunha de derrota social (ETDS). Para tanto, camundongos machos da linhagem *Swiss Webster* de 56 e 91 dias pós-natal (DPN) foram submetidos ao ETDS (CEUA/FCF/CAR: 22/2021). O estresse social foi realizado por meio de 10 sessões (uma sessão/dia), nas quais um indivíduo intruso foi colocado na caixa residência do indivíduo residente por 15 minutos (i.e., duas sessões de 5 minutos de estresse psicológico intercalado com uma sessão de 5 minutos de estresse físico) enquanto os sujeitos experimentais testemunharam o conflito. Após 24 horas da última sessão de ETDS realizada, as testemunhas foram avaliadas no Teste de Interação Social (TIS) e no Labirinto de Cruz Elevado (LCE). Os grupos controles foram submetidos ao mesmo protocolo, porém, testemunharam uma interação não agressiva (TINA). Os resultados demonstraram que o ETDS não induziu evitação social avaliada por meio do TIS, e os camundongos adolescentes apresentaram aumento de respostas relacionadas à ansiedade quando comparado ao grupo TINA e aos animais adultos que passaram pela mesma condição.

Palavras-chave: ansiedade, camundongos machos, estresse psicossocial.

Abstract

Stress can be triggered by witnessing an aversive social event, and studies show that stress may induce responses related to anxiety-like responses. It should also be noted that the age can have an important influence on the effects of psychosocial stress. Therefore, the present study aims to investigate the influence of age on anxiety-related responses in 51 (adolescent) and 96 days after birth (adult) mice submitted to the witnessing social defeat stress (WSDS) protocol. For this purpose, male Swiss Webster mice aged 51 and 96 postnatal days (PND) were submitted to WSDS (CEUA/FCF/CAR: 22/2021) protocol. The social defeat was defined by ten sessions wherein one intruder mouse was placed in the cage of a resident mouse for 15 minutes (i.e., two 5-minute sessions of psychological stress intercalated by a 5-minute session of physical stress). Twenty-four hours after the last WSDS session the witnesses were evaluated in the Social Interaction Test (SIT) and Elevated Plus-Maze (EPM). The control groups were submitted to the same protocol, however, they witnessed a non-aggressive interaction (WNAI). The results showed that the WSDS group did not show social avoidance in the SIT test, and the adolescent mice WSDS showed anxiogenic-like behavior when compared to the WNAI and the adult mice submitted to the same WSDS protocol.

Keywords: anxiety, male mice, psychosocial stress.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Esquema representativo do protocolo de ETDS	15
Figura 2 – Esquema representativo do testemunho de INA	15
Figura 3 – Esquema representativo do TIS	16
Figura 4 – Esquema representativo do LCE	17
Figura 5 – Esquema representativo do protocolo de estudo	17
Figura 6 – Ausência de efeito da idade sobre o comportamento no TIS	19
Figura 7 – Efeito da idade sobre o comportamento no LCE	20

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

BA	Braço Aberto
BDNF	Fator Neurotrófico Derivado do Cérebro
BF	Braço Fechado
CEUA	Comitê de Ética no Uso de Animais
CONCEA	Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal
CPFm	Córtex Pré-Frontal medial
DPN	Dias Pós-Natal
EBA	Entradas no Braço Aberto
EDS	Estresse de Derrota Social
ETDS	Estresse de Testemunho de Derrota Social
F	Camundongo Familiar
FCF	Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara
HPA	Hipotálamo-Pituitária-Adrenal
I	Camundongo Intruso
INA	Interação Não-Agressiva
LCE	Labirinto em Cruz Elevado
R	Camundongo Residente
TA	Testemunha Adulta
TBA	Tempo no Braço Aberto
TINA	Testemunho de Interação Não-Agressiva
TIS	Teste de Interação Social
TA	Testemunha Adolescente
UNESP	Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho"
ZA	Zona de Afastamento
ZI	Zona de Interação

Sumário

1 INTRODUÇÃO	11
2 JUSTIFICATIVA	13
3 OBJETIVO	13
4 MATERIAL E MÉTODOS	13
4.1 Animais	13
4.2 Estresse de Testemunho de Derrota Social	13
4.3 Teste de Interação Social	16
4.4 Labirinto em Cruz Elevado	17
4.5 Procedimento Experimental	17
4.6 Ética	18
4.7 Análise Estatística	18
5 RESULTADOS	18
6 DISCUSSÃO	20
7 CONCLUSÃO	25
8 REFERÊNCIAS	26

1. INTRODUÇÃO

A ansiedade patológica está entre os transtornos mentais mais comuns mundialmente, sendo caracterizada por um sentimento vago e desagradável de medo e apreensão, desencadeando tensão ou desconforto pela antecipação de perigo ou ameaça (CASTILLO, 2000). A ansiedade patológica diferencia-se da ansiedade fisiológica pelas respostas emocionais exageradas e disfuncionais associadas a uma sensação de incontrolabilidade (ROSEN; SCHULKIN, 1998), podendo ser em níveis que prejudicam a qualidade de vida do indivíduo. Em 2019, 300 milhões de pessoas estavam vivendo com algum tipo de transtorno de ansiedade, sendo destas 58 milhões crianças e adolescentes (WORLD HEALTH ORGANIZATION et al, 2022). Recentemente, devido à pandemia da síndrome respiratória aguda grave causada pelo coronavírus 2 (SARS-CoV-2), 80% dos brasileiros entrevistados reportaram sintomas moderados a graves de ansiedade (GOULARTE et al., 2021).

O estresse é um fator de risco para o desenvolvimento de doenças neuropsiquiátricas, uma vez que é definido como uma condição que perturba o equilíbrio fisiológico e psicológico de um indivíduo (SELYE, 1950; MCEWEN, 2012). Para além da situação imposta nos dias atuais, é ampla a literatura científica demonstrando as consequências emocionais decorrentes do estresse (DONNER; LOWRY, 2013; PAGE; COUTELLIER, 2019), sobretudo oriundas de fontes de natureza social (CHAOULOFF, 2013; CZÉH et al., 2016; HOLLIS; KABBAJ, 2014).

A idade do indivíduo, somada à natureza do evento estressor, pode ditar a sua capacidade de se adaptar ou não em resposta ao estresse (GEE; CASEY, 2015). Quando confrontados com estímulos estressores inatos ou aprendidos, os animais exibem respostas neurovegetativas e comportamentais para se protegerem, sendo essas respostas defensivas identificadas por meio de testes comportamentais com foco em comportamentos relacionados à ansiedade (SORREGOTTI et al., 2018).

A maturação cerebral está relacionada com o comportamento do indivíduo, sendo a adolescência um importante exemplo, no qual o tardio desenvolvimento do córtex pré-frontal medial (CPFm) resulta em comportamento imprudente, busca por sensações diferentes e comportamento de risco (SPEAR, 2000). O termo "comportamento de risco" tem sido amplamente associado aos adolescentes e tem sido definido de diferentes formas, uma das definições mais recentes é:

comportamento que envolve potenciais consequências negativas equilibradas de alguma maneira pela visão de consequências positivas (GULLONE, 2000). Distúrbios alimentares, uso de substâncias e uso imprudente de veículos são exemplos do comportamento de risco observado em adolescentes (IGRA; IRWIN, 1996). Ademais, a capacidade de tomada de decisão dos indivíduos na adolescência pode ser mais vulnerável ao estresse quando comparada à capacidade de indivíduos adultos. Dessa forma, as experiências vividas nesse período podem ser determinantes no desenvolvimento cerebral e, conseqüentemente, no comportamento adulto, podendo desencadear transtornos psicológicos (SPEAR, 2000).

Sob este paradigma, o modelo animal de estresse de derrota social (EDS) permite o estudo da resposta a estressores e possibilita o entendimento da neurobiologia da resposta ao estresse social (FARIA; LAVERDE; NUNES-DE-SOUZA, 2020; VICTORIANO et al., 2020). No EDS, os animais derrotados apresentam respostas autonômicas e endócrinas que resultam em alterações encefálicas, como mudanças na atividade sináptica do CPFm (LEE et al., 2015). Considerando que exposições repetidas de EDS podem causar efeitos em comportamentos relacionados à ansiedade e de evitação social (CZÉH et al., 2007; DESLAURIERS et al., 2018), cabe investigar se esses comportamentos se restringem aos animais agredidos ou também poderiam ser observados em animais que testemunham tais confrontos. Neste sentido, o uso de testes comportamentais de animais como o Labirinto em Cruz Elevado (LCE) e o Teste de Interação Social (TIS) auxiliam na investigação dos efeitos do EDS em roedores, bem como os efeitos nas testemunhas do EDS.

Dentre os testes comportamentais, o LCE é um dos principais e mais populares testes utilizados para estudar o comportamento do tipo ansioso, tendo como base o comportamento espontâneo. Por ser uma novidade ambiental, desperta no animal a curiosidade e a necessidade de explorar o ambiente para sobrevivência própria e procriação, ao mesmo tempo, desperta o medo por ser um ambiente desconhecido e potencialmente perigoso, proporcionando então o conflito inerente a comportamentos relacionados à ansiedade (RODGERS, 1997).

O TIS, por sua vez, também avalia o comportamento do tipo ansioso, porém, em conjunto de interação social com um indivíduo não-familiar (GOLDEN et al., 2011). O teste, então, avalia uma vertente da ansiedade que está voltada para a aversão social. Estudos demonstram que a intensidade da ansiedade está diretamente relacionada

com a interação do indivíduo com o animal não-familiar (FILE; SETH, 2003). Considerando a probabilidade do comportamento do tipo ansioso vir a ser desenvolvido a partir do testemunho de eventos aversivos, a idade do indivíduo pode representar uma variável em como esse comportamento se apresentará.

2. JUSTIFICATIVA

O estudo permite investigar e entender como a ansiedade patológica pode se desenvolver e quais fatores influenciam esse comportamento para que assim possa ser possível obter futuramente abordagens e tratamentos, tanto farmacológicos quanto não-farmacológicos, cada vez mais adequados ao caso de cada indivíduo.

3. OBJETIVO

Este estudo teve como objetivo investigar o perfil comportamental das respostas defensivas em camundongos submetidos ao estresse de testemunha de derrota social no período de adolescência e adultos.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Animais

128 camundongos heterogênicos da linhagem *Swiss Webster* (25-30g) adolescentes (56 dias pós-natal, DPN) e adultos (91 DPN) obtidos do Centro de Pesquisa e Produção de Animais - CPPA da Universidade Estadual Paulista – UNESP-Botucatu foram mantidos em condições controladas de temperatura (23 ± 2 °C) e ciclo de luz 12/12h (luzes acesas às 7:00 horas) com água e ração *ad libitum*. Dos 128 animais, 60 animais foram dos grupos controles e 68 animais foram dos grupos testemunhas. Todos os procedimentos comportamentais foram realizados durante a fase clara do ciclo claro/escuro dos animais e aprovados pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) local (CEUA/FCF/CAr. 22/2021).

4.2. Estresse de Testemunha de Derrota Social (ETDS)

Utilizou-se uma variação do modelo intruso-residente (PRYCE; FUCHS, 2017) e do modelo de estresse psicossocial por testemunho (IÑIGUEZ et al., 2018), permitindo a exposição simultânea de dois machos ao estímulo estressor. Para tanto, animais denominados intrusos foram expostos à caixa-moradia (45 x 23 x 21 cm) de um

coespecífico agressivo e dominante não familiar, denominado residente, enquanto os animais experimentais, denominados testemunhas, estavam protegidos por uma divisória de acrílico (transparente, perfurada e com separação entre as testemunhas) durante o encontro agonístico entre os machos, testemunhando a agressão ao intruso e sua consequente submissão. O cenário do encontro entre o intruso e o residente denomina-se derrota social, sendo a derrota social definida pela exibição da postura de submissão do camundongo intruso perante o camundongo residente por pelo menos 3 segundos ou por um período máximo de 5 minutos, dependendo do que ocorrer primeiro (FARIA; LAVERDE; NUNES-DE-SOUZA, 2020). Ressalta-se ainda que os intrusos e testemunhas também não eram familiares, e o residente foi previamente isolado socialmente por pelo menos 4 semanas, resultando em um comportamento ainda mais territorialista e agressivo.

Cada episódio de derrota teve duração de 15 minutos, como representado na figura 1, subdividido em três fases de 5 minutos cada, alternando entre estresse físico e estresse psicológico para o camundongo intruso: inicialmente o intruso estava em uma gaiola protetora (10 x 6 x 15 cm), enquanto as testemunhas estavam protegidas pela divisória. Na sequência, o intruso foi retirado da gaiola protetora e exposto aos ataques do residente, enquanto o episódio foi assistido pelas testemunhas. Na terceira fase, o intruso foi novamente colocado na caixa protetora. As testemunhas permaneceram o episódio todo protegidas pela divisória. Ao final, o intruso e as testemunhas retornaram às suas caixas-moradia, de acordo com os grupos a que pertenciam. Os episódios ocorreram por 10 dias, sendo um por dia.

O grupo controle consistiu em animais que foram submetidos a um protocolo similar ao ETDS, porém, ao invés de testemunharem uma derrota social, os animais testemunharam uma interação não-agressiva (TINA), isto é, o intruso foi exposto a um camundongo não agressor e familiar, e foi observado por outras duas testemunhas não familiares, as quais estavam protegidas também pela divisória de acrílico,

conforme mostra a figura 2.

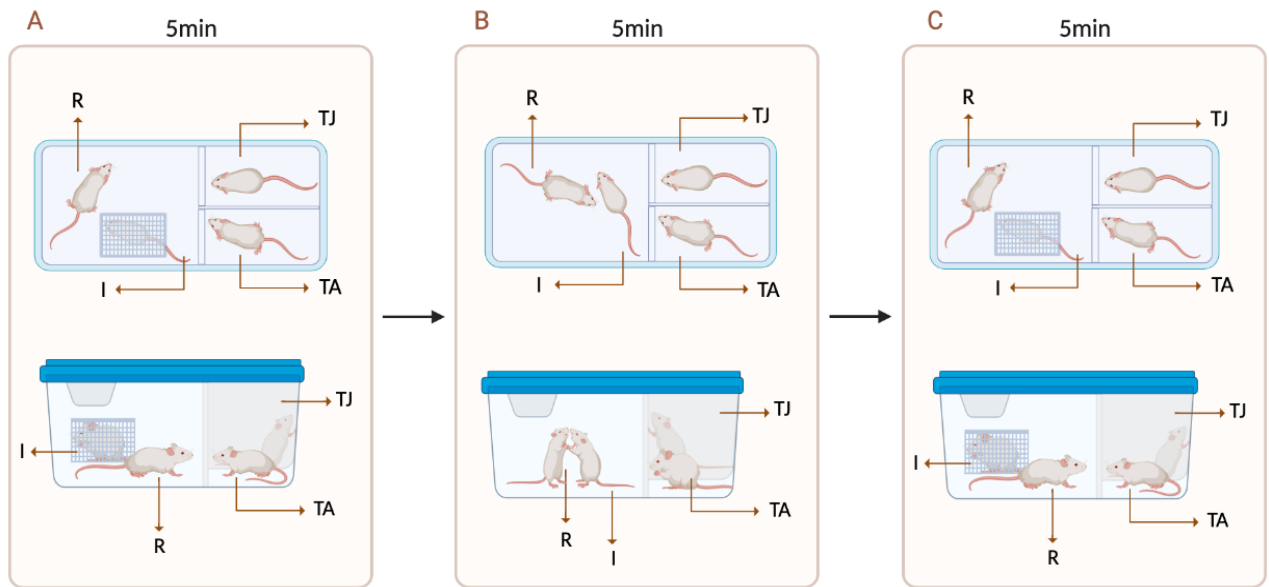


Figura 1. Esquema representativo do estresse psicológico (A e C) intercalado com o estresse físico (B) no protocolo de ETDS. R: Camundongo residente. I: Camundongo intruso. TJ: Testemunha jovem. TA: Testemunha adulta. Imagem criada com BioRender.

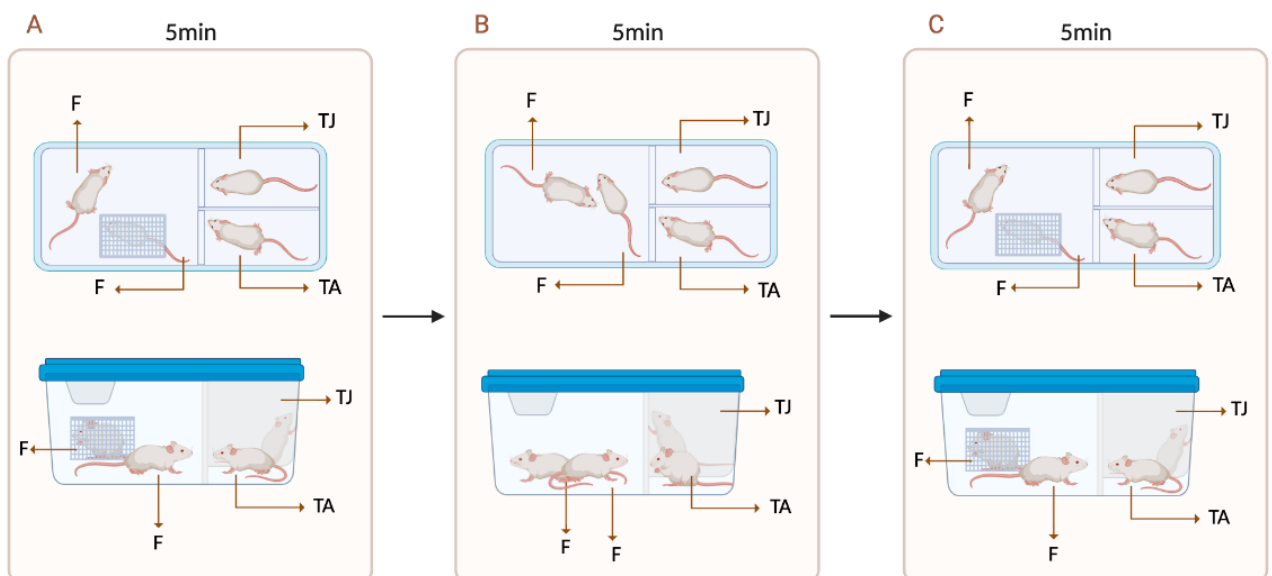
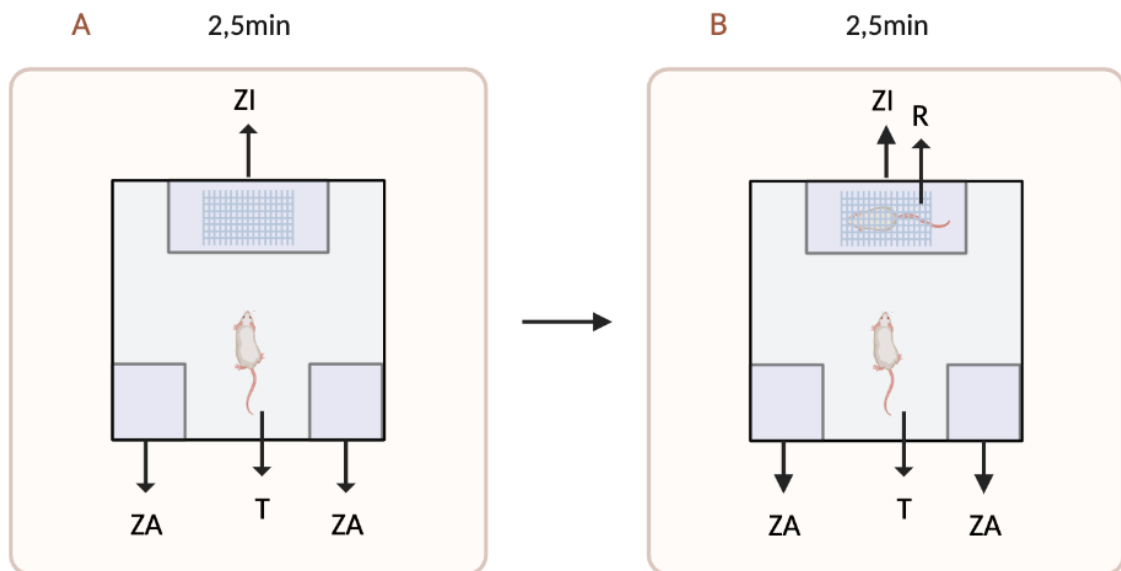


Figura 2. Esquema representativo do grupo controle durante o testemunho de uma interação não-agressiva. F: Camundongo familiar. TJ: Testemunha jovem. TA: Testemunha adulta. Imagem criada com

BioRender.

4.3. Teste de Interação Social (TIS)

No TIS, camundongos submetidos ao protocolo de ETDS foram testados numa arena de interação social, a qual é formada por uma caixa opaca de acrílico de paredes e assoalho cinza (42 x 42 x 15 cm) que possui uma caixa de contenção de acrílico (10 x 6 x 15 cm) centralizada em uma das paredes. A arena é dividida em uma zona de interação (ZI: área de 14 x 24 cm, projetada a 8 cm em torno da caixa de contenção de acrílico) e duas zonas de afastamento (ZA: áreas mais afastadas da caixa de contenção, medindo 9 x 9 cm, nos cantos da arena). Para a avaliação da exploração basal (150 segundos), os sujeitos (testemunhas) foram individualmente colocados no centro da arena voltados para o lado oposto ao alvo vazio (caixa de contenção de acrílico). Em seguida, o camundongo foi retirado da arena e um residente agressor não conhecido contido na caixa de acrílico (alvo) foi colocado no lugar do alvo vazio. Na sequência, como demonstrado na figura 3, a testemunha foi colocada novamente na arena por mais 150 segundos para avaliação do comportamento de interação social. As 3 sessões foram filmadas e gravadas por meio



de uma câmera para posterior análise do comportamento por meio do programa ANY-Maze. A medida de interação social foi calculada como a razão entre o tempo gasto na ZI com o alvo pelo tempo gasto na ZI sem alvo.

Figura 3. Esquema representativo do TIS. R: Camundongo residente. T: Testemunha. ZA:

Zona de afastamento. ZI: Zona de interação. Imagem criada com BioRender.

4.4. Teste do Labirinto em Cruz Elevado (LCE)

O LCE para camundongos é similar ao descrito por Lister (1987), sendo o aparato utilizado em formato de cruz e composto por: 2 braços fechados nas laterais por vidro (30 × 5 × 15 cm), dois braços abertos (30 × 5 × 0,25 cm), os quais não possuem proteção nas laterais, e o centro que interliga os braços do aparato (5 × 5 cm), conforme figura 4. O aparato possui duas estruturas abaixo das extremidades dos braços fechados que permitem coloca-lo no chão de forma que o aparato seja elevado a uma altura de 38,5 cm acima do nível do chão. Cada animal foi colocado sobre a plataforma central do LCE, com a cabeça voltada para um dos braços abertos e pôde explorar o aparato por um período de 5 minutos. As sessões foram gravadas por meio de um sistema de filmagem para posterior análise dos índices convencionais de ansiedade (%entradas e %tempo gasto nos braços abertos do aparelho) e locomoção (frequência de entradas nos braços fechados) por meio do programa X-Plo-Rat.

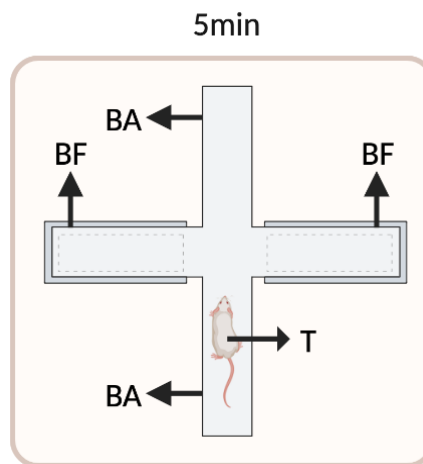


Figura 4. Esquema representativo do LCE. BA: Braço Aberto do aparato. BF: Braço fechado do aparato. T: Testemunha. Imagem criada com BioRender.

4.5. Procedimento experimental (Investigação do perfil comportamental de animais)

com diferentes idades submetidos ao ETDS): avaliação no TIS e no LCE (figura 5).

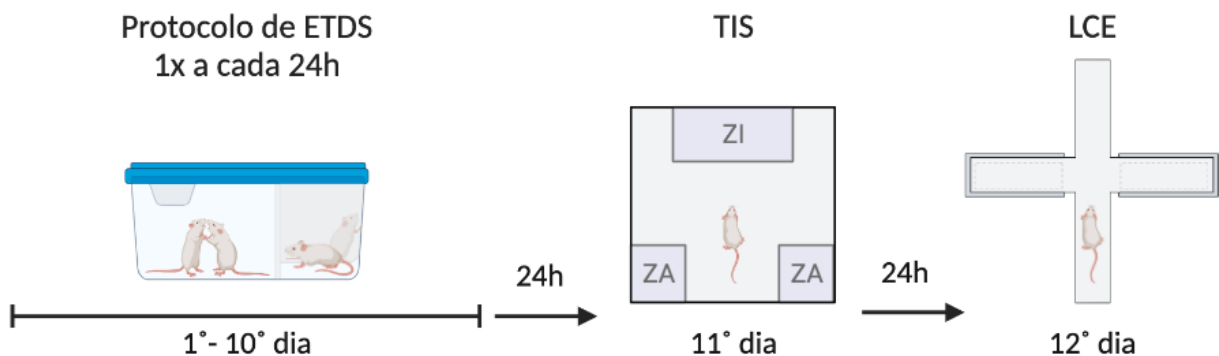


Figura 5. Esquema representativo do protocolo de estudo. ETDS: Estresse de testemunha de derrota social. TIS: Teste de interação social. LCE: Labirinto em cruz elevado. Imagem criada com BioRender.

- Testemunhas: camundongos adolescentes (56 DPN) e adultos (91 DPN) foram divididos em 4 grupos onde (i) adolescentes passaram pelos testes TIS e LCE com intervalo de 24h sem terem passado pelo ETDS (TINA), (ii) adolescentes foram testados no TIS e LCE após o ETDS; (iii) adultos passaram pelos testes TIS e LCE com intervalo de 24h sem terem passado pelo ETDS (TINA), (iv) adultos foram testados no TIS e LCE com intervalo de 24h após o ETDS;

4.6. 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).

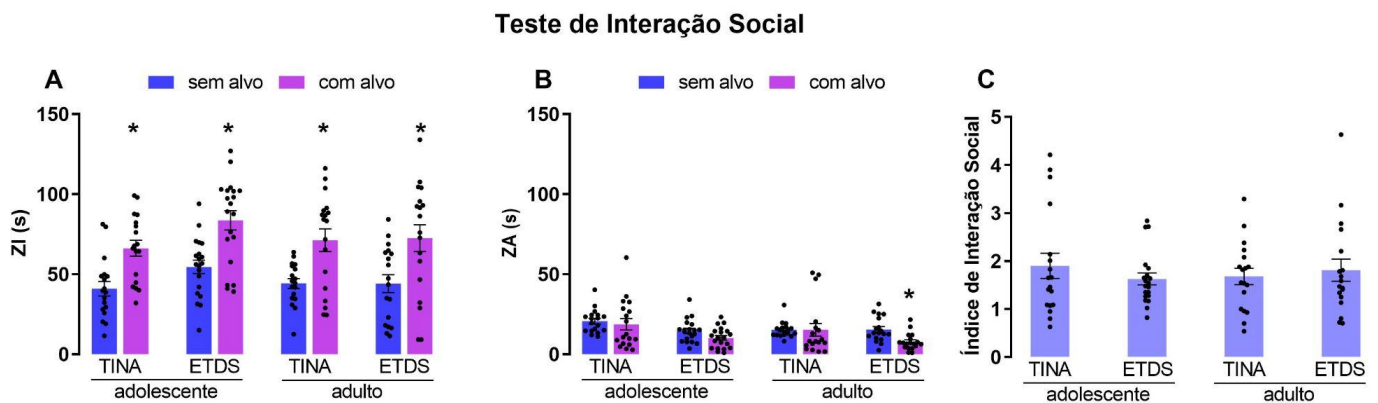
4.7. Análise estatística

Os resultados referentes ao TIS foram submetidos à análise de variância (ANOVA) de três fatores para medidas repetidas [fator 1: condição (TINA ou ETDS); fator 2: idade (adolescente ou adulto); fator 3: alvo (sem ou com alvo)]. Os resultados do LCE foram submetidos à ANOVA de dois fatores (fator 1: condição TINA ou ETDS; fator 2: idade). Nos casos de significância, 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

Na Figura 6, estão apresentados os dados obtidos no teste de interação social. A ANOVA de três vias para medidas repetidas indicou haver diferença significativa no tempo de exploração na ZI na presença do alvo independentemente da idade e da condição [ZI: $F_{1(1,70)} = 2,63$, $p = 0,11$; $F_{2(1,70)} = 0,44$, $p = 0,51$; $F_{3(1,70)} = 102,70$, $p < 0,001$; $F_{1 \times F2 \times F3(1,70)} = 0,04$, $p = 0,83$]. O teste post hoc revelou os animais permaneceram maior tempo na ZI na presença do alvo do que na condição sem o alvo ($p \leq 0,0001$) (Figura 5A). Com relação a zona de afastamento, a ANOVA indicou diferença

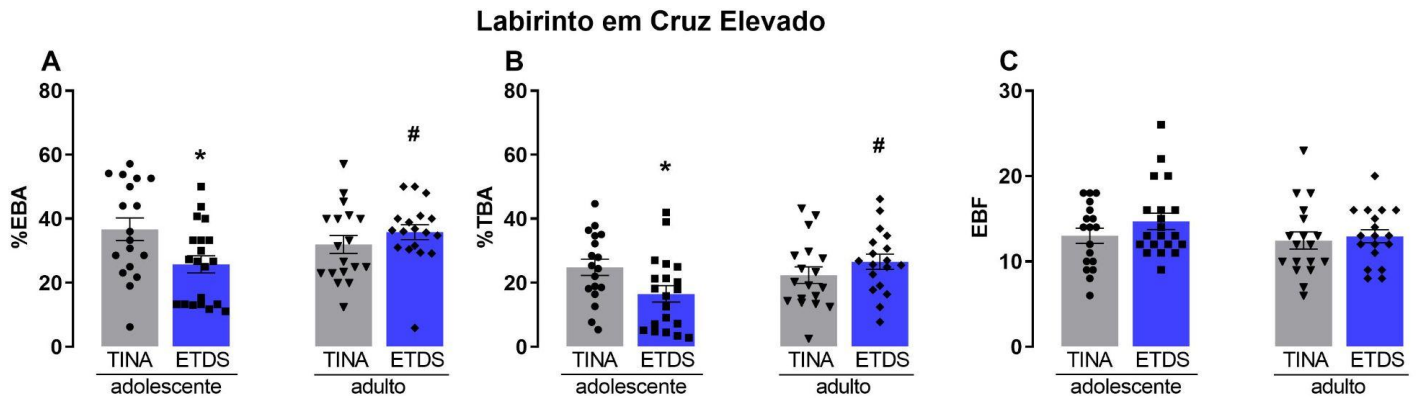


significativa para os fatores condição [$F_{1(1,70)} = 11,08$, $p \leq 0,001$] e alvo [$F_{3(1,70)} = 5,09$, $p = 0,03$], mas sem interação entre os fatores [$F_{2(1,70)} = 2,53$, $p = 0,12$; $F_{1 \times F2 \times F3(1,70)} = 0,73$, $p = 0,40$]. O teste post hoc de Duncan revelou que os animais adultos exploraram por menos tempo a ZA na presença de um camundongo residente ($p = 0,03$) (Figura 6B). Com relação ao índice de interação social, a ANOVA bifatorial indicou não haver diferença significativa entre os grupos [$F_{1(1,70)} = 0,12$, $p = 0,73$; $F_{2(1,70)} = 0,01$, $p = 0,92$; $F_{1 \times F2(1,70)} = 1,02$, $p = 0,32$] (Figura 6C).

Figura 6: Ausência de efeito da idade sobre o comportamento de evitação social em camundongos submetidos ao protocolo de estresse de testemunha de derrota social. 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); o gráfico C é referente à razão da interação social na ZI. As colunas representam as médias (\pm EPM). * $p < 0,05$ comparado ao respectivo grupo sem alvo ($n = 18 - 20$). TINA, testemunhas de interação não-agressiva; ETDS, estresse de testemunha de derrota social; ZI, zona de interação; ZA, zona de afastamento.

Na Figura 7, estão apresentados os comportamentos analisados nos animais

que foram expostos ao LCE após 10 sessões de ETDS. A ANOVA bifatorial indicou interação entre os fatores em relação a %EBA e %TBA [%EBA: $F_{1(1,70)} = 1,54$, $p = 0,22$; $F_{2(1,70)} = 0,87$, $p = 0,35$; $F_{1 \times F_{2(1,70)}} = 6,67$, $p = 0,01$; %TBA: %EBA: $F_{1(1,70)} =$



0,66, $p = 0,42$; $F_{2(1,70)} = 2,30$, $p = 0,13$; $F_{1 \times F_{2(1,70)}} = 6,19$, $p = 0,02$]. O teste *post hoc* apontou que houve diminuição da exploração dos braços abertos [%EBA, $p = 0,01$; %TBA, $p = 0,03$] apenas nos animais adolescentes e que testemunharam o estresse crônico de derrota social (Figuras 7A e 7B). Além disso, a ANOVA bifatorial não indicou diferença estatística para o número de entradas nos braços fechados [$F_{1(1,70)} = 0,12$, $p = 0,73$; $F_{2(1,70)} = 0,01$, $p = 0,92$; $F_{1 \times F_{2(1,70)}} = 1,02$, $p = 0,32$] (Figura 7C), o que sugere que a diminuição de exploração dos braços abertos observada nos animais adolescentes e que testemunharam as derrotas não foi afetada por alteração na atividade locomotora.

Figura 7. Efeito da idade sobre o comportamento de camundongos testemunhas de estresse de derrota social avaliados no Labirinto em Cruz Elevado. O gráfico A representa a porcentagem de entrada no braço aberto pelos 4 grupos. O gráfico B representa a porcentagem de tempo gasto nos braços abertos pelos 4 grupos. O gráfico C representa o número de entradas nos braços fechados pelos 4 grupos. As colunas representam as médias (\pm EPM). * $p < 0,05$ comparado ao respectivo grupo TINA; # $p < 0,05$ comparado ao grupo ETDS adolescente ($n = 18 - 20$). TINA, testemunha de interação não-agressiva; ETDS, estresse de testemunha de derrota social.

6. DISCUSSÃO

Este estudo teve como objetivo ampliar a compreensão da relação entre o testemunho a um evento aversivo e o comportamento relacionado à ansiedade, de forma que se considera a idade do indivíduo, possibilitando maiores questionamentos futuros sobre o assunto. Desta forma, os resultados obtidos neste estudo revelaram que embora não tenhamos observado diferenças significativas entre os grupos para

as respostas relacionadas a evitação social quando os camundongos foram expostos ao TIS, na avaliação realizada no LCE verificamos que os animais adolescentes que testemunharam a derrota social apresentaram aumento de respostas relacionadas a ansiedade quando comparado ao grupo que testemunhou a interação não agressiva.

De forma geral, o TIS desperta tanto o medo quanto a curiosidade nos camundongos por ser uma novidade para eles, sendo assim, espera-se que os camundongos interajam com o alvo durante o teste (GOLDEN et al., 2011; DA COSTA, 2021). Os resultados do presente estudo indicam que os animais ao serem submetidos no teste de interação social não apresentaram evitação social após submetidos ao protocolo de ETDS ou TINA, independentemente da idade, visto que os animais submetidos ao ETDS/TINA permaneceram mais tempo na zona de interação (ZI) com o alvo quando comparado ao tempo na ZI sem o alvo (Figura 6A). Ainda, no comportamento social, os animais adultos do grupo de ETDS permaneceram menos tempo na ZA com o alvo presente em relação ao momento sem o alvo (Figura 6B), indicando maior exploração do aparato. Ao analisar o comportamento do tipo ansioso pelos resultados do LCE observamos que (i) o protocolo não foi capaz de alterar a atividade locomotora dos animais, avaliada pelo número de entradas nos braços fechados do aparato (Figura 7C); (ii) os animais adolescentes apresentaram comportamento ansiogênico quando comparado ao seu grupo controle e aos adultos que passaram pelo mesmo protocolo de ETDS (Figura 7A).

Apesar de ainda haver dúvidas sobre o papel do estresse como causador de comportamentos defensivos (PHILLIPS; CARROLL; DER, 2015), diversos dados da literatura corroboram a forte relação entre o estresse e ansiedade. Adentrando nos estudos que investigaram os efeitos de derrota social, tem-se que os camundongos intrusos submetidos ao estresse crônico de derrota social apresentaram aumento no comportamento defensivo e relacionado à ansiedade, desencadeando a evitação social (COSTA, 2021; DA COSTA, 2021; DA COSTA et al., 2023; HAMMELS et al., 2015; WARREN, 2013).

O mesmo comportamento foi observado também em camundongos adolescentes que passaram pelo estresse crônico de derrota social, demonstrando evitação social até 7 semanas após o fim dos episódios de derrota social (VIDAL et al., 2011). Ademais, o comportamento do camundongo alvo durante o TIS parece ser

determinante para o comportamento de evitação social do camundongo experimental, uma vez que foi observado a falta de evitação social quando o alvo está anestesiado (KRISHNAN et al., 2007). Adicionalmente, estudo desenvolvido por Warren e colaboradores (2013), com protocolo de testemunho de derrota social por 10 dias, foi observado pequena diminuição da interação social avaliada pelo TIS. Entretanto, os autores também descreveram aumento da evitação social pelas testemunhas 1 mês após o término do protocolo de estresse.

Os nossos resultados não indicaram evitação social pelas testemunhas, comportamento que se esperava observar dos grupos controles, porém, seguindo a literatura, não dos camundongos testemunhas. Baseando-se nos achados citados, acredita-se que o estresse ocasionado pelo ETDS não foi intenso o suficiente para ocasionar evitação social logo após o término dos 10 dias de protocolo. Entretanto, de acordo com a literatura, a diminuição da interação social pode ocorrer mesmo quando o TIS é realizado novamente após algumas semanas (WARREN et al., 2013). Apesar da relação entre estresse e ansiedade, ainda não está claro, qual tipo e intensidade do estímulo estressor é capaz de causar consequências como transtornos emocionais. Neste sentido, o estudo realizado por Phillips e colaboradores (2015), com humanos, não evidenciou que os eventos da vida resultaram no aumento dos níveis de ansiedade ao longo do tempo.

O eixo Hipotálamo-Pituitária-Adrenal (HPA) desempenha importante papel na resposta de um indivíduo ao estresse, de forma que os hormônios primários do sistema são o hormônio liberador de corticotropina e vasopressina (DEMPSTER et al., 2007). O glicocorticoide é o produto final da cascata, tendo sua liberação pelo córtex adrenal regulada por um mecanismo de feedback negativo. Na literatura, tem-se que a desregulação do eixo HPA é frequente nos pacientes que apresentam distúrbios de humor, sendo exposto que há alterações no HPA após a exposição a estímulos psicossociais estressores em crianças com alto risco de desenvolvimento de depressão ou já deprimidas (DEMPSTER et al., 2007).

O ambiente social e o estresse parecem estar relacionados de forma que o eixo HPA afeta a interpretação do ambiente social, bem como o ambiente social afeta o eixo HPA, sendo uma região específica do hipocampo (CA2) um possível ponto de interseção dos dois sistemas uma vez que há o aumento da liberação de vasopressina pelo núcleo paraventricular do hipocampo quando o indivíduo está sob estresse

crônico (CALDWELL, 2017; DEMPSTER et al., 2007). A literatura sugere então que a vasopressina interliga as respostas comportamentais e neuroendócrinas frente ao estresse (DEMPSTER et al., 2007).

Além disso, outro fator importante parece ser a familiaridade entre os animais testemunha e camundongo que sofreu estresse físico. Este aspecto se mostra relevante, visto a possibilidade da ocorrência de contágio emocional entre os animais. Neste sentido, como previamente observado na literatura, camundongos testemunhas familiares aos camundongos que sofreram estresse físico apresentam comportamentos relacionados à ansiedade mais intensos do que quando os camundongos não são familiares (JEON et al., 2010; GONZALEZ-LIENCRES, 2014; LAVIOLA et al., 2017; MARTIN et al., 2015). Sendo assim, indo ao encontro da ideia do nosso protocolo de ETDS não ter sido intenso o suficiente, a não-familiaridade entre o intruso e a testemunha é uma possível justificativa para a falta de evitação social pelas testemunhas.

Considerando os dados obtidos no teste do labirinto em cruz elevado, podemos destacar que este aparelho permite a análise de comportamentos relacionados à ansiedade por meio, principalmente, da avaliação do número de entradas e também pelo tempo gasto nos seus braços abertos, uma vez que o teste desencadeia no animal a curiosidade ao ambiente novo, bem como o medo de ser um local com maior luminosidade potencialmente perigoso (RODGERS, 1997; CHOTIWAT; HARRIS, 2006). Sendo assim, quanto menor o tempo gasto pelo animal na exploração aos braços abertos do aparato, maior seria a relação com comportamentos relacionados à ansiedade. Nossos resultados obtidos no LCE permitem complementar a literatura de que o estresse de derrota social resulta em comportamento do tipo ansiogênico não somente em camundongos intrusos (COSTA, 2021; DA COSTA, 2021; DA COSTA et al., 2023; HAMMELS et al., 2015; WARREN, 2013; AVGUSTINOVICH; KOVALENKO; KUDRYAVTSEVA, 2005), mas também em camundongos adolescentes testemunhas de eventos aversivos (KRISHNAN et al., 2007; WARREN, 2013).

Assim como visto para o TIS, há registro do aumento da aversão aos braços abertos pelas testemunhas 1 mês após o término do protocolo de estresse (WARREN et al., 2013), sendo então possível que o protocolo de ETDS não tenha sido intenso para resultar em aversão a lugares iluminados e desconhecidos no grupo de adultos ETDS

(91 DPN) logo após o término do protocolo, porém, torna-se uma possibilidade que houvesse a aversão caso o LCE fosse realizado algumas semanas depois.

Nossos resultados indicam que a idade também é um fator determinante para o desenvolvimento de comportamentos relacionados à ansiedade, visto que os camundongos adolescentes (56 DPN) do nosso estudo já apresentaram a aversão aos braços abertos do LCE ao final do protocolo de estresse. Porém, os nossos dados não vão ao encontro de outros dados da literatura (LAVIOLA et al., 2003), os quais mostram que camundongos de 48 DPN (adolescentes) tiveram maior tempo gasto nos braços abertos do que os camundongos de 35 DPN (juvenis) e 61 DPN (adultos). Assim, torna-se uma possível explicação que a idade utilizada em nosso estudo, ainda que classificada como adolescência (SPEAR, 2000), apresenta comportamentos mais similares aos camundongos adultos.

Em nosso estudo, os animais adultos expostos ao ETDS, além de explorarem mais os braços abertos do aparato em relação aos adolescentes ETDS, ainda apresentaram comportamento similar ao seu grupo controle, situação que corrobora os achados prévios em que adolescentes não possuem menor capacidade em avaliar situações de risco quando comparados a adultos, visto que os adultos exploraram mais um ambiente desconhecido e potencialmente perigoso do que os adolescentes (LAVIOLA et al., 2003; STEINBERG, 2008).

Outra possível explicação para o protocolo de ETDS ter ocasionado um efeito comportamental ansiogênico mais intenso nos adolescentes em comparação aos adultos é o frequente estresse decorrido das novidades durante o desenvolvimento das vias neurais, resultando em um desenvolvimento não linear e, possivelmente, tendo como consequência o efeito do estresse mais intenso quando submetido ao ETDS (LAVIOLA et al., 2003). Cabe destacar que o protocolo de ETDS não alterou a atividade locomotora dos animais, independente da idade, análise feita pelo número de entradas nos braços fechados do aparato, o qual não demonstrou diferença entre os grupos. A discrepância dos resultados relacionados à ansiedade obtidos pelo LCE e pelo TIS é explicada por conta dos diferentes tipos de ansiedade avaliados, sendo que o TIS avalia comportamentos relacionados à interação social, enquanto o LCE estaria mais relacionado as respostas de ansiedade generalizada (CHOTIWAT; HARRIS, 2006; DA COSTA, 2021; GOLDEN et al., 2011).

Por fim, estudos que investigaram os efeitos neuronais do estresse agudo e crônico

evidenciaram que o estresse pode ter consequências estruturais (atrofia dendrítica), funcionais (aumento da liberação de glutamato) e comportamentais (mudanças nas funções cognitivas) a longo prazo (MUSAZZI, 2018; McEWEN 2012). Pode-se explicar resumidamente a relação entre estresse e ansiedade pelo fato de que o primeiro pode desencadear mecanismos de neuroplasticidade, podendo resultar em comportamentos do tipo ansioso. Por sua vez, o estresse crônico (ocasionado por um protocolo novamente de 10 dias) intensifica em grande escala o mecanismo citado, sendo assim, aumentando o comportamento do tipo ansioso (MITRA, 2005).

Considerando aspectos relacionados a neuroplasticidade, que é modulada pelo fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF), o qual apresenta expressão diminuída no hipocampo e no córtex pré-frontal medial e aumento da expressão na amígdala de camundongos intrusos, bem como também testemunhas (CARNEVALI et al., 2020; HAMMELS et al., 2015), é possível que a exposição a protocolos como EDS e ETDS levem a efeitos neurofuncionais nessas áreas pertencentes ao sistema límbico.

7. CONCLUSÃO

O presente trabalho sugere que o estresse ocasionado pelo testemunho do conflito social: (i) não resultou em evitação social, (ii) induziu aumento de comportamentos relacionados à ansiedade apenas em camundongos adolescentes. Assim, o estudo demonstrou que o fator idade como uma importante influência nos animais em respostas relacionadas às emoções ocasionadas pelo protocolo de estresse psicossocial. Os resultados sugerem como possíveis hipóteses que (i) o estresse ocasionado pelo protocolo utilizado não foi impactante o suficiente para resultar em evitação social; (ii) o fato dos animais ETDS não serem familiares dos camundongos intrusos pode ter influenciado a resposta emocional frente ao estresse, sendo então a empatia uma possível variável no desenvolvimento de comportamento do tipo ansioso; (iii) o processo incompleto de desenvolvimento das vias neurais nos animais adolescentes é uma possível justificativa para a divergência de comportamento do tipo ansioso entre os camundongos mais novos e mais velhos.

REFERÊNCIAS

- AVGUSTINOVICH, D. F.; KOVALENKO, I. L.; KUDRYAVTSEVA, N. N. A model of anxious depression: persistence of behavioral pathology. **Neuroscience and behavioral physiology**, v. 35, p. 917-924, 2005.
- CALDWELL, Heather K. et al. Social context, stress, neuropsychiatric disorders, and the vasopressin 1b receptor. *Frontiers in neuroscience*, v. 11, p. 567, 2017.
- CARNEVALI, Luca et al. The contagion of social defeat stress: Insights from rodent studies. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, v. 111, p. 12-18, 2020.
- CASTILLO, ANA REGINA GL. et al. Transtornos de ansiedade. **Revista Brasileira Psiquiatria**, São Paulo, v. 22, supl. 2, p. 20-23, dez. 2000. Disponível em <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-44462000000600006&lng=pt&nrm=iso>. acesso em 25 maio 2020.
- CERQUEIRA, João J.; ALMEIDA, Osborne FX; SOUSA, Nuno. The stressed prefrontal cortex. Left? Right!. **Brain, behavior, and immunity**, v. 22, n. 5, p. 630-638, 2008.
- CHAOULOFF, F. Social stress models in depression research: what do they tell us? **Cell and Tissue Research**, v. 354, n. 1, 27 out. 2013.
- CHOTIWAT, Christina; HARRIS, Ruth BS. Increased anxiety-like behavior during the post-stress period in mice exposed to repeated restraint stress. **Hormones and Behavior**, v. 50, n. 3, p. 489-495, 2006.
- COSTA, Nathália Santos. **Lateralização Funcional Do Córtex Pré Frontal Medial Na Ansiedade Em Camundongos: Avaliações Molecular E Psicofarmacológica**. Tese (Doutorado) - Programa Interinstitucional de Pós-graduação Ciências Fisiológicas, Faculdade de Ciências Farmacêuticas - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Araraquara, 2021.
- CRAWLEY, J.; GOODWIN, F. K. Preliminary report of a simple animal behavior model for the anxiolytic effects of benzodiazepines. *Pharmacology, biochemistry, and behavior*, v. 13, n. 2, p. 167–170, 1980.

CRYAN, J. F.; PAGE, M. E.; LUCKI, I. Differential behavioral effects of the antidepressants reboxetine, fluoxetine, and moclobemide in a modified forced swim test following chronic treatment. **Psychopharmacology**, v. 182, n. 3, p. 335–344, 2005.

CZÉH, B. et al. Chronic Social Stress Inhibits Cell Proliferation in the Adult Medial Prefrontal Cortex: Hemispheric Asymmetry and Reversal by Fluoxetine Treatment. *Neuropsychopharmacology*, v. 32, n. 7, p. 1490–1503, 2007. Doi: <https://doi.org/10.1038/sj.npp.1301275>.

DA COSTA, Vinicius Fresca. **Comportamento Defensivo, Prejuízo Na Memória E Ativação Diferencial Do Hipocampo Dorsal E Ventral Em Camundongos Machos Submetidos Ao Protocolo De Derrota Social**. Dissertação (Mestrado) - Programa Interinstitucional de Pós-graduação Ciências Fisiológicas, Faculdade de Ciências Farmacêuticas - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Araraquara, 2021.

DA COSTA, Vinicius Fresca et al. Emotional-and cognitive-like responses induced by social defeat stress in male mice are modulated by the BNST, amygdala, and hippocampus. **Frontiers in Integrative Neuroscience**, v. 17, p. 1168640, 2023.

DEMPSTER, Emma L. et al. 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. 1189-1195, 2007.

DESLAURIERS, Jessica 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.

DONNER, N. C.; LOWRY, C. A. Sex differences in anxiety and emotional behavior. **Pflügers Archiv - European Journal of Physiology**, v. 465, n. 5, p. 601-626, 16 maio 2013.

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, 107973, 2020.

FEIJÓ, M. Benzodiazepínicos no Tratamento da ansiedade: diferenças entre classes. In: BERNICK, M.A. (Ed) **Benzodiazepínicos: Quatro décadas de experiência**. São Paulo: Edusp, 1999. p. 69-77.

- FILE, Sandra E.; HYDE, J. R. Can social interaction be used to measure anxiety?. **British journal of pharmacology**, v. 62, n. 1, p. 19, 1978.
- FILE, Sandra E.; SETH, Pallab. A review of 25 years of the social interaction test. **European journal of pharmacology**, v. 463, n. 1-3, p. 35-53, 2003.
- FLECK, MARCELO PIO DE ALMEIDA. et al. Diretrizes da Associação Médica Brasileira para o tratamento da depressão (versão integral). **Revista Brasileira de Psiquiatria**, São Paulo, v. 25, n. 2, p. 114-122, June 2003 . Available from <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-44462003000200013&lng=en&nrm=iso>. Acesso em 25 de maio de 2020.
- GALVÃO-COELHO, N. L.; SILVA, H. P. A.; SOUSA, M. B. C. D. Stress response: II. Resilience and vulnerability. *Estudos de Psicologia (Natal)*, v. 20, n. 2, p. 72-81, 2015.
- GEE, D. G.; CASEY, B. J. The impact of developmental timing for stress and recovery. **Neurobiology of Stress**, v. 1, p. 184–194, jan. 2015.
- GOLDEN, S.; COVINGTON, H.; BERTON, O. et al. A standardized protocol for repeated social defeat stress in mice. *Nat Protoc.*, v. 6, p. 1183–1191, 2011.
- GONZALEZ-LIENCRES, Cristina et al. Emotional contagion in mice: the role of familiarity. *Behavioural Brain Research*, v. 263, p. 16-21, 2014.
- 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, jan. 2021.
- GRAEFF, F. G. et al. Pharmacology of human experimental anxiety. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, v. 36, n. 4, p. 421–432, abr. 2003.
- GRAEFF, F.G; FERREIRA NETO, C.; ZANGROSSI JR., H. The elevated T maze as an experimental model of anxiety. *Neurosci Biobehav Rev*, Fayetteville, v. 23, n. 2, p. 237-246, 1998.
- GRIEBEL, G. Hidroxytryptamine-interacting drugs in animal models of anxiety disorders: more 30 years of research. *Pharmacol Ther*, Oxford, v.65, n.3, p.319-395, 1995.
- GULLONE, Eleonora; MOORE, Susan. Adolescent risk-taking and the five-factor model of personality. *Journal of adolescence*, v. 23, n. 4, p. 393-407, 2000.
- HAMMELS, Caroline et al. Defeat stress in rodents: from behavior to molecules. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, v. 59, p. 111-140, 2015
- HOLLIS, F.; KABBAJ, M. Social Defeat as an Animal Model for Depression. *ILAR Journal*, v. 55, n. 2, 1 jan. 2014.

- ICTORIANO, G. et al. Inhibition of the left medial prefrontal cortex (mPFC) prolongs the social defeat-induced anxiogenesis in mice: Attenuation by NMDA receptor blockade in the right mPFC. *Behavioural Brain Research*, v. 378, p. 112312, jan. 2020.
- IGRA, Vivien; IRWIN, Charles E. Theories of adolescent risk-taking behavior. In: **Handbook of adolescent health risk behavior**. Boston, MA: Springer, 1996. p. 35-51.
- IRWIN JR, Charles E.; MILLSTEIN, Susan G. Biopsychosocial correlates of risk-taking behaviors during adolescence: Can the physician intervene?. **Journal of Adolescent Health Care**, v. 7, n. 6, p. S82-S96, 1986.
- JEON, Daejong et al. Observational fear learning involves affective pain system and Cav1.2 Ca²⁺ channels in ACC. **Nature Neuroscience**, v. 13, n. 4, p. 482-488, 2010.
- KRISHNAN, V.; HAN, M.H.; GRAHAM, D.L.; BERTON, O.; RENTHAL, W.; RUSSO, S.J.; NESTLER, E.J. Molecular adaptations underlying susceptibility and resistance to social defeat in brain reward regions. **Cell**, v. 131, n. 2, p. 391–404, 2007.
- LAVIOLA, Giovanni et al. Low empathy-like behaviour in male mice associates with impaired sociability, emotional memory, physiological stress reactivity and variations in neurobiological regulations. **PloS one**, v. 12, n. 12, p. e-0188907, 2017.
- LEE, Eunee et al. Left brain cortical activity modulates stress effects on social behavior. **Scientific reports**, v. 5, n. 1, p. 1-10, 2015.
- LISTER R. G. The use of a plus-maze to measure anxiety in the mouse. **Psychopharmacology**, v. 92, n.2, p. 180–185, 1987.
- MARTIN, Loren J. et al. Reducing social stress elicits emotional contagion of pain in mouse and human strangers. **Current Biology**, v. 25, n. 3, p. 326-332, 2015.
- McEWEN, B. S. Brain on stress: How the social environment gets under the skin. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 109, n. Supplement 2, p. 17180–85, 2012.
- MICZEK K.A.; THOMPSON M.L.; SHUSTER, L. Opioid-like analgesia in defeated mice. **Science**, 215, p. 1520-1522, 1982.
- MITRA, Rupshi et al. Stress duration modulates the spatiotemporal patterns of spine formation in the basolateral amygdala. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 102, n. 26, p. 9371-9376, 2005.
- MORAIS-SILVA, Gessynger; ALVES, Gabrielle Cunha; MARIN, Marcelo T. N-acetylcysteine treatment blocks the development of ethanol-induced behavioural

- sensitization and related Δ FosB alterations. **Neuropharmacology**, v. 110, p. 135-142, 2016.
- MUSAZZI, Laura et al. What acute stress protocols can tell us about PTSD and stress-related neuropsychiatric disorders. **Frontiers in pharmacology**, v. 9, p. 758, 2018.
- NESTLER, Eric J. Δ FosB: A transcriptional regulator of stress and antidepressant responses. **European journal of pharmacology**, v. 753, p. 66-72, 2015.
- PAGE, C. E.; COUTELLIER, L. Prefrontal excitatory/inhibitory balance in stress and emotional disorders: Evidence for over-inhibition. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 105, out. 2019.
- PETIT-DEMOULIERE, B.; CHENU, F.; BOURIN, M. Forced swimming test in mice: a review of antidepressant activity. **Psychopharmacology**, 177, n. 3, p. 245–255, 2005.
- PHILLIPS, Anna C.; CARROLL, Douglas; DER, Geoff. Negative life events and symptoms of depression and anxiety: stress causation and/or stress generation. **Anxiety, Stress, Coping**, v. 28, n. 4, p. 357-371, 2015.
- RODGERS, R. J.; DALVI, Allan. Anxiety, defence and the elevated plus-maze. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 21, n. 6, p. 801-810, 1997.
- ROSEN, J.B.; SCHULKIN, J. From normal fear to pathological anxiety. *Psychological Review*, v. 105, n. 2, p. 325–350, 1980.
- SANTOS-COSTA, Nathália 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, p. 695735, 2021.
- SELYE, H. Stress and the general adaptation syndrome. *British Medical Journal*, v. 1, n. 4667, p. 1383-1392, 1950.
- SORREGOTTI, Tatiani et al. Amygdaloid involvement in the defensive behavior of mice exposed to the open elevated plus-maze. **Behavioural brain research**, v. 338, p. 159-165, 2018.
- SOUTHWICK, D.N; VYTHILINGAM, M.; CHARNEY, D.S. The psychobiology of depression and resilience to stress: implications for prevention and treatment. **Annu Rev Clin Psychol**, Palo Alto, v.1, p.255-291, 2005.
- SOUZA, Ingrid Brasilino Montenegro Bento de. **Depressão experimental induzida pela administração única e repetida dexametasona em camundongos: ferramenta para estudo do potencial antidepressivo de antagonistas NOP**. 2018.

126 f. Tese (Doutorado) - Curso de Psicobiologia, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal (RN), 2018.

SPEAR, Linda P. The adolescent brain and age-related behavioral manifestations. *Neuroscience & biobehavioral reviews*, v. 24, n. 4, p. 417-463, 2000.

STEINBERG, Laurence. A social neuroscience perspective on adolescent risk-taking. **Developmental review**, v. 28, n. 1, p. 78-106, 2008.

SULLIVAN, Ron M.; GRATTON, Alain. Lateralized effects of medial prefrontal cortex lesions on neuroendocrine and autonomic stress responses in rats. **Journal of Neuroscience**, v. 19, n. 7, p. 2834-2840, 1999.

VALZELLI, L. **Psychobiology of aggression and violence**. New York: Raven Press, 1982. 262 p.

VICKERS, Neil J. Animal communication: when i'm calling you, will you answer too?. *Current biology*, v. 27, n. 14, p. R713-R715, 2017.

VICTORIANO, Gabriel et al. Inhibition of the left medial prefrontal cortex (mPFC) prolongs the social defeat-induced anxiogenesis in mice: Attenuation by NMDA receptor blockade in the right mPFC. **Behavioural Brain Research**, v. 378, p. 112312, 2020.

VIDAL, Jose; BUWALDA, Bauke; KOOLHAAS, Jaap M. Male Wistar rats are more susceptible to lasting social anxiety than Wild-type Groningen rats following social defeat stress during adolescence. **Behavioural processes**, v. 88, n. 2, p. 76-80, 2011.

WARREN, Brandon L. et al. Neurobiological sequelae of witnessing stressful events in adult mice. **Biological psychiatry**, v. 73, n. 1, p. 7-14, 2013.

WORLD HEALTH ORGANIZATION et al. **World mental health report: transforming mental health for all**. Geneva: World Health Organization; 2022.