



Victor Conceição Romano

**Efeitos opostos da ioimbina no
condicionamento de medo ao contexto
em ratos Cariocas de Alto e Baixo
congelamento**

Dissertação de Mestrado

Dissertação apresentada como requisito parcial para
obtenção do grau de Mestre pelo Programa de Pós-
graduação em Psicologia (Psicologia Clínica) do
Departamento de Psicologia da PUC- Rio.

Orientador: Prof. Thomas Eichenberg Krahe

Rio de Janeiro
Fevereiro de 2021



Victor Conceição Romano

**Efeitos opostos da ioimbina no
condicionamento de medo ao contexto
em ratos Cariocas de Alto e Baixo
congelamento**

Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre pelo Programa de Pós-Graduação em Psicologia (Psicologia Clínica) da PUC-Rio. Aprovada pela Comissão Examinadora abaixo.

Prof. Thomas Eichenberg Krahe

Orientador

Departamento de Psicologia - PUC-Rio

Prof. Jesus Landeira-Fernandez

Departamento de Psicologia - PUC-Rio

Prof. André Luiz Nunes Freitas

Instituto de Biologia – UFRJ

Rio de Janeiro, 19 de fevereiro de 2021.

Todos os direitos reservados. A reprodução, total ou parcial do trabalho, é proibida sem autorização da universidade, do autor e do orientador.

Victor Conceição Romano

Título de Psicólogo pela Universidade Federal do Pará (UFPA) em 2009.

Ficha Catalográfica

Romano, Victor Conceição

Efeitos opostos da ioimbina no condicionamento de medo ao contexto em ratos Cariocas de Alto e Baixo congelamento / Victor Conceição Romano ; orientador: Thomas Eichenberg Krahe. – 2021.

89 f. : il. color. ; 30 cm

Dissertação (mestrado)—Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro, Departamento de Psicologia, 2021.

Inclui bibliografia

CDD: 150

À minha avó.

Agradedimentos

Aos meus pais que sempre acreditaram em mim, mais do que eu mesmo.

Ao Thomas, meu orientador, cujos ensinamentos foram muito além da técnica.

À Laura, que tornou essa jornada mais leve e sensível.

À Silvia e Flávia pela segurança diária de que tudo daria certo.

Ao André, da Uerj, por compartilhar tanto conhecimento no laboratório.

Ao Yury pelo apoio e parceria.

Ao professor Landeira pela total disponibilidade dada ao meu projeto.

Aos meus amigos, Thiago, Carla e Rodrigo. Sem eles tudo seria muito mais difícil.

Ao CAPES e à PUC-Rio, pelos auxílios concedidos, sem os quais este trabalho não poderia ter sido realizado.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 0001.

Resumo

Romano, Victor Conceição; Krahe, Thomas Eichenberg. **Efeitos opostos da ioimbina no condicionamento de medo ao contexto em ratos Cariocas de Alto e Baixo congelamento.** Rio de Janeiro, 2021. 89 p. Dissertação de Mestrado - Departamento de Psicologia, Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro.

A noradrenalina desempenha um papel central em diversos transtornos relacionados ao medo, como o transtorno de ansiedade generalizada (TAG). Estudos farmacológicos em humanos e animais mostraram que os comportamentos relacionados ao medo podem ser regulados pela aplicação sistêmica de drogas noradrenérgicas. No entanto, as diferenças individuais na ansiedade-traço são frequentemente negligenciadas ao estudar os efeitos não apenas de drogas noradrenérgicas, mas de outros compostos. No presente estudo, examinamos os efeitos da ioimbina, um antagonista do receptor $\alpha 2$ -adrenérgico, em duas linhagens de ratos criados para respostas de alto e baixo congelamento à pistas contextuais previamente associadas a choques nos pés (ratos Carioca de Alto e Baixo Congelamento - CAC e CBC, respectivamente). Descobrimos que a administração sistêmica de ioimbina no segundo dia de condicionamento do medo contextual (sessão de teste) diminuiu significativamente as respostas de congelamento de fêmeas CAC, mas não de machos. No entanto, o tratamento com ioimbina induziu um aumento significativo no comportamento de congelamento de ratos CBC machos e fêmeas. Resultados semelhantes foram observados quando os grupos foram novamente expostos à mesma câmara de condicionamento 6 dias depois. Nossos resultados indicam que, embora a ioimbina leve a efeitos ansiolíticos em ratos CAC, ela tem um efeito ansiogênico nos ratos CBC. Entretanto, esse efeito foi mais evidente nas fêmeas do que nos machos. Nossas descobertas apontam para o papel da noradrenalina na regulação e mediação das respostas de medo em diferentes traços de ansiedade. Além disso, nossos resultados também ressaltam a relevância do uso de ambos os sexos em estudos comportamentais e farmacológicos usando modelos animais de transtornos de ansiedade.

Palavras-chave

Comportamentos relacionados ao medo; Linhas de reprodução; Fenótipos contrastantes; Diferenças de sexo; Antagonista do receptor adrenérgico $\alpha 2$.

Abstract

Romano, Victor Conceição; Krahe, Thomas Eichenberg (Advisor). **Opposite effects of yohimbine on context fear conditioning of Cariocas High- and Low Conditioned rats.** Rio de Janeiro, 2021. 89 p. Dissertação de Mestrado - Departamento de Psicologia, Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro.

Norepinephrine plays a central role in several fear-related disorders, such as generalized anxiety disorder (GAD). Pharmacological studies in humans and animals have shown that fear-related behaviors can be regulated by the systemic application of noradrenergic drugs. However, individual differences in trait anxiety are often overlooked when studying the effects of not only noradrenergic drugs, but other compounds. In the present study we examined the effects of yohimbine, an α_2 -adrenergic receptor antagonist, in two lines of rats bred for high and low freezing responses to contextual cues previously associated with footshocks (Carioca high- and low-conditioned freezing rats - CHF and CLF, respectively). We found that systemic administration of yohimbine on the second day of contextual fear conditioning (test session) significantly decreased the freezing responses of CHF females, but not CHF males. Yet, yohimbine treatment induced a significant increase in freezing behavior of both male and female CLF rats. Similar results were observed when groups were re-exposed to the same conditioning chamber 6 days later. Our findings indicate that while yohimbine leads to anxiolytic effects on CHF rats, it has an anxiogenic effect on CLF ones. However, such effect was more evident in females than in males. Our findings point to the role of norepinephrine in regulating and mediating fear responses in different anxiety traits. Furthermore, our findings also underscore the relevance of using both sexes in behavioral and pharmacological studies using animal models of anxiety disorders.

Keywords

Fear-related behaviors; Breeding lines; Contrasting phenotypes; Sex differences; α_2 -adrenergic receptor antagonist.

Lista de Ilustrações

Tabela 1	Linha de base.....	15
Figura 1	Teste (d2).....	16
Figura 2	Reteste (d8).....	17

Sumário

1. Introdução	10
2. Materiais e métodos	12
2.1 - Animais	12
2.2 - Droga	12
2.3 - Procedimento	12
2.3 - Análise estatística	13
3. Resultados	15
4. Discussão	18
5. Conclusão	20
6. Referências	21
Anexo 1	35
Artigo 1: Opposite effects of yohimbine on context fear conditioning of Cariocas High- and Low conditioned freezing rats	35
Anexo 2	53
Artigo 2: Transtorno de Déficit de Atenção e Hiperatividade (TDAH) em estudos com animais	53

1. Introdução

O medo pode ser etologicamente definido como um estado motivacional provocado por estímulos específicos que dão origem a um comportamento defensivo ou de fuga (Steimer, 2002; Boissy, 1995). Numa perspectiva evolutiva, o medo promove mecanismos de enfrentamentos comportamentais que aumentam as chances de sobrevivência (Perusini & Fanselow, 2015; Adolphs, 2013). No entanto, quando é desproporcional e excessivamente prolongado, pode contribuir para o desenvolvimento de transtornos de ansiedade em humanos (American Psychiatric Association, 2013; Graeff, 2011). Portanto, há um grande interesse em compreender as bases neurais das disfunções relacionadas ao medo. Em particular, o sistema monoaminérgico tem sido alvo de várias investigações e intervenções farmacêuticas (Hillhouse & Porter, 2015). A noradrenalina, por exemplo, desempenha um papel central em vários transtornos relacionados ao medo, como transtorno de ansiedade generalizada (TAG), transtorno de estresse pós-traumático (TEPT), transtorno de déficit de atenção e hiperatividade (TDAH), entre outros (Hohmann et al., 2015; Pietrzak et al., 2013; Ressler & Nemeroff, 1999). Estudos em animais mostraram que os comportamentos relacionados ao medo podem ser regulados por drogas noradrenérgicas, incluindo, entre outras, a ioimbina, um antagonista do receptor $\alpha 2$ -adrenérgico. A ativação deste receptor tem levado a um aumento do medo em ratos e camundongos (Gazarini et al., 2013) e precipitado ataques de pânico em pacientes humanos com transtornos de ansiedade (Pietrzak et al., 2013; Olson et al., 2011).

É bem conhecido que os fatores genéticos desempenham um papel fundamental no tratamento de distúrbios neuropsicológicos relacionados ao medo [para uma revisão, consulte Norrholm & Ressler (2009)]. Para estudar esta questão, muitos grupos empregaram programas de reprodução seletiva bidirecional para produzir linhagens de ratos para respostas comportamentais e/ou neuroendócrinas altas e baixas aos desafios ambientais (Gomes et al., 2013). Empregando esse procedimento de criação seletiva bidirecional, com base em respostas de congelamento ao medo contextual, nosso grupo desenvolveu duas linhagens de animais denominados ratos Carioca com Alto Congelamento (CAC) e Carioca com Baixo Congelamento (CBC) (de Castro Gomes & Landeira-Fernandez, 2008). Em comparação com ratos normais, os animais CAC e CBC apresentam alta e baixa suscetibilidade ao condicionamento de medo contextual, respectivamente. Além disso, os ratos CAC exibem respostas neuroendócrinas

aumentadas, como níveis elevados de corticosterona sérica e hiperativação das regiões cerebrais responsáveis pela regulação do eixo hipotálamo-pituitária-adrenal (HPA) (León et al., 2013).

Curiosamente, resultados recentes do nosso grupo revelaram que as injeções corticais sistêmicas e infralímbicas de *ketanserin* (cetanserina), um bloqueador do receptor 5-HT_{2A}, exerceram efeitos do tipo ansiolítico em ratos CAC, mas efeitos do tipo ansiogênico em ratos CBC (León et al., 2017), apoiando a influência de fatores genéticos sobre os efeitos de drogas usadas para o tratamento de doenças relacionadas ao medo. Assim, considerando as interações substanciais entre os sistemas serotoninérgico e noradrenérgico (Kato et al., 2006; Peters et al., 2004; López-Rubalcava & Lucki, 2000), aqui, investigamos se a ioimbina, um antagonista dos receptores α ₂-adrenérgicos, também exerce perfis distintos de ansiedade em ratos CAC e CBC. Além disso, o sexo é um fator importante no desenvolvimento de transtornos relacionados ao medo (Day & Stevenson, 2020; Velasco et al., 2019; Ramikie & Ressler, 2018), e já demonstramos diferenças de sexo no comportamento de congelamento defensivo em nossa linha de reprodução (Gomes et al., 2011; de Castro Gomes & Landeira-Fernandez, 2008). Portanto, no presente estudo, também investigamos os efeitos da ioimbina em animais CAC e CBC machos e fêmeas.

2. Materiais e métodos

2.1 - Animais

Neste estudo foram utilizados 20 machos (CAC, n = 10; CBC, n = 10) e 22 fêmeas (CAC, n = 11; CBC, n = 11) ratos adultos (209-370 g). Todos os animais nasceram e foram mantidos no biotério da Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro (PUC-Rio). As linhagens Carioca foram seletivamente criadas com base em sua resposta de congelamento alto (CAC) ou baixo (CBC) ao condicionamento do medo contextual (Landeira-Fernandez, 1996). Os animais foram alojados em grupos de quatro, de acordo com sua linha, em temperatura ambiente controlada (24 ± 1 °C) e em ciclo claro/escuro de 12/12h (luzes acesas: 7:00h - luzes apagadas: 19:00h). Comida e água estavam disponíveis *ad libitum* durante todas as fases do estudo. O teste comportamental foi realizado durante o período claro do ciclo claro-escuro. Todos os procedimentos experimentais foram realizados em conformidade com o Comitê de Cuidado e Uso de Animais da Universidade do Estado do Rio de Janeiro (CEUA 234/2012), de acordo com a declaração de Helsinque e com o Guia para o Cuidado e Uso de Animais de Laboratório conforme adotado e promulgado pelo *National Institutes of Health*.

2.2 - Droga

A ioimbina (Sigma, Brasil) foi solubilizada em solução salina estéril (cloreto de sódio a 0,9%) e injetada por via intraperitoneal (1,0 ml/kg) na dose de 1,0 mg/kg (Gazarini et al., 2013). A solução salina foi administrada no mesmo volume de dose para os grupos de controle.

2.3 - Procedimento

Os animais foram manuseados diariamente por 2 minutos durante 5 dias consecutivos antes do teste comportamental. Os procedimentos contextuais de condicionamento do medo foram realizados em dois dias consecutivos e um terceiro dia adicional de reteste, 6 dias depois, conforme já descrito previamente (Gazarini et al., 2013). O teste de condicionamento do medo contextual ocorreu simultaneamente em quatro câmaras de condicionamento (25cm x 20cm x 20cm), cada uma dentro de uma caixa de atenuação de som iluminada por uma lâmpada vermelha (25W). A câmara de

condicionamento possuía piso gradeado (15 eixos de aço inoxidável com espaçamento de 1,5cm) conectado a gerador de choque elétrico e misturador (AVS SCR04, São Paulo, SP, Brasil). Câmeras de vídeo, montadas dentro de cada câmara de observação e conectadas a 4 monitores localizados fora da sala de experimento, permitiram o registro e observação do comportamento dos animais em tempo real. Resumidamente, ratos CAC e CBC machos (n = 20) e fêmeas (n = 22) foram aleatoriamente designados para receber ioimbina (ioi) ou solução salina (sal) 30 minutos antes da sessão de teste (machos: CAC ioi, n = 6; CAC sal, n = 4; CBC ioi, n = 6; CBC sal, n = 4; fêmeas: CAC ioi, n = 7; CAC sal, n = 4; CBC ioi, n = 7; CBC sal, n = 4). Para minimizar o viés do estresse induzido pela injeção, todos os grupos receberam injeções de solução salina no primeiro dia de condicionamento de medo contextual. Trinta minutos após as injeções, os animais foram colocados individualmente nas câmaras (4 animais testados de uma vez) e habituados por 8 minutos (linha de base). A aquisição do medo pareado ao contexto foi induzida em seguida pela administração de três choques elétricos não sinalizados nos pés, administrados com uma força de 1mA, com cada choque durando 1s e um intervalo entre choques de 20s. Após a última apresentação do choque nas patas, um observador treinado, cego ao grupo experimental do animal, pontuou episódios de congelamento - definido como ausência completa de movimentos, exceto aqueles relacionados à respiração - em um intervalo de 2 segundos por 3 minutos. Após este período, o animal foi devolvido à sua gaiola e a câmara foi higienizada com solução de hidróxido de amônia (0,2%). Vinte e quatro horas depois, os animais receberam injeções de ioimbina ou soro fisiológico e 30 minutos depois foram colocados nas mesmas câmaras por 8 minutos para avaliar o condicionamento do medo às pistas contextuais (sessão de teste). Nenhum choque nos pés ou qualquer outro estímulo foi administrado durante esta sessão. O congelamento foi marcado para todo o período que o animal permaneceu na câmara. Após o término da sessão, os animais foram devolvidos às suas gaiolas e levados de volta ao biotério. Uma sessão de reteste foi conduzida 6 dias depois, repetindo exatamente os mesmos procedimentos descritos para a sessão de teste.

2.3 - *Análise estatística*

Todas as análises estatísticas foram realizadas com o software IBM SPSS 23 (SPSS Inc., Chicago, IL, EUA). Uma análise de variância de três fatores (ANOVA) foi usada para analisar a porcentagem do tempo de congelamento durante o condicionamento

do medo contextual, com linhagem reprodutiva (CAC e CBC), droga (ioimbina e solução salina) e sexo como cofatores. Quando efeitos significativos de linhagem reprodutiva e droga, ou interações entre eles foram detectadas, ANOVAs de ordem inferior apropriados foram realizadas, seguido por testes *post hoc* de *Fisher Protected Least Significant Difference* (FPLSD). Para todos os testes estatísticos, a significância foi estabelecida em $p < 0,05$ (bicaudal).

3. Resultados

A Tabela 1 mostra as médias e EPM do percentual do tempo de congelamento dos diferentes grupos experimentais para a linha de base e pós-choque. Como podemos verificar, não foram observadas diferenças significativas, tanto para a linha de base como para o pós-choque, entre as médias dos valores de congelamento dos grupos experimentais que receberam ioimbina e as dos seus respectivos grupos controle que receberam apenas salina.

Tabela 1: Nenhuma diferença na linha de base e nas respostas de congelamento pós-choque (%) dentro dos grupos (dia 1).

		Linha de base		Valor de p	Pós-choque		Valor de p
		Sal	ioi		Sal	ioi	
CAC	Macho	6.25 (± 1.10)	14.80 (± 8.50)	0.40	95.83 (± 1.70)	80.55 (± 13.16)	0.76
	Fêmea	3.13 (± 1.10)	10.94 (± 4.42)	0.13	96.88 (± 1.04)	97.02 (± 1.19)	0.27
CBC	Macho	0.00 (± 0.00)	1.30 (± 0.75)	0.14	55.21 (± 9.22)	50.00 (± 12.27)	0.77
	Fêmea	1.95 (± 1.95)	1.34 (± 0.72)	0.73	68.75 (± 6.48)	77.98 (± 7.48)	0.43

CAC macho: sal (n = 4), ioi (n = 6); CBC macho: sal (n = 4), ioi (n=6); CAC fêmea: sal (n = 4), ioi (n = 7); CBC fêmea: sal (n = 4),ioi (n = 7). Os dados são média $\pm$ SEM. Teste t de Student (bicaudal).

A Figura 1 mostra o efeito da ioimbina no comportamento de congelamento de ratos CAC e CBC machos (Fig. 1A) e fêmeas (Fig. 1B) na sessão de teste. Uma ANOVA de três fatores do comportamento de congelamento na sessão de teste revelou um efeito principal da linhagem [F (1,42) = 168,21, p <0,001] e sexo [F (1,42) = 11,02, p <0,001] bem como da linha de reprodução x interação de tratamento farmacológico [F (1,42) = 9,93, p <0,001]. Nenhum efeito principal do tratamento farmacológico [F (1,42) = 0,15, p = 0,70] ou da interação bidirecional entre linhagem reprodutiva e sexo [F (1,42) = 1,56, p = 0,22], tratamento farmacológico e sexo [F (1,42) = 0,49, p = 0,48] nem da linhagem reprodutiva x tratamento farmacológico x interação de três vias sexo [F (1,42) = 0,78, p = 0,38] foi observado. Conforme ilustrado na Figura 1, a administração sistêmica de ioimbina em ratos CAC machos e fêmeas diminuiu a quantidade de congelamento na sessão de teste, mas este resultado foi estatisticamente significativo apenas entre as fêmeas (Fig. 1B). Por outro lado, o tratamento com ioimbina em ambos os animais CBC

machos e fêmeas induziu um aumento significativo no comportamento de congelamento (Fig. 1). Estes resultados indicam que a administração sistêmica de ioimbina 30 minutos antes da sessão de teste leva a efeitos opostos no condicionamento do medo contextual de ratos CAC e CBC, e que tal efeito foi mais evidente nas fêmeas.

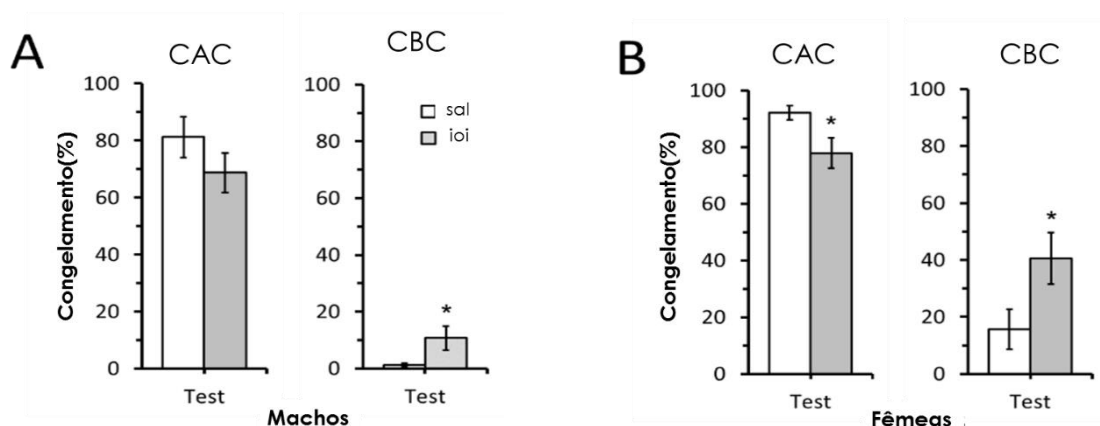


Figura 1 - Efeito da ioimbina nas respostas de congelamento de ratos CAC (esquerda) e CBC (direita) machos (A) e fêmeas (B). Os gráficos ilustram as respostas médias de congelamento (em %) para a sessão de teste (dia 2). ioi, ioimbina; sal, solução salina. Em A, CAC: ioi (n = 6), sal (n = 4); CBC: ioi (n = 6), sal (n = 4). Em B, CAC: ioi (n = 7), sal (n = 4); CBC: ioi (n = 7), sal (n = 4). Barras e símbolos são médias $\pm$ SEM. Teste *post hoc* FPLSD, * p < 0,05.

Em seguida, examinamos se a exposição anterior à ioimbina teria um efeito na extinção da memória de medo. Assim, 6 dias após a sessão de teste, todos os grupos foram reexpostos à mesma câmara de condicionamento (sessão de reteste). A Figura 2 ilustra o comportamento de congelamento de ratos CAC e CBC machos (Fig. 2A) e fêmeas (Fig. 2B) na sessão de reteste. Um padrão semelhante de efeitos e interações foi observado para esta sessão. Uma ANOVA de três fatores indicou um efeito principal da linhagem reprodutiva [$F(1,42) = 90,17$, $p < 0,001$], sexo [$F(1,42) = 15,27$, $p < 0,001$] e interação linhagem reprodutiva x tratamento farmacológico [$F(1,42) = 11,93$, $p < 0,01$]. Nenhum efeito principal do tratamento farmacológico [$F(1,42) = 0,82$, $p = 0,37$], interação bidirecional entre linhagem reprodutiva e sexo [$F(1,42) = 1,77$, $p = 0,19$], tratamento farmacológico e sexo [$F(1,42) = 0,28$, $p = 0,60$] e linhagem reprodutiva x tratamento farmacológico x interação de três vias sexo [$F(1,42) = 1,58$, $p = 0,22$] foi observado. Conforme a Figura 2, todos os grupos exibiram aproximadamente o mesmo padrão de congelamento observado na sessão de teste. Fêmeas CAC, administradas previamente

com ioimbina, apresentaram significativamente menos congelamento do que CAC controles, enquanto os animais CBC tratados exibiram significativamente mais congelamento, quando comparados com seus controles (Fig. 2B). Entre os ratos machos, os animais CAC, que foram expostos à ioimbina, apresentaram significativamente menos congelamento do que o grupo controle (Fig. 2A). No entanto, não foram observadas diferenças significativas entre os animais CBC (Fig. 2A).

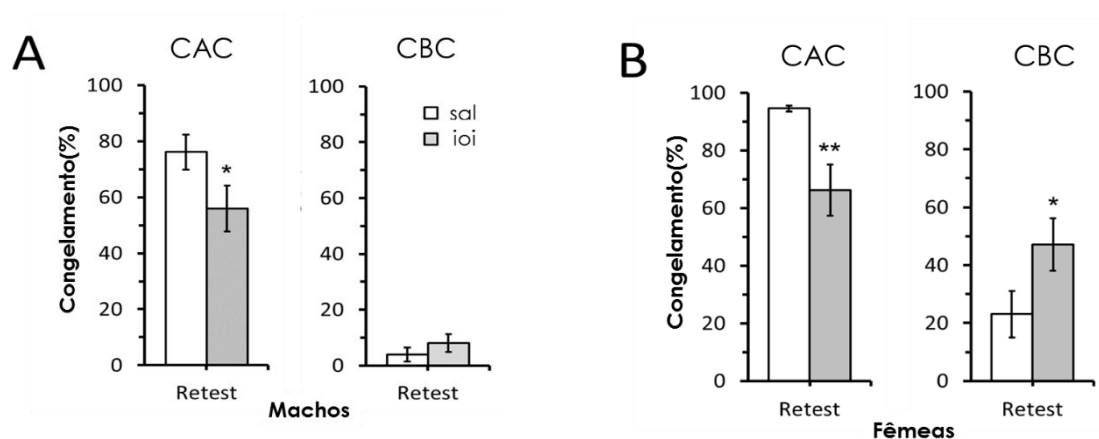


Figura 2 - Efeito da ioimbina nas respostas de congelamento de machos (2A) e fêmeas (2B). Os gráficos ilustram as respostas médias de congelamento (em %) para as sessões de reteste (dia 8). Observe que nem a ioimbina nem as injeções de solução salina foram administradas antes da sessão de reteste (consultar Métodos). ioi, ioimbina; sal, solução salina. Em A, CAC: ioi (n = 6), sal (n = 4); CBC: ioi (n = 6), sal (n = 4). Em B, CAC: ioi (n = 7), sal (n = 4); CBC: ioi (n = 7), sal (n = 4). Barras e símbolos são médias ± SEM. Teste *post hoc* FPLSD, * p <0,05, ** p <0,01.

4. Discussão

O efeito ansiogênico da ioimbina no condicionamento contextual do medo foi demonstrado anteriormente em ratos normais (Gazarini et al., 2013; Johnston et al., 1988). Aqui, um efeito semelhante foi observado em ratos CBC machos e fêmeas. No entanto, em ratos CAC, a ioimbina exerceu um efeito ansiolítico caracterizado por uma diminuição no tempo de congelamento. Portanto, é importante considerar que a ioimbina pode desempenhar um papel regulador ou homeostático na disponibilidade de noradrenalina no sistema nervoso central (SNC). Por um lado, pode atuar favorecendo o aumento dos comportamentos relacionados ao medo em sujeitos com respostas diminuídas em contextos potencialmente perigosos. Em contraste, a ioimbina também pode favorecer a redução de comportamentos defensivos nesses contextos em indivíduos com um padrão excessivo de respostas relacionadas ao medo.

Considerando que a noradrenalina é necessária para a expressão da ansiedade induzida por estresse agudo (Tillage et al., 2020; Gazarini et al., 2013;), a ioimbina pode atuar em ratos CBC neutralizando a ação inibitória mediada por neurônios adrenérgicos no *locus coeruleus* e estimular a liberação de noradrenalina em várias regiões do cérebro (Giustino & Maren, 2018; Tully & Bolshakov, 2010; Bremner et al., 1996). Em ratos CAC, um modelo animal de TAG (Macêdo-Souza et al., 2020; Gomes et al., 2011), a inibição dos receptores α_2 -adrenérgicos pela ioimbina pode minimizar os altos níveis de noradrenalina cerebral nesses animais e, por sua vez, produzir um efeito ansiolítico. Sabe-se que animais submetidos a estresse crônico (Jedema et al., 1999; Irwin et al., 1986;) e pacientes que sofrem de transtornos de ansiedade têm taxas aumentadas de noradrenalina cerebral (Liu et al., 2018; Goddard et al., 2010). Estudos prospectivos são necessários para analisar os níveis de noradrenalina no cérebro desses animais e investigar os mecanismos biológicos que sofrem as alterações causadas pela ioimbina. As implicações de um papel homeostático da ioimbina podem adicionar informações valiosas aos comportamentos de ansiedade mal adaptativos em indivíduos que sofrem de transtornos relacionados ao medo, como TAG, TEPT e TDAH (Hohmann et al., 2015; Pietrzak et al., 2013; Ressler & Nemeroff, 1999).

Além disso, nossos resultados mostraram que os efeitos opostos da ioimbina, ou seja, ansiolítico em CAC e ansiogênico em CBC, foram mais fortemente evidenciados em fêmeas do que em machos. Diferenças relacionadas ao sexo na suscetibilidade a drogas exógenas, como anfetamina, metanfetamina, cocaína, morfina, 3,4-

metilenodioximetanfetamina e 9-tetrahydrocannabinol já foram amplamente relatadas. Por exemplo, enquanto a 3,4-metilenodioximetanfetamina e o 9-tetrahydrocannabinol induziram efeitos ansiogênicos em ratos machos e fêmeas, tal efeito foi mais evidente nas fêmeas (Macúchová et al., 2016). Da mesma forma, descobertas recentes do nosso grupo demonstraram que fêmeas CAC consumiram mais álcool do que os machos CAC em um protocolo de consumo de escolha forçada (Bezerra-Karounis et al., 2020).

5. Conclusão

Nossos resultados sugerem que os efeitos comportamentais da ioimbina podem depender do histórico genético associado às respostas a situações ameaçadoras e, assim, destacam o papel da noradrenalina na regulação e mediação do comportamento de medo em diferentes traços de ansiedade. Além disso, nossas descobertas também reforçam a relevância do uso de ambos os sexos em estudos dos efeitos comportamentais de drogas em modelos animais de transtornos de ansiedade.

As investigações acerca do papel fundamental da noradrenalina, em distúrbios neurocomportamentais humanos, levaram ao desenvolvimento dessa dissertação, e culminaram na produção de dois artigos científicos. O primeiro foi conduzido pelos achados de que a noradrenalina é necessária para a expressão do medo, levando à produção de um experimento que avaliou o efeito de uma droga noradrenérgica, ioimbina, na expressão do comportamento de medo (Anexo 1). O segundo artigo foi conduzido pelo envolvimento da noradrenalina no Transtorno de Déficit de Atenção e Hiperatividade (TDAH), o qual tem sido amplamente estudado por modelos animais desse transtorno, cuja validade de constructo tem determinado, entre outros fatores, o envolvimento do sistema monoaminérgico da noradrenalina na etiologia do TDAH. Os principais modelos animais correntes foram analisados, com foco nas validades de face, de construto e preditiva, e estão descritos e discutidos em um dos artigos anexados (Anexo 2).

Por fim, nossos achados, relacionados a um possível papel regulador e homeostático da ioimbina, levam a hipotetizar que nossos animais com baixa expressão comportamental do medo condicionado (CBC) apresentam alteração no sistema monoaminérgico da noradrenalina, a qual é possivelmente revertida pela estimulação noradrenérgica central da ioimbina. Tal fato caracteriza uma provável validade de construto e preditiva, e eleger o CBC para estudos futuros acerca de um possível modelo animal de TDAH.

6. Referências

- Adolphs, R. (2013). *The Biology of Fear - review de Adolphs 2013.pdf*. 23(2), 79–93.
<https://doi.org/10.1016/j.cub.2012.11.055>.The
- Aldemir, R., Demirci, E., Per, H., Canpolat, M., Özmen, S., & Tokmakçı, M. (2018). Investigation of attention deficit hyperactivity disorder (ADHD) sub-types in children via EEG frequency domain analysis. *International Journal of Neuroscience*, 128(4), 349–360. <https://doi.org/10.1080/00207454.2017.1382493>
- American Psychiatric Association. (2013). *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (DSM-5®), Fifth Edition* (5th ed.).
- Andreatini, R. (2002). A importância dos modelos animais em psiquiatria. *Revista Brasileira de Psiquiatria*, 24(4), 164–164. <https://doi.org/10.1590/s1516-44462002000400003>
- Barkley, R. A. (1997). Behavioral inhibition, sustained attention, and executive functions: Constructing a unifying theory of ADHD. *Psychological Bulletin*, 121(1), 65–94. <https://doi.org/doi.org/10.1037/0033-2909.121.1.65>
- Barr, C. L., Feng, Y., Wigg, K., Bloom, S., Roberts, W., Malone, M., Schachar, R., Tannock, R., & Kennedy, J. L. (2000). Identification of DNA variants in the SNAP-25 gene and linkage study of these polymorphisms and attention-deficit hyperactivity disorder. *Molecular Psychiatry*, 5(4).
<https://doi.org/10.1038/sj.mp.4000733>
- Bendel, P., & Eilam, R. (1992). Quantitation of ventricular size in normal and spontaneously hypertensive rats by magnetic resonance imaging. *Brain Research*, 574(1–2). [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(92\)90820-Y](https://doi.org/10.1016/0006-8993(92)90820-Y)
- Bezerra-Karounis, M. A., Krahe, T. E., Maisonnnette, S., & Landeira-Fernandez, J. (2020). Alcohol intake in Carioca High- and Low-conditioned Freezing rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 197(March), 173019.
<https://doi.org/10.1016/j.pbb.2020.173019>
- Biederman, J., & Spencer, T. (1999). Attention-deficit/hyperactivity disorder (ADHD) as a noradrenergic disorder. *Biological Psychiatry*, 46(9), 1234–1242.
[https://doi.org/10.1016/S0006-3223\(99\)00192-4](https://doi.org/10.1016/S0006-3223(99)00192-4)

- Bobb, A. J., Castellanos, F. X., Addington, A. M., & Rapoport, J. L. (2006). Molecular genetic studies of ADHD: 1991 to 2004. In *American Journal of Medical Genetics, Part B: Neuropsychiatric Genetics* (Vol. 141, Issue 6).
<https://doi.org/10.1002/ajmg.b.30086>
- Boissy, A. (1995). Fear and fearfulness in animals. *Quarterly Review of Biology*, 70(2), 165–191. <https://doi.org/10.1086/418981>
- Bremner, J. D., Krystal, J. H., Southwick, S. M., & Charney, D. S. (1996). Noradrenergic mechanisms in stress and anxiety: I. Preclinical studies. *Synapse*, 23(1), 28–38. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1098-2396\(199605\)23:1<28::AID-SYN4>3.0.CO;2-J](https://doi.org/10.1002/(SICI)1098-2396(199605)23:1<28::AID-SYN4>3.0.CO;2-J)
- Bruno, K. J., Freet, C. S., Twining, R. C., Egami, K., Grigson, P. S., & Hess, E. J. (2007). Abnormal latent inhibition and impulsivity in coloboma mice, a model of ADHD. *Neurobiology of Disease*, 25(1). <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2006.09.009>
- Burd, L., Klug, M. G., Coumbe, M. J., & Kerbeshian, J. (2003). Children and adolescents with attention deficit-hyperactivity disorder: 1. Prevalence and cost of care. *Journal of Child Neurology*, 18(8).
<https://doi.org/10.1177/08830738030180080101>
- Carey, M. P., Diewald, L. M., Esposito, F. J., Pellicano, M. P., Gironi Carnevale, U. A., Sergeant, J. A., Papa, M., & Sadile, A. G. (1998). Differential distribution, affinity and plasticity of dopamine D-1 and D-2 receptors in the target sites of the mesolimbic system in an animal model of ADHD. *Behavioural Brain Research*, 94(1). [https://doi.org/10.1016/S0166-4328\(97\)00178-2](https://doi.org/10.1016/S0166-4328(97)00178-2)
- Catania, A. C. (1998). *Learning: Fourth Edition* (NJ: Prentice Hall Inc (ed.); 4th ed.). NJ: Prentice Hall Inc.
- Cheon, K. A., Ryu, Y. H., Kim, Y. K., Namkoong, K., Kim, C. H., & Lee, J. D. (2003). Dopamine transporter density in the basal ganglia assessed with [123I]IPT SPET in children with attention deficit hyperactivity disorder. *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging*, 30(2). <https://doi.org/10.1007/s00259-002-1047-3>
- Davids, E., Zhang, K., Kula, N. S., Tarazi, F. I., & Baldessarini, R. J. (2002). Effects of norepinephrine and serotonin transporter inhibitors on hyperactivity induced by

neonatal 6-hydroxydopamine lesioning in rats. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 301(3). <https://doi.org/10.1124/jpet.301.3.1097>

Day, H. L. L., & Stevenson, C. W. (2020). The neurobiological basis of sex differences in learned fear and its inhibition. In *European Journal of Neuroscience* (Vol. 52, Issue 1). <https://doi.org/10.1111/ejn.14602>

de Castro Gomes, V., & Landeira-Fernandez, J. (2008). Amygdaloid lesions produced similar contextual fear conditioning disruption in the Carioca high- and low-conditioned freezing rats. *Brain Research*, 1233, 137–145. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2008.07.044>

Dougherty, D. D., Bonab, A. A., Spencer, T. J., Rauch, S. L., Madras, B. K., & Fischman, A. J. (1999). Dopamine transporter density in patients with attention deficit hyperactivity disorder. *Lancet*, 354(9196). [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(99\)04030-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(99)04030-1)

Edyleine Bellini Peroni, E. B. (2015). Compreendendo o impacto do TDAH na dinâmica familiar e as possibilidades de intervenção. *Revista Psicopedagogia*, 32(97), 93–103. http://pepsic.bvsalud.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84862015000100010&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt

Faraone, S. V. (2004). Genetics of adult attention-deficit/hyperactivity disorder. In *Psychiatric Clinics of North America* (Vol. 27, Issue 2). [https://doi.org/10.1016/S0193-953X\(03\)00090-X](https://doi.org/10.1016/S0193-953X(03)00090-X)

Faraone, S. V., Perlis, R. H., Doyle, A. E., Smoller, J. W., Goralnick, J. J., Holmgren, M. A., & Sklar, P. (2005). Molecular genetics of attention-deficit/hyperactivity disorder. In *Biological Psychiatry* (Vol. 57, Issue 11). <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2004.11.024>

Gainetdinov, R., & Caron, M. (2000). An animal model of attention deficit hyperactivity disorder. *Molecular Medicine Today*, 6, 43–44.

Gainetdinov, R. R., Caron, M. G., & Lombroso, P. J. (2001). Genetics of childhood disorders: XXIV. ADHD, part 8: Hyperdopaminergic mice as an animal model of ADHD. *Journal of the American Academy of Child and Adolescent Psychiatry*, 40(3). <https://doi.org/10.1097/00004583-200103000-00020>

- Gazarini, L., Jark Stern, C. A., Carobrez, A. P., & Bertoglio, L. J. (2013). Enhanced noradrenergic activity potentiates fear memory consolidation and reconsolidation by differentially recruiting α 1- and β -adrenergic receptors. *Learning and Memory*, 20(4), 210–219. <https://doi.org/10.1101/lm.030007.112>
- Giustino, T. F., & Maren, S. (2018). Noradrenergic modulation of fear conditioning and extinction. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 12(March), 1–20. <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2018.00043>
- Goddard, A. W., Ball, S. G., Martinez, J., Robinson, M. J., Yang, C. R., Russell, J. M., & Shekhar, A. (2010). Current perspectives of the roles of the central norepinephrine system in anxiety and depression. In *Depression and Anxiety* (Vol. 27, Issue 4). <https://doi.org/10.1002/da.20642>
- Gomes, V. D. C., Eduardo, C., & Silva, B. (2011). The Carioca High and Low Conditioned Freezing Lines : A New Animal Model of Generalized Anxiety Disorder. *Anxiety Disorders*, 1.
- Gomes, V. de C., Hassan, W., Maisonnnette, S., Johnson, L. R., Ramos, A., & Landeira-Fernandez, J. (2013). Behavioral evaluation of eight rat lines selected for high and low anxiety-related responses. *Behavioural Brain Research*, 257, 39–48. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2013.09.028>
- Graeff, F. G. (2011). Defense-related emotions in humans. *Psychology and Neuroscience*, 4(2), 183–189. <https://doi.org/10.3922/j.psns.2011.2.003>
- Granon, S., Passetti, F., Thomas, K. L., Dalley, J. W., Everitt, B. J., & Robbins, T. W. (2000). Enhanced and impaired attentional performance after infusion of D1 dopaminergic receptor agents into rat prefrontal cortex. *Journal of Neuroscience*, 20(3). <https://doi.org/10.1523/jneurosci.20-03-01208.2000>
- Hess, E. J., Collins, K. A., & Wilson, M. C. (1996). Mouse model of hyperkinesis implicates SNAP-25 in behavioral regulation. *Journal of Neuroscience*, 16(9). <https://doi.org/10.1523/jneurosci.16-09-03104.1996>
- Hillhouse, T. M., & Porter, J. H. (2015). A brief history of the development of antidepressant drugs: From monoamines to glutamate. *Experimental and Clinical Psychopharmacology*, 23(1), 1–21. <https://doi.org/10.1037/a0038550>

- Hohmann, S., Hohm, E., Treutlein, J., Blomeyer, D., Jennen-Steinmetz, C., Schmidt, M. H., Esser, G., Banaschewski, T., Brandeis, D., & Laucht, M. (2015). Association of norepinephrine transporter (NET, SLC6A2) genotype with ADHD-related phenotypes: Findings of a longitudinal study from birth to adolescence. *Psychiatry Research*, 226(2–3), 425–433. <https://doi.org/10.1016/j.psychres.2014.12.029>
- Horn, J. L., Janicki, P. K., & Franks, J. J. (1995). Diminished brain synaptic plasma membrane ca^{2+} -atpase activity in spontaneously hypertensive rats: Association with reduced anesthetic requirements. *Life Sciences*, 56(22). [https://doi.org/10.1016/0024-3205\(95\)00170-B](https://doi.org/10.1016/0024-3205(95)00170-B)
- Irwin, J., Ahluwalia, P., & Anisman, H. (1986). Sensitization of norepinephrine activity following acute and chronic footshock. *Brain Research*, 379(1), 98–103. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(86\)90260-X](https://doi.org/10.1016/0006-8993(86)90260-X)
- Jedema, H. P., Sved, A. F., Zigmond, M. J., & Finlay, J. M. (1999). Sensitization of norepinephrine release in medial prefrontal cortex: Effect of different chronic stress protocols. *Brain Research*, 830(2). [https://doi.org/10.1016/S0006-8993\(99\)01369-4](https://doi.org/10.1016/S0006-8993(99)01369-4)
- Johansen, E. B., Aase, H., Meyer, A., & Sagvolden, T. (2002). Attention-deficit/hyperactivity disorder (ADHD) behaviour explained by dysfunctioning reinforcement and extinction processes. *Behavioural Brain Research*, 130(1–2). [https://doi.org/10.1016/S0166-4328\(01\)00434-X](https://doi.org/10.1016/S0166-4328(01)00434-X)
- Johnston, A. L., Baldwin, H. A., & File, S. E. (1988). Measures of anxiety and stress in the rat following chronic treatment with yohimbine. *Journal of Psychopharmacology*, 2(1). <https://doi.org/10.1177/026988118800200106>
- Jones, M. D., Williams, M. E., & Hess, E. J. (2000). Abnormal presynaptic catecholamine regulation in a hyperactive SNAP-25-deficient mouse mutant. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 68(4). [https://doi.org/10.1016/S0091-3057\(01\)00481-6](https://doi.org/10.1016/S0091-3057(01)00481-6)
- Jones, Michelle D., & Hess, E. J. (2003). Norepinephrine regulates locomotor hyperactivity in the mouse mutant coloboma. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 75(1). [https://doi.org/10.1016/S0091-3057\(03\)00073-X](https://doi.org/10.1016/S0091-3057(03)00073-X)
- Jones, Michelle D., Williams, M. E., & Hess, E. J. (2001). Expression of

- catecholaminergic mRNAs in the hyperactive mouse mutant coloboma. *Molecular Brain Research*, 96(1–2). [https://doi.org/10.1016/S0169-328X\(01\)00281-9](https://doi.org/10.1016/S0169-328X(01)00281-9)
- Kato, M., Fukuda, T., Wakeno, M., Fukuda, K., Okugawa, G., Ikenaga, Y., Yamashita, M., Takekita, Y., Nobuhara, K., Azuma, J., & Kinoshita, T. (2006). Effects of the serotonin type 2A, 3A and 3B receptor and the serotonin transporter genes on paroxetine and fluvoxamine efficacy and adverse drug reactions in depressed Japanese patients. *Neuropsychobiology*, 53(4). <https://doi.org/10.1159/000094727>
- Klein, M., Onnink, M., van Donkelaar, M., Wolfers, T., Harich, B., Shi, Y., Dammers, J., Arias-Vásquez, A., Hoogman, M., & Franke, B. (2017). Brain imaging genetics in ADHD and beyond – Mapping pathways from gene to disorder at different levels of complexity. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 80, 115–155. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2017.01.013>
- Krause, K. H., Dresel, S. H., Krause, J., Kung, H. F., & Tatsch, K. (2000). Increased striatal dopamine transporter in adult patients with attention deficit hyperactivity disorder: Effects of methylphenidate as measured by single photon emission computed tomography. *Neuroscience Letters*, 285(2). [https://doi.org/10.1016/S0304-3940\(00\)01040-5](https://doi.org/10.1016/S0304-3940(00)01040-5)
- Landeira-Fernandez, J. (1996). Context and Pavlovian conditioning. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 29(2).
- Laura, A. L. A., Gomes, V. C., Brandão, M. L., Rodrigues, C., Cardenas, F. P., & Landeira-Fernandez, J. (2013). Corticosterone plasma concentrations in Carioca High-and Low-conditioned freezing rats after a fear conditioned task. *Avances En Psicología Latinoamericana*, 31(1), 279–287.
- Lehohla, M., Kellaway, L., & Russell, V. A. (2004). NMDA receptor function in the prefrontal cortex of a rat model for attention-deficit hyperactivity disorder. *Metabolic Brain Disease*, 19(1–2). <https://doi.org/10.1023/B:MEBR.0000027415.75432.ad>
- Lehohla, M., Russell, V., & Kellaway, L. (2001). NMDA-stimulated Ca²⁺ uptake into barrel cortex slices of spontaneously hypertensive rats. *Metabolic Brain Disease*, 16(3–4). <https://doi.org/10.1023/A:1012532709306>
- León, L. A., Castro-Gomes, V., Zárate-Guerrero, S., Corredor, K., Mello Cruz, A. P.,

- Brandão, M. L., Cardenas, F. P., & Landeira-Fernandez, J. (2017). Behavioral effects of systemic, infralimbic and prelimbic injections of a serotonin 5-HT2A antagonist in carioca high- and low-conditioned freezing rats. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 11(July), 1–13.
<https://doi.org/10.3389/fnbeh.2017.00117>
- Liu, Y., Zhao, J., & Guo, W. (2018). Emotional roles of mono-aminergic neurotransmitters in major depressive disorder and anxiety disorders. In *Frontiers in Psychology* (Vol. 9, Issue NOV). <https://doi.org/10.3389/fpsyg.2018.02201>
- Ljungdahl, Å., Hökfelt, T., Nilsson, G., & Goldstein, M. (1978). Distribution of substance P-like immunoreactivity in the central nervous system of the rat-II. Light microscopic localization in relation to catecholamine-containing neurons. *Neuroscience*, 3(10). [https://doi.org/10.1016/0306-4522\(78\)90117-3](https://doi.org/10.1016/0306-4522(78)90117-3)
- López-Rubalcava, C., & Lucki, I. (2000). Strain differences in the behavioral effects of antidepressant drugs in the rat forced swimming test. *Neuropsychopharmacology*, 22(2). [https://doi.org/10.1016/S0893-133X\(99\)00100-1](https://doi.org/10.1016/S0893-133X(99)00100-1)
- Lou, H. C., Henriksen, L., Bruhn, P., Børner, H., & Nielsen, J. B. (1989). Striatal Dysfunction in Attention Deficit and Hyperkinetic Disorder. *Archives of Neurology*, 46(1). <https://doi.org/10.1001/archneur.1989.00520370050018>
- Luthman, J., Fredriksson, A., Lewander, T., Jonsson, G., & Archer, T. (1989). Effects of d-amphetamine and methylphenidate on hyperactivity produced by neonatal 6-hydroxydopamine treatment. *Psychopharmacology*, 99(4), 550–557.
<https://doi.org/10.1007/BF00589907>
- Macêdo-Souza, C., Maisonnète, S. S., Filgueiras, C. C., Landeira-Fernandez, J., & Krahe, T. E. (2020). Cued Fear Conditioning in Carioca High- and Low-Conditioned Freezing Rats. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 13(January), 1–9. <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2019.00285>
- Macúchová, E., Ševčíková, M., Hřebíčková, I., Nohejlová, K., & Šlamberová, R. (2016). How various drugs affect anxiety-related behavior in male and female rats prenatally exposed to methamphetamine. *International Journal of Developmental Neuroscience*, 51, 1–11. <https://doi.org/10.1016/j.ijdevneu.2016.04.001>
- Maggi, C. A. (1995). The mammalian tachykinin receptors. In *General Pharmacology*

- (Vol. 26, Issue 5). [https://doi.org/10.1016/0306-3623\(94\)00292-U](https://doi.org/10.1016/0306-3623(94)00292-U)
- Malenka, R. C., & Nicoll, R. A. (1999). Long-term potentiation - A decade of progress? In *Science* (Vol. 285, Issue 5435). <https://doi.org/10.1126/science.285.5435.1870>
- Mignini, F., Vitaioli, L., Sabbatini, M., Tomassoni, D., & Amenta, F. (2004). The cerebral cortex of spontaneously hypertensive rats: A quantitative microanatomical study. *Clinical and Experimental Hypertension*, 26(4). <https://doi.org/10.1081/CEH-120034135>
- Mill, J., Curran, S., Kent, L., Gould, A., Hockett, L., Richards, S., Taylor, E., & Asherson, P. (2002). Association study of a SNAP-25 microsatellite and attention deficit hyperactivity disorder. *American Journal of Medical Genetics - Neuropsychiatric Genetics*, 114(3). <https://doi.org/10.1002/ajmg.10253>
- Moraes, C. de, Silva, F. M. B. N., & Andrade, Ê. R. de. (2007). Diagnóstico e tratamento de transtorno bipolar e TDAH na infância: desafios na prática clínica. *Jornal Brasileiro de Psiquiatria*, 56(suppl 1), 19–24. <https://doi.org/10.1590/s0047-20852007000500005>
- Moreno-García, I., Meneres-Sancho, S., Camacho-Vara de Rey, C., & Servera, M. (2019). A Randomized Controlled Trial to Examine the Posttreatment Efficacy of Neurofeedback, Behavior Therapy, and Pharmacology on ADHD Measures. *Journal of Attention Disorders*, 23(4). <https://doi.org/10.1177/1087054717693371>
- Myers, M. M., Musty, R. E., & Hendley, E. D. (1982). Attenuation of hyperactivity in the spontaneously hypertensive rat by amphetamine. *Behavioral and Neural Biology*, 34(1). [https://doi.org/10.1016/S0163-1047\(82\)91397-8](https://doi.org/10.1016/S0163-1047(82)91397-8)
- Norrholm, S. D., & Ressler, K. J. (2009). Genetics of anxiety and trauma-related disorders. In *Neuroscience* (Vol. 164, Issue 1). <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2009.06.036>
- Okamoto, K., & Aoki, K. (1963). Development of a strain of spontaneously hypertensive rats. *JAPANESE CIRCULATION JOURNAL*, 27(3). <https://doi.org/10.1253/jcj.27.282>
- Olson, V. G., Rockett, H. R., Reh, R. K., Redila, V. A., Tran, P. M., Venkov, H. A., Defino, M. C., Hague, C., Peskind, E. R., Szot, P., & Raskind, M. A. (2011). The

- role of norepinephrine in differential response to stress in an animal model of posttraumatic stress disorder. *Biological Psychiatry*, 70(5), 441–448.
<https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2010.11.029>
- Park, L., Nigg, J. T., Waldman, I. D., Nummy, K. A., Huang-Pollock, C., Rappley, M., & Friderici, K. H. (2005). Association and linkage of α -2A adrenergic receptor gene polymorphisms with childhood ADHD. *Molecular Psychiatry*, 10(6).
<https://doi.org/10.1038/sj.mp.4001605>
- Paule, M. G., Rowland, A. S., Ferguson, S. A., Chelonis, J. J., Tannock, R., Swanson, J. M., & Castellanos, F. X. (2000). Attention deficit/hyperactivity disorder: Characteristics, interventions and models. *Neurotoxicology and Teratology*, 22(5).
[https://doi.org/10.1016/S0892-0362\(00\)00095-7](https://doi.org/10.1016/S0892-0362(00)00095-7)
- Perusini, J. N., & Fanselow, M. S. (2015). Neurobehavioral perspectives on the distinction between fear and anxiety. *Learning and Memory*, 22(9), 417–425.
<https://doi.org/10.1101/lm.039180.115>
- Peters, E. J., Slager, S. L., McGrath, P. J., Knowles, J. A., & Hamilton, S. P. (2004). Investigation of serotonin-related genes in antidepressant response. *Molecular Psychiatry*, 9(9). <https://doi.org/10.1038/sj.mp.4001502>
- Pietrzak, R. H., Gallezot, J. D., Ding, Y. S., Henry, S., Potenza, M. N., Southwick, S. M., Krystal, J. H., Carson, R. E., & Neumeister, A. (2013). Association of posttraumatic stress disorder with reduced in vivo norepinephrine transporter availability in the locus coeruleus. *JAMA Psychiatry*, 70(11), 1199–1205.
<https://doi.org/10.1001/jamapsychiatry.2013.399>
- Puumala, T., Ruotsalainen, S., Jäkälä, P., Koivisto, E., Riekkinen, P., & Sirviö, J. (1996). Behavioral and pharmacological studies on the validation of a new animal model for attention deficit hyperactivity disorder. *Neurobiology of Learning and Memory*, 66(2). <https://doi.org/10.1006/nlme.1996.0060>
- Raber, J., Mehta, P. P., Kreifeldt, M., Parsons, L. H., Weiss, F., Bloom, F. E., & Wilson, M. C. (1997). Coloboma hyperactive mutant mice exhibit regional and transmitter-specific deficits in neurotransmission. *Journal of Neurochemistry*, 68(1). <https://doi.org/10.1046/j.1471-4159.1997.68010176.x>
- Ramikie, T. S., & Ressler, K. J. (2018). Mechanisms of Sex Differences in Fear and

Posttraumatic Stress Disorder. In *Biological Psychiatry* (Vol. 83, Issue 10).
<https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2017.11.016>

- Rastogi, R. B., & Singhal, R. L. (1976). Influence of neonatal and adult hyperthyroidism on behavior and biosynthetic capacity for norepinephrine, dopamine and 5 hydroxytryptamine in rat brain. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 198(3).
- Ressler, K. J., & Nemeroff, C. B. (1999). Role of norepinephrine in the pathophysiology and treatment of mood disorders. *Biological Psychiatry*, 46(9), 1219–1233.
[https://doi.org/10.1016/S0006-3223\(99\)00127-4](https://doi.org/10.1016/S0006-3223(99)00127-4)
- Ribeiro-da-Silva, A., & Hökfelt, T. (2000). Neuroanatomical localisation of substance P in the CNS and sensory neurons. *Neuropeptides*, 34(5).
<https://doi.org/10.1054/npep.2000.0834>
- Robbins, T. W. (2002). The 5-choice serial reaction time task: Behavioural pharmacology and functional neurochemistry. In *Psychopharmacology* (Vol. 163, Issues 3–4). <https://doi.org/10.1007/s00213-002-1154-7>
- Ruocco, L. A., Carnevale, U. A. G., Sadile, A. G., Sica, A., Arra, C., Di Maio, A., Topo, E., & D’Aniello, A. (2009). Elevated forebrain excitatory l-glutamate, l-aspartate and d-aspartate in the Naples high-excitability rats. *Behavioural Brain Research*, 198(1). <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2008.11.029>
- Ruocco, Lucia A., de Souza Silva, M. A., Topic, B., Mattern, C., Huston, J. P., & Sadile, A. G. (2009). Intranasal application of dopamine reduces activity and improves attention in Naples High Excitability rats that feature the mesocortical variant of ADHD. *European Neuropsychopharmacology*, 19(10).
<https://doi.org/10.1016/j.euroneuro.2009.02.005>
- Russell, Vivienne A. (2001). Increased AMPA receptor function in slices containing the prefrontal cortex of spontaneously hypertensive rats. *Metabolic Brain Disease*, 16(3–4). <https://doi.org/10.1023/A:1012584826144>
- Russell, Vivienne A., Oades, R. D., Tannock, R., Killeen, P. R., Auerbach, J. G., Johansen, E. B., & Sagvolden, T. (2006). Response variability in Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder: A neuronal and glial energetics hypothesis. *Behavioral and Brain Functions*, 2. <https://doi.org/10.1186/1744-9081-2-30>

- Russell, Vivienne A., Sagvolden, T., & Johansen, E. B. (2005). Animal models of attention-deficit hyperactivity disorder. *Behavioral and Brain Functions*, 1, 1–17. <https://doi.org/10.1186/1744-9081-1-9>
- Russell, Vivienne Ann. (2011). Overview of animal models of attention deficit hyperactivity disorder (ADHD). *Current Protocols in Neuroscience*, SUPPL.54, 1–25. <https://doi.org/10.1002/0471142301.ns0935s54>
- SADILE A.G., U.A, G. C., E, V., L.A, C., H., W., & K, B. (1988). Maze learning of the Naples High and Low-Excitability rat lines. *Adv Biosci*, 70(177–180.).
- Sagvolden, T., & Sergeant, J. A. (1998). Attention deficit/hyperactivity disorder - From brain dysfunctions to behaviour. In *Behavioural Brain Research* (Vol. 94, Issue 1). [https://doi.org/10.1016/S0166-4328\(97\)00164-2](https://doi.org/10.1016/S0166-4328(97)00164-2)
- Sagvolden, Terje. (2000). Behavioral validation of the spontaneously hypertensive rat (SHR) as an animal model of attention-deficit/hyperactivity disorder (AD/HD). *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 24(1). [https://doi.org/10.1016/S0149-7634\(99\)00058-5](https://doi.org/10.1016/S0149-7634(99)00058-5)
- Sagvolden, Terje, Aase, H., Zeiner, P., & Berger, D. (1998). Altered reinforcement mechanisms in attention-deficit/hyperactivity disorder. *Behavioural Brain Research*, 94(1). [https://doi.org/10.1016/S0166-4328\(97\)00170-8](https://doi.org/10.1016/S0166-4328(97)00170-8)
- Sagvolden, Terje, Russell, V. A., Aase, H., Johansen, E. B., & Farshbaf, M. (2005). Rodent models of attention-deficit/hyperactivity disorder. *Biological Psychiatry*, 57(11), 1239–1247. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2005.02.002>
- Shaywitz, B. A., Klopfer, J. H., & Gordon, J. W. (1978). Methylphenidate in 6-Hydroxydopamine-Treated Developing Rat Pups: Effects on Activity and Maze Performance. *Archives of Neurology*, 35(7). <https://doi.org/10.1001/archneur.1978.00500310065014>
- Siesser, W. B., Zhao, J., Miller, L. R., Cheng, S. Y., & McDonald, M. P. (2006). Transgenic mice expressing a human mutant $\beta 1$ thyroid receptor are hyperactive, impulsive, and inattentive. *Genes, Brain and Behavior*, 5(3). <https://doi.org/10.1111/j.1601-183X.2005.00161.x>
- Silva, A. B. B. (2014). *Mentes inquietas: TDAH Desatenção, Hiperatividade e*

Impulsividade. (Globo (ed.); 4th ed.). Globo.

Steimer, T. (2002). The biology of fear- and anxiety-related behaviors. *Dialogues in Clinical Neuroscience*, 4(3), 231–249.

<https://doi.org/10.31887/dcns.2002.4.3/tsteimer>

Taylor, E. (1998). Clinical foundations of hyperactivity research. *Behavioural Brain Research*, 94(1). [https://doi.org/10.1016/S0166-4328\(97\)00165-4](https://doi.org/10.1016/S0166-4328(97)00165-4)

Thapar, A., O'Donovan, M., & Owen, M. J. (2005). The genetics of attention deficit hyperactivity disorder. *Human Molecular Genetics*, 14(SUPPL. 2).

<https://doi.org/10.1093/hmg/ddi263>

Tillage, R. P., Foster, S. L., Lustberg, D., Liles, L. C., & Weinshenker, D. (2020). Co-released Norepinephrine and Galanin Act on Different Timescales to Promote Stress-Induced Anxiety-Like Behavior. *BioRxiv*, 1–25.

<https://doi.org/doi.org/10.1101/2020.12.05.413138>

Tomassoni, D., Bellagamba, G., Postacchini, D., Venarucci, D., & Amenta, F. (2004). Cerebrovascular and brain microanatomy in spontaneously hypertensive rats with streptozotocin-induced diabetes. *Clinical and Experimental Hypertension*, 26(4).

<https://doi.org/10.1081/CEH-120034136>

Trinh, J. V., Nehrenberg, D. L., Jacobsen, J. P. R., Caron, M. G., & Wetsel, W. C. (2003). Differential psychostimulant-induced activation of neural circuits in dopamine transporter knockout and wild type mice. *Neuroscience*, 118(2).

[https://doi.org/10.1016/S0306-4522\(03\)00165-9](https://doi.org/10.1016/S0306-4522(03)00165-9)

Tully, K., & Bolshakov, V. Y. (2010). Emotional enhancement of memory: How norepinephrine enables synaptic plasticity. *Molecular Brain*, 3(1), 1–9.

<https://doi.org/10.1186/1756-6606-3-15>

Velasco, E. R., Florido, A., Milad, M. R., & Andero, R. (2019). Sex differences in fear extinction. In *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* (Vol. 103).

<https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2019.05.020>

Viggiano, D., Ruocco, L. A., Arcieri, S., & Sadile, A. G. (2004). Involvement of norepinephrine in the control of activity and attentive processes in animal models of attention deficit hyperactivity disorder. *Neural Plasticity*, 11(1–2), 133–149.

<https://doi.org/10.1155/NP.2004.133>

Volkow, N. D., Wang, G. J., Fowler, J. S., Logan, J., Franceschi, D., Maynard, L., Ding, Y. S., Gatley, S. J., Gifford, A., Zhu, W., & Swanson, J. M. (2002). Relationship between blockade of dopamine transporters by oral methylphenidate and the increases in extracellular dopamine: Therapeutic implications. *Synapse*, 43(3). <https://doi.org/10.1002/syn.10038>

Watanabe, Y., Fujita, M., Ito, Y., Okada, T., Kusuoka, H., & Nishimura, T. (1997). Brain dopamine transporter in spontaneously hypertensive rats. *Journal of Nuclear Medicine*, 38(3).

Wiersema, J. R., Van Der Meere, J. J., & Roeyers, H. (2005). ERP correlates of impaired error monitoring in children with ADHD. *Journal of Neural Transmission*, 112(10). <https://doi.org/10.1007/s00702-005-0276-6>

Willner, P. (1986). Validation criteria for animal models of human mental disorders: Learned helplessness as a paradigm case. *Progress in Neuropsychopharmacology and Biological Psychiatry*, 10(6). [https://doi.org/10.1016/0278-5846\(86\)90051-5](https://doi.org/10.1016/0278-5846(86)90051-5)

Wilson, M. C. (2000). Coloboma mouse mutant as an animal model of hyperkinesia and attention deficit hyperactivity disorder. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 24(1). [https://doi.org/10.1016/S0149-7634\(99\)00064-0](https://doi.org/10.1016/S0149-7634(99)00064-0)

Xavier Castellanos, F., Lee, P. P., Sharp, W., Jeffries, N. O., Greenstein, D. K., Clasen, L. S., Blumenthal, J. D., James, R. S., Ebens, C. L., Walter, J. M., Zijdenbos, A., Evans, A. C., Giedd, J. N., & Rapoport, J. L. (2002). Developmental trajectories of brain volume abnormalities in children and adolescents with attention-deficit/hyperactivity disorder. *Journal of the American Medical Association*, 288(14). <https://doi.org/10.1001/jama.288.14.1740>

Yan, T. C., McQuillin, A., Thapar, A., Asherson, P., Hunt, S. P., Stanford, S. C., & Gurling, H. (2010). NK1 (TACR1) receptor gene knockout mouse phenotype predicts genetic association with ADHD. *Journal of Psychopharmacology*, 24(1). <https://doi.org/10.1177/0269881108100255>

Yan, Ting C., Hunt, S. P., & Stanford, S. C. (2009). Behavioural and neurochemical abnormalities in mice lacking functional tachykinin-1 (NK1) receptors: A model of attention deficit hyperactivity disorder. In *Neuropharmacology* (Vol. 57, Issues 7–

8). <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2009.08.021>

Yan, Ting Carrie, Dudley, J. A., Weir, R. K., Grabowska, E. M., Peña-Oliver, Y., Ripley, T. L., Hunt, S. P., Stephens, D. N., & Stanford, S. C. (2011). Performance deficits of NK1 receptor knockout mice in the 5-choice serial reaction-time task: Effects of d-amphetamine, stress and time of day. *PLoS ONE*, 6(3). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0017586>

Zametkin AJ, & Rapoport JL. (1987). *Noradrenergic hypothesis of attention deficit disorder with hyperactivity: A critical review*. (: Meltzer HY (ed.)). Raven Press.

Zhang, K., Davids, E., Tarazi, F. I., & Baldessarini, R. J. (2002a). Effects of dopamine D4 receptor-selective antagonists on motor hyperactivity in rats with neonatal 6-hydroxydopamine lesions. *Psychopharmacology*, 161(1). <https://doi.org/10.1007/s00213-002-1018-1>

Zhang, K., Davids, E., Tarazi, F. I., & Baldessarini, R. J. (2002b). Serotonin transporter binding increases in caudate-putamen and nucleus accumbens after neonatal 6-hydroxydopamine lesions in rats: Implications for motor hyperactivity. *Developmental Brain Research*, 137(2). [https://doi.org/10.1016/S0165-3806\(02\)00436-4](https://doi.org/10.1016/S0165-3806(02)00436-4)

Zhang, K., Tarazi, F. I., & Baldessarini, R. J. (2001). Role of dopamine D4 receptors in motor hyperactivity induced by neonatal 6-hydroxydopamine lesions in rats. *Neuropsychopharmacology*, 25(5). [https://doi.org/10.1016/S0893-133X\(01\)00262-7](https://doi.org/10.1016/S0893-133X(01)00262-7)

Anexo 1

Artigo 1: Opposite effects of yohimbine on context fear conditioning of Cariocas
High- and Low conditioned freezing rats

Opposite effects of yohimbine on context fear conditioning of Cariocas High- and Low conditioned freezing rats

Victor C. Romano, Laura Balthazar, Silvia Maisonnette, Yury V.M. Lages, J. Landeira-Fernandez and Thomas E. Krahe*

Department of Psychology, Pontifical Catholic University of Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil

***Corresponding Author:**

Thomas E. Krahe

Department of Psychology

Pontifical Catholic University of Rio de Janeiro

Rua Marquês de São Vicente 225

Gávea, Rio de Janeiro, RJ

CEP: 22451-900

Brazil

e-mail: tekrahe@puc-rio.br

Abstract

Norepinephrine plays a central role in several fear-related disorders, such as generalized anxiety disorder (GAD). Pharmacological studies in humans and animals have shown that fear-related behaviors can be regulated by the systemic application of noradrenergic drugs. However, individual differences in trait anxiety are often overlooked when studying the effects of not only noradrenergic drugs, but other compounds. In the present study we examined the effects of yohimbine, an α_2 -adrenergic receptor antagonist, in two lines of rats bred for high and low freezing responses to contextual cues previously associated with footshocks (Carioca high- and low-conditioned freezing rats - CHF and CLF, respectively). We found that systemic administration of yohimbine on the second day of contextual fear conditioning (test session) significantly decreased the freezing responses of CHF females, but not CHF males. Yet, yohimbine treatment induced a significant increase in freezing behavior of both male and female CLF rats. Similar results were observed when groups were re-exposed to the same conditioning chamber 6 days later. Our findings indicate that while yohimbine leads to anxiolytic effects on CHF rats, it has an anxiogenic effect on CLF ones. However, such effect was more evident in females than in males. Our findings point to the role of norepinephrine in regulating and mediating fear responses in different anxiety traits. Furthermore, our findings also underscore the relevance of using both sexes in behavioral and pharmacological studies using animal models of anxiety disorders.

Keywords: Fear-related behaviors; Breeding lines; Contrasting phenotypes; Sex differences; α_2 -adrenergic receptor antagonist.

1. Introduction

Fear can be ethologically defined as a motivational state elicited by specific stimuli that give rise to defensive behavior or escape [1,2]. In an evolutive perspective, it promotes behavioral coping mechanisms that enhance the chances of survival [3,4]. However, when it is out of proportion and excessively prolonged, it can also contribute to the development of anxiety disorders in humans [5,6]. Thus, there is a great interest in understanding of the neural underpinnings of fear-related dysfunctions. In particular, the monoaminergic system has been the target of several investigations and pharmaceutical interventions [7]. Norepinephrine, for example, plays a central role in several fear-related disorders, such as generalized anxiety disorder (GAD), post-traumatic stress disorder (PTSD), attention deficit hyperactivity disorder (ADHD), among others [8–10]. Animal studies have shown that fear-related behaviors can be regulated by noradrenergic drugs, including, among others, yohimbine, an α_2 -adrenergic receptor antagonist. The activation of this receptor leads to an increase in fear in rats and mice [11] and precipitates panic attacks in human patients with anxiety disorders [9,12].

It is well known that genetic factors play a pivotal role in the treatment of fear-related neuropsychological disorders (for a review, please see [13]). To study this issue, many groups have employed bidirectional selective breeding programs to produce strains and lines of rats for high and low behavioral and/or neuroendocrine responses to environmental challenges (Gomes et al., 2013). Employing such a bidirectional selective breeding procedure based on freezing responses to contextual fear, our group developed two lines of animals named Carioca High-conditioned Freezing (CHF) and Carioca Low-conditioned Freezing (CLF) rats [14]. Compared to normal rats, CHF and CLF animals display high and low susceptibility to contextual fear conditioning, respectively. Moreover, CHF rats display increased neuroendocrine responses such as elevated serum corticosterone levels and overactivation of brain regions responsible for regulating the hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis [15].

Interestingly, recent results from our group revealed that both systemic and infralimbic cortical injections of ketanserin, a 5-HT_{2A} receptor blocker, exerted anxiolytic-like effects in CHF rats, but anxiogenic-like effects in CLF rats [16], supporting the influence of genetic factors on the effects of drugs used for the treatment of fear-related diseases. Thus, considering the substantial interactions between the serotonergic and noradrenergic systems [17–19], here we investigated whether

yohimbine, an antagonist of α_2 -adrenergic receptors, also exerts distinct anxiety-like profiles in CHF and CLF rats. Moreover, sex is an important factor in the development of fear-related disorders [20–22], and we have previously demonstrated sex differences in defensive freezing behavior in our breeding line (Castro-Gomes and Landeira-Fernandez, 2008; Castro-Gomes et al., 2011). Therefore, in the present study, we also investigated the effects of yohimbine in male and female CHF and CLF animals .

2. Materials and methods

2.1 - Animals

In this study were used 20 male (CHF, $n = 10$; CLF, $n = 10$) and 22 female (CHF, $n = 11$; CLF, $n = 11$) adult rats (209-370 g). All animals were born and maintained in the animal facility of the Pontifical Catholic University of Rio de Janeiro (PUC-Rio). The Carioca lines have been selectively bred based on their high (CHF) or low (CLF) freezing response to contextual fear conditioning [23]. The animals were housed in groups of four, according to their line, in controlled room temperature (24 ± 1 °C) and on a 12/12 h light/dark cycle (lights on: 7:00 h - lights off: 19:00 h). Food and water were available *ad libitum* during all phases of the study. Behavioral testing was performed during the light period of the light–dark cycle. All experimental procedures were performed in compliance with the Animal Care and Use Committee of the State University of Rio de Janeiro (CEUA 234/2012), in accordance with the declaration of Helsinki and with the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals as adopted and promulgated by the National Institutes of Health.

2.2 - Drugs

Yohimbine (Sigma, Brazil) was solubilized in sterile saline (0.9% sodium chloride) and injected intraperitoneally (1.0 ml / kg) at the dose of 1.0 mg / kg [11]. Saline was administered in the same dose volume for the control groups.

2.3 - Procedure

Animals were handled daily for 2 min for five consecutive days before behavioral testing. Contextual fear conditioning procedures were conducted on two consecutive days and a third additional day of retest 6 days later, as described previously [11]. Contextual fear conditioning testing occurred simultaneously in four conditioning chambers (25 cm

x 20 cm x 20 cm), each inside a sound attenuating box illuminated by a red lamp (25 W). The conditioning chamber had a meshed floor (15 stainless steel shafts with 1.5 cm spacing) connected to an electric shock generator and mixer (AVS SCR04, São Paulo, SP, Brazil). Video cameras, mounted inside of each observation chamber and connected to 4 monitors located outside the experiment room, allowed for the recording and observation of the animals' behavior in real time. Briefly, male (n = 20) and female (n = 22) CHF and CLF rats were randomly assigned to either receive yohimbine (yoh) or saline (sal) 30 minutes before the testing session (males: CHF yoh, n = 6; CHF sal, n = 4; CLF yoh, n = 6, CLF sal, n = 4; females: CHF yoh, n = 7; CHF sal, n = 4; CLF yoh, n = 7; CLF sal, n = 4). To minimize bias of injection-induced stress, all groups received saline injections on the first day of contextual fear conditioning. Thirty minutes after injections, animals were individually placed into the chambers (4 animals tested at once) and habituated for 8 minutes (baseline). Context fear acquisition was next induced by administering three unsignaled electrical foot shocks delivered at a strength of 1 mA, with each shock lasting 1 s and with an inter-shock interval of 20 s. After the last foot shock presentation, a trained observer, blind to the experimental group of the animal, scored freezing episodes - defined as a complete absence of movements except those related to breathing - within a span of 2 seconds for 3 minutes. After this period, the animal was returned to its home cage and the chamber was cleaned with an ammonium hydroxide solution (0.2%). Twenty-four hours later, animals received injections of yohimbine or saline, and 30 min later were placed in the same chambers for 8 minutes to evaluate fear conditioning to contextual cues (testing session). No footshocks or any other stimuli were administered during this session. Freezing was scored for the whole period that the animal remained in the chamber. After the end of the session, animals were returned to their home cages and taken back to the animal facility. A retest session was conducted six days later by repeating the exact same procedures described for the testing session.

2.3 - Statistical analysis

All statistical analyses were performed using IBM SPSS 23 software (SPSS Inc., Chicago, IL, USA). A three-way analysis of variance (ANOVA) was used to analyze the percentage of time freezing during the contextual fear conditioning, with *breeding line* (CH and CLF), *drug* (yohimbine and saline), and *sex* as cofactors. When significant effects of breeding line and drug, or interactions between these were detected, appropriate lower-order ANOVAs were performed, followed by Fisher Protected Least Significant

Difference post hoc tests (FPLSD). For all statistical tests, significance was set at $p < 0.05$ (2-tailed).

3. Results

No differences in baseline and post-shock freezing responses (%) within groups (day 1, Table 1).

- Table 1 here -

Figure 1 shows the effect of yohimbine on freezing behavior of male (Fig. 1A) and female (Fig. 1B) CHF and CLF rats in the test session. A three-way ANOVA of the freezing behavior in the test session revealed a main effect of breeding line [$F_{(1,42)} = 168.21$, $p < 0.001$] and sex [$F_{(1,42)} = 11.02$, $p < 0.001$] as well as a breeding line x pharmacological treatment interaction [$F_{(1,42)} = 9.93$, $p < 0.001$]. No main effect of pharmacological treatment [$F_{(1,42)} = 0.15$, $p = 0.70$] or two-way interaction between breeding line and sex [$F_{(1,42)} = 1.56$, $p = 0.22$], pharmacological treatment and sex [$F_{(1,42)} = 0.49$, $p = 0.48$] nor a breeding line x pharmacological treatment x sex three-way interaction [$F_{(1,42)} = 0.78$, $p = 0.38$] were observed. As illustrated in Figure 1, systemic yohimbine administration in CHF male and female rats decreased the amount of freezing in the test session, but this result was only statistically significant among females (Fig. 1B). On the other hand, yohimbine treatment of both male and female CFL animals induced a significant increase in freezing behavior (Fig. 1). These results indicate that systemic yohimbine administration 30 minutes prior to the test session leads to opposite effects on the contextual fear conditioning of CHF and CLF rats, and that such effect was more evident in female rats.

- Figure 1 here -

Next, we examine whether previous exposure to yohimbine would have an effect on the extinction of fear memories. Hence, 6 days after the testing session, all groups were re-exposed to the same conditioning chamber (retest session). Figure 2 illustrates

the freezing behavior of male (Fig. 2A) and female (Fig. 2B) CHF and CLF rats in the retest session. A similar pattern of effects and interactions were observed for the retest session. A three-way ANOVA indicated a main effect of breeding line [$F_{(1,42)} = 90.17$, $p < 0.001$], sex [$F_{(1,42)} = 15.27$, $p < 0.001$] and breeding line x pharmacological treatment interaction [$F_{(1,42)} = 11.93$, $p < 0.01$]. No main effect of pharmacological treatment [$F_{(1,42)} = 0.82$, $p = 0.37$], two-way interaction between breeding line and sex [$F_{(1,42)} = 1.77$, $p = 0.19$], pharmacological treatment and sex [$F_{(1,42)} = 0.28$, $p = 0.60$] and breeding line x pharmacological treatment x sex three-way interaction [$F_{(1,42)} = 1.58$, $p = 0.22$] were observed. As can be observed in Figure 2, all groups displayed roughly the same freezing pattern observed in the test session. CHF females previously administered with yohimbine presented significantly less freezing than CHF controls, whereas CLF treated ones displayed significantly more freezing when compared to their control counterparts (Fig. 2B). Among male rats, CHF animals that were once exposed to yohimbine significantly presented less freezing than the control group (Fig. 2A). However, no significant differences were observed among CLF animals (Fig. 2A).

- Figure 2 here -

4. Discussion

The anxiogenic effect of yohimbine in contextual fear conditioning has been previously demonstrated in normal rats [11,24]. Here, a similar effect was observed in both male and female CLF rats. However, in CHF rats, yohimbine exerted an anxiolytic effect characterized by a decrease in freezing time. Therefore, it is worth considering that yohimbine could play a regulatory or homeostatic role in the availability of norepinephrine in the central nervous system (CNS). On one side, it may act favoring the increase of the fear-related behaviors in subjects with diminished responses in potentially dangerous contexts. In contrast, yohimbine might also favor the reduction of defensive behaviors in these contexts in individuals with an excessive pattern of response.

Considering that noradrenaline is necessary for the expression of anxiety induced by acute stress [11,25], yohimbine may act in CLF rats by neutralizing the inhibitory action mediated by adrenergic neurons in the locus coeruleus and stimulate the release of

noradrenaline in various regions of the brain [26–28]. In CHF rats, an animal model of GAD [29,30], the inhibition of α 2-adrenergic receptors by yohimbine might downplay the high levels of brain norepinephrine in these animals, which in turn produces an anxiolytic effect. It is known that animals subjected to chronic stress [31,32] and patients suffering from anxiety disorders have increased rates of cerebral norepinephrine [33,34]. Prospective studies are needed to analyse the noradrenalin levels in the brain of these animals and investigate the biological mechanism that undergo the alterations caused by yohimbine. The implications of a homeostatic role of yohimbine could add valuable information to maladaptive anxiety behaviors in subjects suffering from fear-related disorders such as GAD, PTSD and ADHD [8–10].

In addition, our results show that the opposing effects of the yohimbine, i.e. anxiolytic in CHF and anxiogenic in CLF, were more strongly evidenced in females than males. Sex related differences in the susceptibility to exogenous drugs, such as amphetamine, methamphetamine, cocaine, morphine, 3,4-methylenedioxymethamphetamine, and 9-tetrahydrocannabinol have already been extensively reported. For instance, while both 3,4-methylenedioxymethamphetamine and 9-tetrahydrocannabinol induce anxiogenic effects in males and females rats, such effect is more evident in the latter [38]. In the same way, recent findings from our group demonstrated that CHF females consume more alcohol than CHF males in a forced choice drinking protocol [39].

5. Conclusions

Our results suggest that the behavioral effects of yohimbine might depend on the genetic background associated with responses to threatening situations, and thus, highlight the role of norepinephrine in regulating and mediating fear behavior in different anxiety traits. Moreover, our findings also reinforce the relevance of using both sexes in studies of the behavioral effects of drugs in animal models of anxiety disorders.

Declaration of Competing Interest

The authors report no declarations of interest.

Acknowledgments

This work was supported by grants from the National Council for Scientific and Technological Development (CNPq) and Rio de Janeiro State Research Foundation (FAPERJ).

References

- [1] A. Boissy, Fear and fearfulness in animals, *Q. Rev. Biol.* 70 (1995) 165–191. <https://doi.org/10.1086/418981>.
- [2] T. Steimer, The biology of fear- and anxiety-related behaviors, *Dialogues Clin. Neurosci.* 4 (2002) 231–249. <https://doi.org/10.31887/dcns.2002.4.3/tsteimer>.
- [3] J.N. Perusini, M.S. Fanselow, Neurobehavioral perspectives on the distinction between fear and anxiety, *Learn. Mem.* 22 (2015) 417–425. <https://doi.org/10.1101/lm.039180.115>.
- [4] R. Adolphs, The Biology of Fear - review de Adolphs 2013.pdf, 23 (2013) 79–93. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2012.11.055.The>.
- [5] F.G. Graeff, Defense-related emotions in humans, *Psychol. Neurosci.* 4 (2011) 183–189. <https://doi.org/10.3922/j.psns.2011.2.003>.
- [6] American Psychiatric Association, Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (DSM-5®), Fifth Edition, 5th ed., 2013.
- [7] T.M. Hillhouse, J.H. Porter, A brief history of the development of antidepressant drugs: From monoamines to glutamate, *Exp. Clin. Psychopharmacol.* 23 (2015) 1–21. <https://doi.org/10.1037/a0038550>.
- [8] S. Hohmann, E. Hohm, J. Treutlein, D. Blomeyer, C. Jennen-Steinmetz, M.H. Schmidt, G. Esser, T. Banaschewski, D. Brandeis, M. Laucht, Association of norepinephrine transporter (NET, SLC6A2) genotype with ADHD-related phenotypes: Findings of a longitudinal study from birth to adolescence, *Psychiatry Res.* 226 (2015) 425–433. <https://doi.org/10.1016/j.psychres.2014.12.029>.
- [9] R.H. Pietrzak, J.D. Gallezot, Y.S. Ding, S. Henry, M.N. Potenza, S.M.

- Southwick, J.H. Krystal, R.E. Carson, A. Neumeister, Association of posttraumatic stress disorder with reduced in vivo norepinephrine transporter availability in the locus coeruleus, *JAMA Psychiatry*. 70 (2013) 1199–1205. <https://doi.org/10.1001/jamapsychiatry.2013.399>.
- [10] K.J. Ressler, C.B. Nemeroff, Role of norepinephrine in the pathophysiology and treatment of mood disorders, *Biol. Psychiatry*. 46 (1999) 1219–1233. [https://doi.org/10.1016/S0006-3223\(99\)00127-4](https://doi.org/10.1016/S0006-3223(99)00127-4).
- [11] L. Gazarini, C.A. Jark Stern, A.P. Carobrez, L.J. Bertoglio, Enhanced noradrenergic activity potentiates fear memory consolidation and reconsolidation by differentially recruiting α 1- and β -adrenergic receptors, *Learn. Mem.* 20 (2013) 210–219. <https://doi.org/10.1101/lm.030007.112>.
- [12] V.G. Olson, H.R. Rockett, R.K. Reh, V.A. Redila, P.M. Tran, H.A. Venkov, M.C. Defino, C. Hague, E.R. Peskind, P. Szot, M.A. Raskind, The role of norepinephrine in differential response to stress in an animal model of posttraumatic stress disorder, *Biol. Psychiatry*. 70 (2011) 441–448. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2010.11.029>.
- [13] S.D. Norrholm, K.J. Ressler, Genetics of anxiety and trauma-related disorders, *Neuroscience*. 164 (2009). <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2009.06.036>.
- [14] V. de Castro Gomes, J. Landeira-Fernandez, Amygdaloid lesions produced similar contextual fear conditioning disruption in the Carioca high- and low-conditioned freezing rats, *Brain Res.* 1233 (2008) 137–145. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2008.07.044>.
- [15] A.L.A. Laura, V.C. Gomes, M.L. Brandão, C. Rodrigues, F.P. Cardenas, J. Landeira-Fernandez, Corticosterone plasma concentrations in Carioca High- and Low-conditioned freezing rats after a fear conditioned task, *Av. En Psicol. Latinoam.* 31 (2013) 279–287.
- [16] L.A. León, V. Castro-Gomes, S. Zárate-Guerrero, K. Corredor, A.P. Mello Cruz, M.L. Brandão, F.P. Cardenas, J. Landeira-Fernandez, Behavioral effects of systemic, infralimbic and prelimbic injections of a serotonin 5-HT_{2A} antagonist in carioca high- and low-conditioned freezing rats, *Front. Behav. Neurosci.* 11 (2017) 1–13. <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2017.00117>.

- [17] M. Kato, T. Fukuda, M. Wakeno, K. Fukuda, G. Okugawa, Y. Ikenaga, M. Yamashita, Y. Takekita, K. Nobuhara, J. Azuma, T. Kinoshita, Effects of the serotonin type 2A, 3A and 3B receptor and the serotonin transporter genes on paroxetine and fluvoxamine efficacy and adverse drug reactions in depressed Japanese patients, *Neuropsychobiology*. 53 (2006).
<https://doi.org/10.1159/000094727>.
- [18] E.J. Peters, S.L. Slager, P.J. McGrath, J.A. Knowles, S.P. Hamilton, Investigation of serotonin-related genes in antidepressant response, *Mol. Psychiatry*. 9 (2004).
<https://doi.org/10.1038/sj.mp.4001502>.
- [19] C. López-Rubalcava, I. Lucki, Strain differences in the behavioral effects of antidepressant drugs in the rat forced swimming test, *Neuropsychopharmacology*. 22 (2000). [https://doi.org/10.1016/S0893-133X\(99\)00100-1](https://doi.org/10.1016/S0893-133X(99)00100-1).
- [20] H.L.L. Day, C.W. Stevenson, The neurobiological basis of sex differences in learned fear and its inhibition, *Eur. J. Neurosci*. 52 (2020).
<https://doi.org/10.1111/ejn.14602>.
- [21] E.R. Velasco, A. Florido, M.R. Milad, R. Andero, Sex differences in fear extinction, *Neurosci. Biobehav. Rev*. 103 (2019).
<https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2019.05.020>.
- [22] T.S. Ramikie, K.J. Ressler, Mechanisms of Sex Differences in Fear and Posttraumatic Stress Disorder, *Biol. Psychiatry*. 83 (2018).
<https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2017.11.016>.
- [23] J. Landeira-Fernandez, Context and Pavlovian conditioning, *Brazilian J. Med. Biol. Res*. 29 (1996).
- [24] A.L. Johnston, H.A. Baldwin, S.E. File, Measures of anxiety and stress in the rat following chronic treatment with yohimbine, *J. Psychopharmacol*. 2 (1988).
<https://doi.org/10.1177/026988118800200106>.
- [25] D.W. Rachel P. Tillage, Stephanie L. Foster, Daniel Lustberg, L. Cameron Liles, Co-released Norepinephrine and Galanin Act on Different Timescales to Promote Stress-Induced Anxiety-Like Behavior, *BioRxiv*. (2020) 1–25.
<https://doi.org/doi.org/10.1101/2020.12.05.413138>.

- [26] T.F. Giustino, S. Maren, Noradrenergic modulation of fear conditioning and extinction, *Front. Behav. Neurosci.* 12 (2018) 1–20.
<https://doi.org/10.3389/fnbeh.2018.00043>.
- [27] K. Tully, V.Y. Bolshakov, Emotional enhancement of memory: How norepinephrine enables synaptic plasticity, *Mol. Brain.* 3 (2010) 1–9.
<https://doi.org/10.1186/1756-6606-3-15>.
- [28] J.D. Bremner, J.H. Krystal, S.M. Southwick, D.S. Charney, Noradrenergic mechanisms in stress and anxiety: I. Preclinical studies, *Synapse.* 23 (1996) 28–38. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1098-2396\(199605\)23:1<28::AID-SYN4>3.0.CO;2-J](https://doi.org/10.1002/(SICI)1098-2396(199605)23:1<28::AID-SYN4>3.0.CO;2-J).
- [29] C. Macêdo-Souza, S.S. Maisonnnette, C.C. Filgueiras, J. Landeira-Fernandez, T.E. Krahe, Cued Fear Conditioning in Carioca High- and Low-Conditioned Freezing Rats, *Front. Behav. Neurosci.* 13 (2020) 1–9.
<https://doi.org/10.3389/fnbeh.2019.00285>.
- [30] V.D.C. Gomes, C. Eduardo, B. Silva, The Carioca High and Low Conditioned Freezing Lines : A New Animal Model of Generalized Anxiety Disorder, *Anxiety Disord.* 1 (2011).
- [31] H.P. Jedema, A.F. Sved, M.J. Zigmond, J.M. Finlay, Sensitization of norepinephrine release in medial prefrontal cortex: Effect of different chronic stress protocols, *Brain Res.* 830 (1999). [https://doi.org/10.1016/S0006-8993\(99\)01369-4](https://doi.org/10.1016/S0006-8993(99)01369-4).
- [32] J. Irwin, P. Ahluwalia, H. Anisman, Sensitization of norepinephrine activity following acute and chronic footshock, *Brain Res.* 379 (1986) 98–103.
[https://doi.org/10.1016/0006-8993\(86\)90260-X](https://doi.org/10.1016/0006-8993(86)90260-X).
- [33] A.W. Goddard, S.G. Ball, J. Martinez, M.J. Robinson, C.R. Yang, J.M. Russell, A. Shekhar, Current perspectives of the roles of the central norepinephrine system in anxiety and depression, *Depress. Anxiety.* 27 (2010).
<https://doi.org/10.1002/da.20642>.
- [34] Y. Liu, J. Zhao, W. Guo, Emotional roles of mono-aminergic neurotransmitters in major depressive disorder and anxiety disorders, *Front. Psychol.* 9 (2018).
<https://doi.org/10.3389/fpsyg.2018.02201>.

- [35] H.S. Pereira, A.P.Q.C. Araújo, P. Mattos, Transtorno do déficit de atenção e hiperatividade (TDAH): aspectos relacionados à comorbidade com distúrbios da atividade motora, *Rev. Bras. Saúde Matern. Infant.* 5 (2005) 391–402.
<https://doi.org/10.1590/s1519-38292005000400002>.
- [36] T. Sagvolden, V.A. Russell, H. Aase, E.B. Johansen, M. Farshbaf, Rodent models of attention-deficit/hyperactivity disorder, *Biol. Psychiatry.* 57 (2005) 1239–1247. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2005.02.002>.
- [37] A.F.T. Arnsten, P.J. Lombroso, Genetics of childhood disorders: XVIII. ADHD, Part 2: Norepinephrine has a critical modulatory influence on prefrontal cortical function, *J. Am. Acad. Child Adolesc. Psychiatry.* 39 (2000) 1201–1203.
<https://doi.org/10.1097/00004583-200009000-00022>.
- [38] E. Macúchová, M. Ševčíková, I. Hřebíčková, K. Nohejlová, R. Šlamberová, How various drugs affect anxiety-related behavior in male and female rats prenatally exposed to methamphetamine, *Int. J. Dev. Neurosci.* 51 (2016) 1–11.
<https://doi.org/10.1016/j.ijdevneu.2016.04.001>.
- [39] M.A. Bezerra-Karounis, T.E. Krahe, S. Maissonnette, J. Landeira-Fernandez, Alcohol intake in Carioca High- and Low-conditioned Freezing rats, *Pharmacol. Biochem. Behav.* 197 (2020) 173019. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2020.173019>.

Figure legends

Figure 1 – Effect of yohimbine on freezing responses of CHF (left) and CLF (right) male (A) and female (B) rats. Graphs illustrate the average freezing responses (in %) for the test (day 2) session. yoh, yohimbine; sal, saline. In A, CHF: yoh (n = 6), sal (n = 4); CLF: yoh (n = 6), sal (n = 4). In B, CHF: yoh (n = 7), sal (n = 4); CLF: yoh (n = 7X), sal (n = 4). Bars and symbols are means $\pm$ SEM. FPLSD post hoc test, *p<0.05.

Figure 2 – Effect of yohimbine on freezing responses of CHF (A) and CLF (B) female rats. Graphs illustrate the average freezing responses (in %) for the test (day 2) and retest (day 8) sessions. Note that neither yohimbine nor saline injections were administered prior to the retest session (please see Methods). yoh, yohimbine; sal, saline. In A, CHF: yoh (n = 6), sal (n = 4); CLF: yoh (n = 6), sal (n = 4). In B, CHF: yoh (n = 7), sal (n = 4); CLF: yoh (n = 7), sal (n = 4). Bars and symbols are means $\pm$ SEM. FPLSD post hoc test, *p<0.05, **p<0.01.

Table 1

		<i>Baseline</i>		<i>p-value</i>	<i>Post shock</i>		<i>p-value</i>
		<i>sal</i>	<i>yoh</i>		<i>sal</i>	<i>yoh</i>	
CHF	<i>Male</i>	6.25 (± 1.10)	14.80 (± 8.50)	0.40	95.83 (± 1.70)	80.55 (± 13.16)	0.76
	<i>Female</i>	3.13 (± 1.10)	10.94 (± 4.42)	0.13	96.88 (± 1.04)	97.02 (± 1.19)	0.27
CLF	<i>Male</i>	0.00 (± 0.00)	1.30 (± 0.75)	0.14	55.21 (± 9.22)	50.00 (± 12.27)	0.77
	<i>Female</i>	1.95 (± 1.95)	1.34 (± 0.72)	0.73	68.75 (± 6.48)	77.98 (± 7.48)	0.43

CHF male: sal (n = 4), yoh (n = 6); CLF male: sal (n = 4), yoh (n=6); CHF female: sal (n = 4), yoh (n = 7); CLF female: sal (n = 4), female yoh (n = 7). Data are mean $\pm$ SEM. Student's t-test (two-tailed).

Figure 1

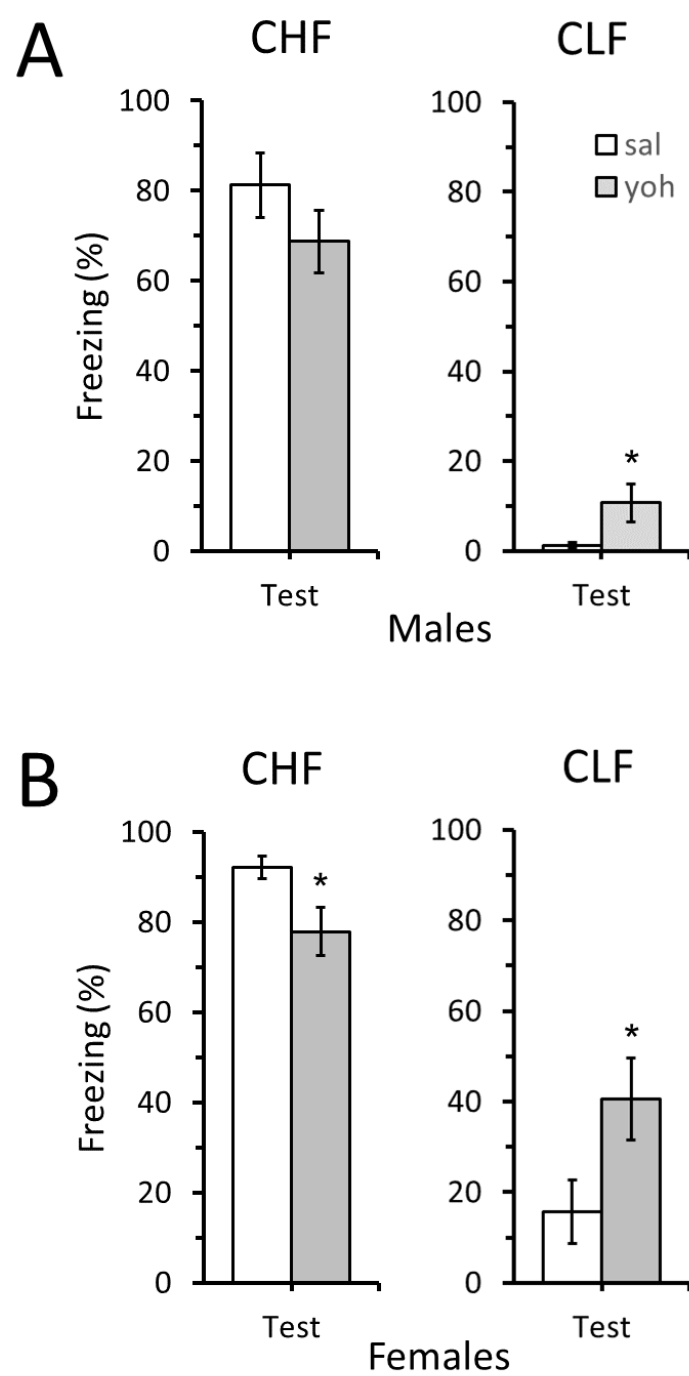
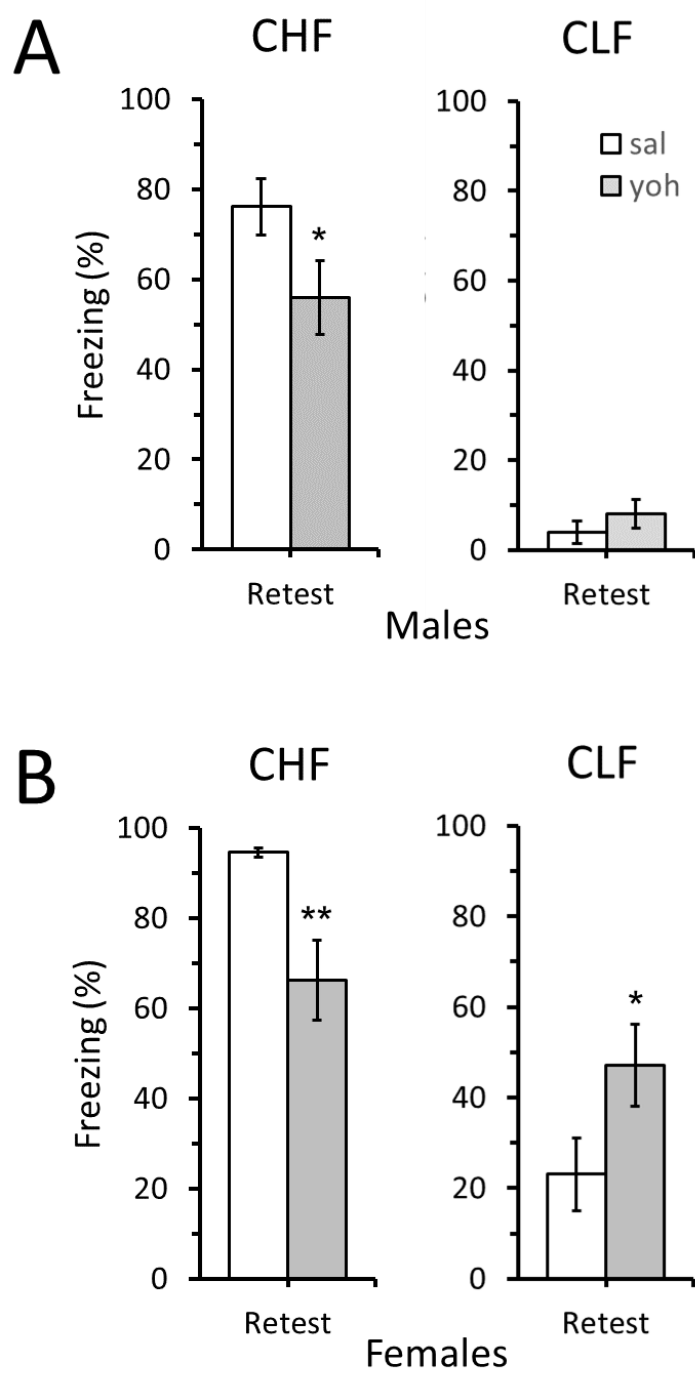


Figure 2



Anexo 2

Artigo 2: Transtorno de Déficit de Atenção e Hiperatividade (TDAH) em estudos com animais

Transtorno de Déficit de Atenção e Hiperatividade (TDAH) em estudos com animais

TDAH em modelos animais (Título abreviado)

Attention Deficit Hyperactivity Disorder (ADHD) in animal studies

Victor C. Romano

Yury Lages

Jesus Landeira-Fernandez

Thomas E. Krahe

Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro (PUC-Rio)

Resumo

O Transtorno de Déficit de Atenção e Hiperatividade (TDAH) é uma desordem neurobiológica que afeta entre 3% a 7% da população infantil mundial. Estima-se que de 50% a 80% das crianças diagnosticadas continuarão apresentando sintomas quando adultas. Embora o TDAH descreva características definidas, desatenção e hiperatividade são também encontradas em outros transtornos e podem não ser, em si, bons marcadores desta síndrome. Portanto, pesquisas pré-clínicas têm sido utilizadas principalmente para avaliar segurança, tolerabilidade e mecanismo de ação de psicofármacos, e para elucidar os substratos neurobiológicos dos transtornos mentais. Neste cenário, modelos animais ajudam a simplificar e promover a compreensão de desordens psiquiátricas. Este artigo descreve os principais achados dos modelos animais correntes de TDAH e analisa seus critérios de validação.

Palavras-chave: tdah, modelos animais, critérios de validação, revisão da literatura

Abstract

Attention Deficit Hyperactivity Disorder (ADHD) is a neurobiological disorder that affects between 3% to 7% of the child population worldwide. Approximately 50% to 80% of the diagnosed children will continue to show symptoms in adulthood. Although ADHD describes definite characteristics, inattention and hyperactivity are also found in other disorders and may not constitute good markers of this syndrome. Therefore, preclinical research has been mainly used to assess safety, tolerability and the mechanism of action of psychotropic drugs, and to help elucidate the neurobiological substrates of mental disorders. In this scenario, animal models help to simplify and promote the understanding of psychiatric disorders. This article describes the key findings of the current animal models of ADHD and analyses their validation criteria.

Keywords: adhd, animal models, validation criteria, literature revision

O Transtorno de Déficit de Atenção e Hiperatividade (TDAH) é uma desordem neurobiológica que afeta entre 3% a 7% da população infantil, tanto no Brasil quanto em outros países. Atualmente, estima-se que de 50% a 80% das pessoas que tiveram o TDAH na infância continuarão a apresentar na vida adulta sintomas significativos associados a importantes prejuízos em diversas esferas da vida (Peroni, 2015). Psicostimulantes como metilfenidato, D-anfetamina e pemolina são os tratamentos mais comuns para TDAH (Moreno-García et al., 2019; Sagvolden et al., 2005). Os critérios de diagnóstico evoluíram para incluir três subtipos de TDAH: predominantemente desatento (mais prevalente em meninas), predominantemente hiperativo / impulsivo (mais prevalente em meninos) e combinado (Aldemir et al., 2018; Silva, 2014; Taylor, 1998). Frequentemente, crianças com esse transtorno apresentam problemas de recuperação de memória, exibem um comportamento agressivo e de oposição que leva à delinquência adolescente e ao abuso de substâncias; sofrem rejeição pelos colegas e dificuldade nas relações familiares (Barkley, 1997; Peroni, 2015). Além disso, o TDAH pode estar associado a distúrbios do humor como depressão, ansiedade e bipolaridade (Moraes et al., 2007), e a transtornos de aprendizado (Peroni, 2015). Apesar de a síndrome de TDAH descrever grupos definidos de sintomas, desatenção e hiperatividade são características inespecíficas encontradas em muitos transtornos psiquiátricos e podem não ser, em si, bons marcadores de TDAH (Moraes et al., 2007). Diante disso, a pesquisa pré-clínica tem sido utilizada principalmente com objetivo de avaliar a segurança, a tolerabilidade e a possível eficácia de novas drogas; de estudar o mecanismo de ação de psicofármacos; e de auxiliar na elucidação dos mecanismos neurobiológicos dos transtornos mentais (Aldemir et al., 2018; Andreatini, 2002; Moraes et al., 2007). Portanto, modelos animais ajudam a simplificar e promover a compreensão de desordens psiquiátricas. Este artigo descreve os principais achados dos modelos animais correntes de TDAH e analisa seus critérios de validação.

Vantagens do estudo com animais

O TDAH é um distúrbio heterogêneo e de difícil tratamento, com indivíduos apresentando sintomas comportamentais bastante diversos, provavelmente como resultado de diferentes combinações de fatores genéticos e ambientais. Apesar das suas limitações, os estudos com modelos animais, através de controles experimentais desenvolvidos em uma espécie para compreender determinados fenômenos em outra espécie, permitem a análise da contribuição de um fator em determinado transtorno mental isolando-o de outras variáveis externas, assim como a interação de múltiplas variáveis de um distúrbio. Considerando-se a característica multifatorial dos transtornos mentais, esta abordagem torna-se extremamente válida (Andreatini, 2002; Moraes et al., 2007). As diferenças entre o comportamento de um modelo animal e seu controle podem ser correlacionadas com diferenças em sua neuroquímica e na resposta a fármacos. Os modelos animais ideais devem apresentar etiologia, bioquímica, sintomatologia e tratamento semelhantes aos casos clínicos (Russell et al., 2005). Os modelos geralmente têm sistemas nervosos mais simples e seus comportamentos são mais fáceis de interpretar do que os casos clínicos, além de serem geneticamente mais homogêneos, com ambiente mais controlável e maior possibilidade de intervenções (Sagvolden et al., 2005).

CRITÉRIOS GERAIS DE VALIDAÇÃO PARA MODELOS ANIMAIS

Um modelo animal para transtornos mentais e de desenvolvimento deve obedecer a três critérios de validação: validade de face, validade de construto e validade preditiva. A validade de face é a capacidade de imitar as características clínicas comportamentais que são fundamentais para caracterização do transtorno, sem a presença de características que não sejam vistas clinicamente. A validade de construto deve refletir a homogeneidade entre o comportamento e a fundamentação teórica do transtorno, de forma a evitar interpretações ambíguas. Já a validade preditiva é a capacidade de prever aspectos previamente desconhecidos do comportamento, da genética e da neurobiologia do distúrbio a partir de sua similaridade com a sua contraparte humana e da extrapolação da eficiência de drogas, correlacionando, assim, a

potência do modelo com a potência clínica. A validade de face e preditiva representam o estatuto empírico de um modelo, enquanto a validade de construto representa o seu estatuto teórico (Willner, 1986). Um modelo pode ser aceito se algumas validades de face ou preditivas não forem atendidas, embora não possa ser aceito se a validade de construto for violada (Sagvolden et al., 2005).

CRITÉRIOS ESPECÍFICOS PARA MODELOS ANIMAIS DE TDAH

Critérios para validade de face

Alteração comportamental para reforço e extinção. O modelo de processo duplo sugere que processos de reforço menos eficientes e de extinção deficiente de comportamento previamente reforçado são fundamentais para os problemas descritos como inibição de resposta (Faraone, 2004) e funções executivas deficientes (Bobb et al., 2006) presentes na sintomatologia do TDAH.

Gradiente de atraso de reforço. No condicionamento operante, a relação entre o efeito do reforço e o intervalo entre a resposta e o reforço é conhecido como "gradiente de atraso de reforço" ou "gradiente de atraso" (Catania, 1998; Johansen et al., 2002; Sagvolden et al., 2005). A função retroativa dos reforçadores de respostas passadas aumenta a probabilidade de ocorrência de respostas futuras da mesma classe operante (Catania, 1998). Observa-se que efeito de reforço é maior quando este é aplicado imediatamente após a resposta e diminui quando o reforço é adiado em indivíduos neuróticos. Argumenta-se que essa discrepância é exacerbada em sujeitos com TDAH, os quais apresentariam gradientes de atraso mais acentuados e curtos (Johansen et al., 2002; Sagvolden et al., 2005).

Impulsividade motora. É possível que a impulsividade seja o sintoma mais significativo do TDAH (Johansen et al., 2002; Sagvolden & Sergeant, 1998; Taylor, 1998). A impulsividade motora é compreendida como surtos de respostas com tempos de interrespostas (TIRs) curtos (Johansen et al., 2002; Sagvolden et al., 2005), caracterizando um padrão ineficiente de resposta

em esquemas de intervalo fixo e extinção, já que não resulta em um número maior de reforçadores. É importante ressaltar que crianças com TDAH não apresentam impulsividade motora em novas situações. Ao contrário, a impulsividade se desenvolve gradualmente ao longo do tempo (Sagvolden et al., 1998).

Atenção sustentada deficiente. Em ambientes clínicos, o déficit de atenção sustentada ocorre quando os estímulos estão amplamente espaçados no tempo (Sagvolden et al., 2005) ou a tarefa é indesejável, ou desinteressante (Taylor, 1998). Um estudo demonstrou que crianças com TDAH apresentam atenção sustentada normal no início do teste, com diminuição acentuada com as repetições do teste ao longo do tempo. Tanto crianças com TDAH quanto crianças neurotípicas notaram o início do componente de extinção (um sinal de luz) e pararam de responder. Todavia, as crianças com TDAH voltaram a responder após um curto período (Sagvolden et al., 1998). A relação da tríplice contingência — estímulo — resposta — consequência (Catania, 1998) — é importante para compreender a atenção sustentada prejudicada no TDAH. Quando os reforços são infrequentes, o gradiente de atraso curto pode impedir uma associação entre o estímulo discriminativo e a contingência de reforço, resultando em controle de estímulo mais pobre e possível atenção sustentada prejudicada como acontece no TDAH (Sagvolden et al., 2005).

Hiperatividade. Assim como a impulsividade, a hiperatividade está ausente em novas situações, incluindo o início de testes para sua identificação (Sagvolden et al., 2005). O estudo de Sagvolden et al. (1998), envolvendo esquemas de extinção de um reforçamento de intervalo fixo, demonstrou que crianças com e sem TDAH apresentaram níveis de atividade semelhantes no início do teste de extinção. A hiperatividade desenvolveu-se gradualmente em crianças com TDAH à medida que o teste prosseguia (Sagvolden et al., 1998). O efeito reforçador é mais potente quando o atraso entre a resposta e o reforço é curto que quando o atraso é longo. Se o gradiente de atraso for mais acentuado e curto em crianças com TDAH, os reforços atrasados

terão pouco efeito em seu comportamento. Quanto à extinção, esta ocorrerá em menor extensão do que o normal em crianças com TDAH. Assim, a hiperatividade pode ser adquirida e mantida por uma combinação de reforçadores programados e não programados e falha na extinção, aumentando a frequência de respostas adquiridas sem suprimir respostas ineficazes e inadequadas (Sagvolden et al., 2005).

Crítérios para validade de construto

Genética. Vários genes estão possivelmente envolvidos à etiologia do TDAH, entre eles: os genes que codificam o transportador de dopamina e serotonina, SLC6A3 / DAT1 e SLC6A4 / 5HTT; os genes que codificam para os receptores de dopamina D4 e D5, DRD4 e DRD5, e um receptor de serotonina, HTR1B; o gene para a proteína 25 sinaptossomal associada, SNAP25. Recentemente, genes adicionais foram incluídos como possíveis candidatos: genes que codificam dopamina beta-hidroxilase [DBH], adrenoceptor alfa 2A [ADRA2A], triptofano hidroxilase 2 [TPH2] e monoamina oxidase A [MAOA]) (Klein et al., 2017).

Neuropatologia. Um modelo animal deve exibir a neuropatologia estrutural e funcional do TDAH, ou seja, redução da atividade do lobo frontal, aumento do fluxo sanguíneo cortical somatossensorial, caudado anormal e volumes cerebrais reduzidos (Lou et al., 1989; Paule et al., 2000; Castellanos et al., 2002).

Disfunção de neurotransmissores. A disfunção do sistema dopaminérgico e de outros sistemas de monoaminas no TDAH estabeleceu-se em decorrência da eficácia de psicostimulantes no bloqueio dos transportadores de dopamina e noradrenalina, reduzindo sintomas do transtorno. Os modelos animais devem apresentar disfunções neurotransmissoras semelhantes e fornecer informações sobre as disfunções neurais do distúrbio (Sagvolden et al., 2005).

Problemas de controle motor. O neostriado é central para integrar a produção motora e recebe a maior densidade de dopamina de todas as estruturas nervosas centrais (Sagvolden

et al., 2005). A hipofunção de dopamina estriatal pode estar associada a problemas sutis de controle motor, sendo considerados "sinais suaves" do transtorno neurológicos em crianças com TDAH (Sagvolden et al., 2005). O hipofuncionamento neostriatal pode contribuir para o mau desenvolvimento motor associado a casos graves de TDAH (Taylor, 1998).

Critérios para validade preditiva

Efeitos psicostimulantes. As drogas psicostimulantes aumentam a disponibilidade de dopamina sináptica e de outros neurotransmissores, aumentando os efeitos dos reforçadores (Sagvolden et al., 2005; Volkow et al., 2002). Drogas que modulam a transmissão da norepinefrina (NE) também são eficazes em pacientes com TDAH, levando à hipótese de um transtorno envolvendo também o sistema noradrenérgico (Viggiano et al., 2004). As drogas estimulantes psicomotoras devem ter os mesmos efeitos em modelos animais que em crianças e adultos com TDAH.

MODELOS ANIMAIS

Os primeiros modelos animais de TDAH (Zametkin & Rapoport, 1987) buscaram emular a hiperatividade através de lesões das vias dopaminérgicas com a aplicação de 6-hidroxidopamina em ratos em desenvolvimento. Esses estudos mostraram que, embora não sejam suficientes, alterações na função dopaminérgica e noradrenérgica parecem necessárias para a eficácia clínica dos estimulantes, elevando as influências inibitórias da atividade cortical frontal nas estruturas subcorticais. Posteriormente, diversos outros modelos animais para o TDAH foram propostos.

MODELOS GENÉTICOS

Rato Nocaute do Transportador de Dopamina (DAT-KO, do inglês *Dopamine Transporter Knockout*). Esses ratos carecem do gene que codifica para DAT-1, que é responsável pela captação sináptica de dopamina. Logo, esse modelo apresenta elevação nos níveis de

dopamina extracelular no corpo estriado, o que possivelmente leva à observada hiperatividade (Gainetdinov & Caron, 2000; Gainetdinov et al., 2001; Trinh et al., 2003) e assemelha-se a estudos que verificaram a elevação dopaminérgica no corpo estriado de paciente com TDAH (Cheon et al., 2003; Dougherty et al., 1999; Krause et al., 2000). Segundo Gainetdinov e Caron (2000), nesse modelo, os animais são incapazes de inibir o comportamento contínuo e apresentam prejuízos em tarefas de aprendizagem e memória. A impulsividade não foi sistematicamente investigada nos ratos DAT-KO. Apesar da ausência de DAT, os psicostimulantes atenuam sua hiperatividade, aparentemente por mecanismos que envolvem sistemas não-dopaminérgicos em áreas límbicas do cérebro. Enquanto os inibidores do transportador de norepinefrina não afetaram a hiperatividade de DAT-KO, as drogas que ativam o sistema serotoninérgico reduziram drasticamente a hiperatividade. Os ratos DAT-KO fornecem evidências convincentes de que a hiperatividade induzida por altos níveis extracelulares de dopamina pode ser reduzida aumentando o tônus serotoninérgico, isto é, os psicostimulantes não agem via DAT para reduzir a hiperatividade neste modelo. Esses dados são reforçados pelos achados de Trinh et al. (2003), os quais sugerem que os mecanismos dopaminérgicos podem mediar as respostas em animais controles, enquanto os sistemas não dopaminérgicos predominam nos animais nocautes. Nestes, provavelmente, as áreas límbicas e os sistemas transmissores não-dopaminérgicos do cérebro podem mediar as respostas aos psicostimulantes.

O Rato de Alta Excitabilidade de Naples (NHE, do inglês *Naples High-Excitability*). Este modelo foi selecionado por sua maior atividade exploratória no labirinto (Russell, 2011; Sadile et al., 1988) e hiperatividade induzida por novidades aumentada em função da complexidade do ambiente (Sadile, 1993; Viggiano et al., 2002). Os NHEs não exibem hiperatividade em sua gaiola quando comparados aos ratos de baixa excitabilidade de Nápoles (NLE, do inglês *Naples Low-Excitability*) (Sadile, 1993). Ambos NHE e NLE demonstraram prejuízos na memória de trabalho e na memória de referência em comparação com os ratos controles de cruzamento

aleatório de Nápoles (NRB, do inglês *Naples Random-Bred*). NHE tem distúrbios no sistema dopaminérgico, com aumento da dopamina e diminuição dos receptores D1 (DRD1) no córtex pré-frontal. A administração intranasal de dopamina melhora o seu desempenho em tarefas de novidade espacial não reforçada (Ruocco et al., 2009a). Ratos NHE também apresentam concentrações elevadas de L-glutamato, D-glutamato e L-aspartato em várias áreas do prosencéfalo, incluindo o córtex pré-frontal e foram propostos como um modelo útil para o estudo de hiperatividade, déficit de atenção, dificuldades de aprendizagem e memória (Ruocco et al., 2009b).

O Rato de Baixo Desempenho na Tarefa de Escolha por Tempo de Reação para 5 Opções (5-CSRT, do inglês *Poor 5-choice serial reaction time*). Neste modelo, os ratos são selecionados pelo baixo desempenho quando treinados em uma tarefa visuoespacial de atenção sustentada, baixa precisão de escolha no final das sessões de teste, impulsividade como resposta prematura e ausência de hiperatividade (Puumala et al., 1996; Barbelivien et al., 2001).

No estudo de Puumala et al. (1996), para a seleção dos ratos de baixo desempenho na tarefa 5-CSRT, os ratos foram privados de comida por 16 horas antes de serem treinados para focinhar um buraco iluminado de modo a obter um pellet de comida. Focinhar um buraco apagado ou uma falha em responder durante o estímulo visual resultava em um período de escuridão como punição. Os ratos com baixo desempenho foram definidos como aqueles que obtiveram menos de 64% de respostas corretas. O percentual de acertos forneceu uma medida de atenção sustentada, uma vez que o animal tinha que vasculhar a matriz de buracos para que pudesse responder rapidamente ao sinal. As respostas registradas durante o intervalo entre as tentativas foram consideradas prematuras e forneceram uma medida de impulsividade. A latência para obter a recompensa foi usada como medida de motivação. Nesse modelo, o tratamento com metilfenidato melhorou a precisão e reduziu a impulsividade (em baixas doses) em sujeitos com baixo desempenho.

As evidências apoiam um papel da dopamina na regulação do nível de desempenho dos ratos de baixo desempenho na tarefa de 5-CSRT. Em animais controles, a D-anfetamina estimulou a liberação de dopamina no *nucleus accumbens* e causou um aumento dependente da dose na resposta prematura (Robbins, 2002). A microinfusão de um agonista DRD1 no córtex pré-frontal medial prejudicou seletivamente a precisão do desempenho atencional em ratos de alto desempenho na tarefa 5-CSRT. Em contraste, a microinfusão do agonista DRD1 no córtex pré-frontal medial em ratos de baixo desempenho na tarefa 5-CSRT aumentou a precisão do desempenho atencional; uma dose baixa aumentou a velocidade de resposta correta (Granon et al., 2000). Esses resultados sugerem que a função da dopamina é reduzida em ratos de baixo desempenho na tarefa 5-CSRT, um modelo putativo para TDAH com desatenção predominante (Russell, 2011).

O Rato Espontaneamente Hipertenso (SHR, do inglês *Spontaneously Hypertensive Rat*).

Esses animais não apresentam problemas sensoriais claros e exibem todas as características comportamentais do TDAH: atenção sustentada prejudicada, impulsividade motora, e hiperatividade que não está presente em situações novas e não ameaçadoras, mas que se desenvolve temporalmente quando os reforços são infrequentes (Sagvolden, 2000; Sagvolden et al., 2005). Semelhante às crianças com TDAH, os ratos SHR apresentam maior variabilidade comportamental, reengajamento de resposta deficiente e cometem significativamente mais erros do que os controles (Sagvolden et al., 2005; Sagvolden 2000; Wiersema et al., 2005). Além disso, esse modelo cumpre um critério adicional, comparado aos demais, por ser um modelo genético de TDAH criado a partir de ratos progenitores normotensivos Wistar-Kyoto (WKY), com os quais são comparados. A linhagem WKY serve, então, como um controle válido para o SHR, uma vez que suas características comportamentais são semelhantes às de outras linhagens de ratos (Sagvolden 2000; Okamoto & Aoki, 1963).

Em aspectos neurobiológicos, a liberação de dopamina é diminuída no córtex pré-frontal do SHR e as concentrações de noradrenalina são elevadas (Okamoto e Aoki, 1963), além de apresentarem patologia cerebral semelhante ao TDAH, com volumes cerebrais — especificamente do córtex pré-frontal, do córtex occipital e do hipocampo — menores do que os controles. Um estudo por ressonância magnética nuclear revelou um volume ventricular significativamente aumentado em SHR em comparação com WKY aos 3 meses de idade (Bendel & Eilam, 1992), e menos neurônios nessas áreas do cérebro foram detectados em comparação com WKY (Mignini et al., 2004; Tomassoni et al., 2004).

Os resultados obtidos com SHR sugerem novas alternativas às teorias existentes sobre a etiologia do TDAH. Um importante sistema de segundo mensageiro envolvendo a sinalização de cálcio é disfuncional em SHR (Lehohla et al., 2001, 2004), sugerindo que vários sistemas de neurotransmissores podem estar comprometidos no TDAH. Em comparação com os WKY, os SHR têm menor atividade cerebral de Ca^{2+} ATPase (Horn et al., 1995). Como a liberação de neurotransmissores é dependente do influxo de cálcio, um distúrbio no gradiente de concentração de cálcio através da membrana celular pode diminuir o influxo de íons de cálcio na célula e prejudicar a liberação do neurotransmissor (Lehohla et al., 2004). A diminuição do influxo de cálcio através dos canais NMDA também prejudica a sinalização intra e intercelular, bem como na potenciação sináptica de longa duração, interferindo no processo de aprendizagem (Sagvolden et al. 2005; Malenka & Nicoll, 1999).

Estudos genéticos encontraram associações entre os sintomas do TDAH e polimorfismos em vários genes monoaminérgicos, incluindo os genes dos receptores D1, D4 e D5 da dopamina (DRD1, DRD4, DRD5) e o gene do receptor adrenérgico $\alpha 2$, além dos transportadores de dopamina, noradrenalina e serotonina (DAT1, NET1, SERT1) (Biederman & Spencer, 1999; Bobb et al., 2006; Klein et al., 2017; Park et al., 2005). Os psicostimulantes como D-anfetamina e metilfenidato são capazes de reduzir o comportamento semelhante ao TDAH de SHR (Sagvolden

et al., 2005; Myers et al., 1982). O aumento na densidade DRD1 observado no estriado SHR pode ser revertido pelo tratamento com metilfenidato, sugerindo que os psicostimulantes aumentam a ativação da dopamina de DRD1 (Carey et al., 1998; Watanabe et al., 1997); permitindo a melhora da memória e dos mecanismos de reforço.

Coloboma Mutant Mouse. O camundongo mutante deficiente em SNAP-25 (proteína associada ao sinaptossoma de 25 kDa) fornece um modelo interessante de TDAH, devido os polimorfismos SNAP-25 terem sido associados ao distúrbio. SNAP-25 é parte integrante do SNARE (receptor de proteína de fixação de fator sensível a N-etilmaleimida), um complexo acoplatório para exocitose de vesícula sináptica e liberação de neurotransmissor. SNAP-25 regula o tráfego de membrana, sendo necessário na pré-sinapse para a liberação de neurotransmissores, bem como na pós-sinapse, onde está envolvido na translocação de proteínas (por exemplo, subunidades do receptor NMDA) para a membrana celular (Barr et al., 2000; Mill et al., 2002). A expressão alterada de SNAP-25 pode, portanto, prejudicar a função neuronal. Camundongos Coloboma exibem hiperatividade espontânea, impulsividade e inibição prejudicada em uma tarefa de reforço retardado (Bruno et al., 2007; Wilson, 2000). A hiperatividade é reduzida pela D-anfetamina, mas não pelo metilfenidato (Hess et al., 1996; Wilson, 2000). A diferença no efeito provavelmente se deve aos diferentes modo de ação dessas duas drogas. Ambas as drogas aumentam a concentração extracelular de catecolaminas por meio do bloqueio dos transportadores de dopamina e norepinefrina, mas a D-anfetamina também aumenta a liberação desses neurotransmissores (Russell, 2011).

A liberação de glutamato de sinaptossomas corticais é reduzida no camundongo Coloboma (Raber et al., 1997). A liberação de dopamina evocada por despolarização de fatias do estriado dorsal também é diminuída, e as concentrações de metabólito da dopamina são menores no estriado ventral (Jones et al., 2000a; Raber et al., 1997). Jones et al. (2001b) verificaram que a expressão do receptor D2 da dopamina (DRD2) está aumentada na área tegmental ventral e na substância negra, consistente com o aumento da inibição da atividade

neuronal da dopamina. A função noradrenérgica parece estar aumentada nesse modelo, além da expressão da tirosina hidroxilase e do adrenoceptor $\alpha 2A$ está aumentada no *locus coeruleus* e as concentrações de norepinefrina estão aumentadas no corpo estriado de camundongos Coloboma. A depleção experimental de norepinefrina com cloridrato de N-(2-cloroetil) -N-etil-2-bromobenzilamina (DSP-4) reduziu a hiperatividade e restaurou a inibição latente, mas não melhorou a impulsividade dos camundongos desse modelo (Bruno et al., 2007; Jones & Hess, 2003). Antagonistas dos receptores adrenérgicos $\alpha 2C$ (mas não $\alpha 2A$ ou $\alpha 2B$) também reduziram a hiperatividade desses animais (Bruno & Hess, 2006). Segundo Jones e Hess (2003), o antagonista do receptor β -adrenérgico, propranolol, e o antagonista do receptor $\alpha 1$ -adrenérgico, prazosina, tiveram pouco efeito. Isso sugere que a atividade motora em camundongos Coloboma é causada por um sistema noradrenérgico hiperativo, mas que a hiperatividade não é completamente abolida pela depleção de norepinefrina, sugerindo que fatores adicionais contribuem para o fenótipo mutante. Um desequilíbrio entre a hiperfunção noradrenérgica e a hipofunção dopaminérgica pode ser um fator determinante neste modelo (Russell et al., 2005).

Ratos Nocautes para o Receptor de Neuroquinina-1 (NK1R-KO, do inglês *Neurokinin-1 Receptor Knock-out*). O receptor de neurokinin-1 (NK-1R) é um receptor para a substância P, que é membro da família de neuropeptídeos tackyinin (Maggi, 1995). Os níveis da substância P são elevados nos núcleos monoaminérgicos, especialmente na substância negra e na área tegmental ventral (Ljungdahl et al., 1978; Ribeiro-da-Silva & Hökfelt, 2000). A substância P ativa preferencialmente os receptores NK1, que são o produto do gene *TARC1*, o qual é um membro da família de receptores acoplados à proteína G, sendo principalmente expresso em regiões subcorticais como amígdala, hipocampo e corpo estriado (Yan et al., 2009).

A descoberta de que os camundongos NK1R-KO expressam características essenciais de TDAH surgiu da observação de que os camundongos NK1R-KO expressam hiperatividade

locomotora corrigida por psicostimulantes como anfetaminas. Além disso, a hiperatividade é induzida em camundongos de tipo selvagem tratando-os com um antagonista de NK1R em doses que não têm efeito sobre o comportamento de camundongos NK1R-KO; essa hiperatividade é evitada por anfetamina, como ocorre em camundongos NK1R-KO (Yan et al., 2009). Esses mutantes também exibem outras anormalidades que podem ser relevantes para o TDAH, como redução do efluxo de dopamina no córtex frontal, ausência de aumento do efluxo dopaminérgico no estriado dorsal após administração sistêmica de anfetamina e falta de desenvolvimento de preferência de lugar condicionada induzida por anfetamina ou morfina (Yan et al., 2009, 2010). Foi relatado que camundongos NK1R-KO expressam desatenção e impulsividade em testes de tarefa de tempo de reação em série de cinco opções (5-CSRT), mas a anfetamina não corrige esses déficits (Yan et al., 2011). Em um estudo de caso-controle de 450 pacientes com TDAH e 600 controles neurotípicos selecionados, quatro polimorfismos de nucleotídeo único no gene *TACR1*, anteriormente conhecidos por estarem associados ao transtorno bipolar ou alcoolismo, foram fortemente associados ao TDAH (Yan et al., 2010).

Ratos Hipertireoidianos. Sabe-se que muitas crianças com hormônio estimulador da tireoide (TSH, do inglês *Thyroid-Stimulating Hormone*) elevado e com resistência ao hormônio da tireoide apresentam sintomas de TDAH (Burd et al., 2003). O hormônio tireoidiano controla diretamente o desenvolvimento de vários sistemas cerebrais associados à regulação da atenção, atividade locomotora, motivação e comportamento impulsivo (Siesser et al., 2006). Os genes que codificam proteínas envolvidas na mielinização sugeridos como comprometidos no TDAH (Russell et al., 2006) e o desenvolvimento de sistemas neurotransmissores que regulam a atenção e a atividade motora (sistemas de neurotransmissores colinérgicos, dopaminérgicos e noradrenérgicos) são todos regulados pelo hormônio tireoidiano (Siesser et al., 2006). Consistente com o fato de o TDAH ser um distúrbio do desenvolvimento, os ratos com hipertireoidismo transitório quando filhotes (mas não quando adultos) são hiperativos e exibem

uma taxa de conversão de dopamina elevada no estriado (Rastogi & Singhal, 1976; Siesser et al., 2006).

Em um estudo de Siesser et al. (2006), camundongos transgênicos machos expressando um receptor de tireoide mutante humano (TR β 1) exibiram todos os sintomas característicos de TDAH como desatenção, hiperatividade e impulsividade. A conversão da dopamina estriatal foi aumentada em camundongos transgênicos TR β 1 e, semelhante ao que ocorre no TDAH, sua hiperatividade foi reduzida pelo metilfenidato. Em animais adultos, os transgênicos TR β 1 tinham níveis normais de hormônio tireoidiano, mas aos 33 dias, quando o sistema tireoidiano está mais ativo, esses camundongos apresentaram níveis de TSH significativamente elevados em comparação com os controles. Para Russel (2011), é provável que a interrupção do desenvolvimento normal dos circuitos neurais no cérebro, por controle de *feedback* do hormônio tireoidiano prejudicado, dê origem aos distúrbios, por exemplo, na transmissão dopaminérgica, bem como nos sintomas comportamentais que definem o TDAH.

MODELO QUIMICAMENTE INDUZIDOS

Lesão por 6-Hidroxidopamina. Ratos neonatais com lesão causada por injeção intracerebroventricular de 6-hidroxidopamina (6-OHDA) têm sido sugeridos como um modelo útil para o TDAH. Eles exibem hiperatividade e aprendizagem prejudicada em uma tarefa de discriminação espacial, que melhora após o tratamento com metilfenidato ou D-anfetamina, mas não são impulsivos (Luthman et al., 1989; Shaywitz et al., 1978). No estudo de Luthman et al. (1989), filhotes de ratos lesionados no dia 1 pós-natal exibiram hiperatividade na idade adulta. Semelhante a crianças com TDAH, eles mostraram uma diminuição inicial no comportamento motor espontâneo quando colocados em um novo ambiente, mas, após testes repetidos, sua atividade aumentou em relação aos controles. A hiperatividade foi acompanhada por diminuição da dopamina no estriado, córtex pré-frontal, septo, mesencéfalo e amígdala. Somado a isso, Zhang et al. (2002b) descrevem em seus achados que a ligação do transportador

de serotonina aumenta no caudato-putâmen e no *nucleus accumbens* após lesões neonatais por 6-OHDA. Nesse modelo, a hiperatividade não está alterada pelos inibidores de transportadores de dopamina, mas foi bastante reduzida pelos antagonistas de DRD4, bem como inibidores de transportadores de norepinefrina e serotonina (Davids et al., 2002; Zhang et al., 2001, 2002a). Essas descobertas sugerem que os psicostimulantes reduzem a hiperatividade de ratos lesionados pela 6-OHDA ao inibir os transportadores de norepinefrina e serotonina. Além de reduzir a captação de norepinefrina, a inibição do transportador de norepinefrina reduziria a captação de dopamina para os terminais noradrenérgicos em várias áreas do cérebro, incluindo o córtex pré-frontal e o *nucleus accumbens* e, assim, exerceria efeitos na função dopaminérgica e noradrenérgica no cérebro (Russell, 2001).

ANÁLISE DE VALIDAÇÕES

Todos os modelos analisados atendem, em menor ou maior grau, aos critérios de validação (de face, de construto e preditiva), o que determina sua relevância e lhes confere confiabilidade científica para o estudo e a pesquisa sobre o TDAH (Sagvolden et al., 2005). Porém, algumas especificidades presentes em determinados modelos podem atribuir maior ou menor proximidade clínica com o transtorno. A Tabela 1 descreve as especificidades de cada modelo, relacionando suas características aos critérios de validação.

- Inserir Tabela 1 -

A validade de face, cujo atributo principal é a capacidade de imitar as características clínicas comportamentais fundamentais do transtorno (Willner, 1986), não foi totalmente contemplada em quatro estudos. A hiperatividade, por exemplo, não está presente no modelo “Rato de Baixo Desempenho na Tarefa de Escolha por Tempo de Reação para 5 Opções (5-CSRT)”, e a impulsividade não se encontra nos modelos “Rato Nocaute do Transportador de Dopamina (DAT-KO)”, “O Rato de Alta Excitabilidade de Naples” e “Ratos com Lesão de 6-Hidroxidopamina (6-OHDA)”. Ressalta-se, todavia, que essas duas características clínicas sejam,

talvez, as características mais marcantes e importantes no TDAH (Russell, 2011; Sagvolden et al., 2005). Neste critério, “O Rato Espontaneamente Hipertenso (SHR)” é o modelo que atende o maior número de características clínicas do transtorno, as quais envolvem a hiperatividade, a impulsividade, o déficit de aprendizagem e de atenção sustentada.

Sobre a validade de construto, todos atendem a uma fundamentação teórica do modelo relacionando o transtorno a uma disfunção comportamental, genética ou neurobiológica (Willner, 1986), envolvendo, sobretudo, os sistemas monoaminérgicos da dopamina e noradrenalina, bem como a regulação desses neurotransmissores e a redução dos sinais do TDAH, como hiperatividade e impulsividade, por meio do uso de psicostimulantes. Adicionalmente nesse critério, ressalta-se que “O Rato de Alta Excitabilidade de Naples” e “Coloboma Mutant Mouse” apresentam dados relacionados ao sistema glutamatérgico e o “O Rato Espontaneamente Hipertenso (SHR)” revela a presença de anormalidades neuroanatômicas.

Referente à validade preditiva, todos os modelos atendem ao critério envolvendo a sua contraparte humana e a extrapolação da eficiência de drogas, correlacionando, assim, a potência do modelo com a potência clínica. Em outras palavras, em todos os modelos, o uso de psicostimulantes como D-anfetamina, metilfenidato e dopamina tiveram efeito sobre os sintomas semelhantes ao TDAH.

CONSIDERAÇÕES FINAIS.

Todos os modelos analisados podem ser considerados modelos animais compatíveis com o TDAH por serem modelos de neurodesenvolvimento. Todavia, quanto mais características clínicas e neurobiológicas o modelo abranger, maior proximidade com o transtorno lhe será atribuído (Sagvolden et al., 2005). Nesse sentido, os modelos “Rato Espontaneamente Hipertenso (SHR)”, “Coloboma Mutant Mouse”, “Ratos Nocaute para o Receptor de Taquiquinina-1 (NK1R-KO)” e “Ratos Hipertireoidianos” são ratos que apresentam a hiperatividade, a impulsividade e o déficit atencional no mesmo modelo, o que lhes confere

maior proximidade ao TDAH. Além disso, o modelo “Rato Espontaneamente Hipertenso (SHR)” ganha destaque por ser um modelo genético (Kuntsi e Stevenson 2000), dada a alta hereditabilidade do TDAH ser resultante de complexas interações gene-gene e gene-ambiente (Faraone et al., 2005; Thapar et al., 2005). Faraone et al. (2005) estimaram em um levantamento envolvendo gêmeos e filhos adotivos, cerca de 76% de hereditabilidade do transtorno.

No mais, alguns dos modelos aqui revisados apresentam validades de construto que lhes são particulares. Resultados obtidos com os “Ratos Nocaute do Transportador de Dopamina (DAT-KO)” destacam que o aumento do tônus serotoninérgico pode estar envolvido na diminuição da hiperatividade. A relevância dessa descoberta, porém, mostra-se ainda limitante, uma vez que os inibidores da recaptação da serotonina são de uso limitado no tratamento do TDAH, pois um dos efeitos colaterais é a estimulação da atividade motora (Gainetdinov et al., 2001). O modelo “Rato Espontaneamente Hipertenso (SHR)” destaca que disfunções na sinalização de cálcio possa estar presente na etiologia do TDAH. Já os “Ratos Nocaute para o Receptor de Taquiquinina-1 (NK1R-KO)” prevêem uma possível associação do gene *TACR1* à etiologia do transtorno. Por fim, o modelo “Ratos Hipertireoidianos” destaca um possível envolvimento do hormônio TSH à etiologia do TDAH.

Este estudo analisou, por meio de uma revisão analítica, os principais modelos animais correntes do Transtorno de Déficit de Atenção e Hiperatividade, destacando as características de cada modelo responsáveis por suas validações e relevância clínica. Acredita-se, que essa análise possa ajudar pesquisadores, interessados nessas investigações, acerca do modelo que melhor atenda seus objetivos científicos e anseios clínicos relacionados a esse transtorno, tomando como base as validações de face, de construto e preditiva, as quais são premissas para qualquer estudo científico pré-clínico.

Referências

Adolphs, R. (2013). *The Biology of Fear - review de Adolphs 2013.pdf*. 23(2), 79–93.

<https://doi.org/10.1016/j.cub.2012.11.055>.The

Aldemir, R., Demirci, E., Per, H., Canpolat, M., Özmen, S., & Tokmakçı, M. (2018). Investigation of attention deficit hyperactivity disorder (ADHD) sub-types in children via EEG frequency domain analysis. *International Journal of Neuroscience*, 128(4), 349–360.

<https://doi.org/10.1080/00207454.2017.1382493>

American Psychiatric Association. (2013). *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (DSM-5®), Fifth Edition* (5th ed.).

Andreatini, R. (2002). A importância dos modelos animais em psiquiatria. *Revista Brasileira de Psiquiatria*, 24(4), 164–164. <https://doi.org/10.1590/s1516-44462002000400003>

Barkley, R. A. (1997). Behavioral inhibition, sustained attention, and executive functions: Constructing a unifying theory of ADHD. *Psychological Bulletin*, 121(1), 65–94.

<https://doi.org/doi.org/10.1037/0033-2909.121.1.65>

Barr, C. L., Feng, Y., Wigg, K., Bloom, S., Roberts, W., Malone, M., Schachar, R., Tannock, R., & Kennedy, J. L. (2000). Identification of DNA variants in the SNAP-25 gene and linkage study of these polymorphisms and attention-deficit hyperactivity disorder. *Molecular Psychiatry*, 5(4). <https://doi.org/10.1038/sj.mp.4000733>

Bendel, P., & Eilam, R. (1992). Quantitation of ventricular size in normal and spontaneously hypertensive rats by magnetic resonance imaging. *Brain Research*, 574(1–2).

[https://doi.org/10.1016/0006-8993\(92\)90820-Y](https://doi.org/10.1016/0006-8993(92)90820-Y)

Bezerra-Karounis, M. A., Krahe, T. E., Maisonnnette, S., & Landeira-Fernandez, J. (2020). Alcohol intake in Carioca High- and Low-conditioned Freezing rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 197(March), 173019. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2020.173019>

Biederman, J., & Spencer, T. (1999). Attention-deficit/hyperactivity disorder (ADHD) as a noradrenergic disorder. *Biological Psychiatry*, 46(9), 1234–1242.

[https://doi.org/10.1016/S0006-3223\(99\)00192-4](https://doi.org/10.1016/S0006-3223(99)00192-4)

- Bobb, A. J., Castellanos, F. X., Addington, A. M., & Rapoport, J. L. (2006). Molecular genetic studies of ADHD: 1991 to 2004. In *American Journal of Medical Genetics, Part B: Neuropsychiatric Genetics* (Vol. 141, Issue 6). <https://doi.org/10.1002/ajmg.b.30086>
- Boissy, A. (1995). Fear and fearfulness in animals. *Quarterly Review of Biology*, 70(2), 165–191. <https://doi.org/10.1086/418981>
- Bremner, J. D., Krystal, J. H., Southwick, S. M., & Charney, D. S. (1996). Noradrenergic mechanisms in stress and anxiety: I. Preclinical studies. *Synapse*, 23(1), 28–38. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1098-2396\(199605\)23:1<28::AID-SYN4>3.0.CO;2-J](https://doi.org/10.1002/(SICI)1098-2396(199605)23:1<28::AID-SYN4>3.0.CO;2-J)
- Bruno, K. J., Freet, C. S., Twining, R. C., Egami, K., Grigson, P. S., & Hess, E. J. (2007). Abnormal latent inhibition and impulsivity in coloboma mice, a model of ADHD. *Neurobiology of Disease*, 25(1). <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2006.09.009>
- Burd, L., Klug, M. G., Coumbe, M. J., & Kerbeshian, J. (2003). Children and adolescents with attention deficit-hyperactivity disorder: 1. Prevalence and cost of care. *Journal of Child Neurology*, 18(8). <https://doi.org/10.1177/08830738030180080101>
- Carey, M. P., Diewald, L. M., Esposito, F. J., Pellicano, M. P., Gironi Carnevale, U. A., Sergeant, J. A., Papa, M., & Sadile, A. G. (1998). Differential distribution, affinity and plasticity of dopamine D-1 and D-2 receptors in the target sites of the mesolimbic system in an animal model of ADHD. *Behavioural Brain Research*, 94(1). [https://doi.org/10.1016/S0166-4328\(97\)00178-2](https://doi.org/10.1016/S0166-4328(97)00178-2)
- Catania, A. C. (1998). *Learning: Fourth Edition* (NJ: Prentice Hall Inc (ed.); 4th ed.). NJ: Prentice Hall Inc.
- Cheon, K. A., Ryu, Y. H., Kim, Y. K., Namkoong, K., Kim, C. H., & Lee, J. D. (2003). Dopamine transporter density in the basal ganglia assessed with [123I]IPT SPET in children with

- attention deficit hyperactivity disorder. *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging*, 30(2). <https://doi.org/10.1007/s00259-002-1047-3>
- Davids, E., Zhang, K., Kula, N. S., Tarazi, F. I., & Baldessarini, R. J. (2002). Effects of norepinephrine and serotonin transporter inhibitors on hyperactivity induced by neonatal 6-hydroxydopamine lesioning in rats. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 301(3). <https://doi.org/10.1124/jpet.301.3.1097>
- Day, H. L. L., & Stevenson, C. W. (2020). The neurobiological basis of sex differences in learned fear and its inhibition. In *European Journal of Neuroscience* (Vol. 52, Issue 1). <https://doi.org/10.1111/ejn.14602>
- de Castro Gomes, V., & Landeira-Fernandez, J. (2008). Amygdaloid lesions produced similar contextual fear conditioning disruption in the Carioca high- and low-conditioned freezing rats. *Brain Research*, 1233, 137–145. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2008.07.044>
- Dougherty, D. D., Bonab, A. A., Spencer, T. J., Rauch, S. L., Madras, B. K., & Fischman, A. J. (1999). Dopamine transporter density in patients with attention deficit hyperactivity disorder. *Lancet*, 354(9196). [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(99\)04030-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(99)04030-1)
- Edyleine Bellini Peroni, E. B. (2015). Compreendendo o impacto do TDAH na dinâmica familiar e as possibilidades de intervenção. *Revista Psicopedagogia*, 32(97), 93–103. http://pepsic.bvsalud.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84862015000100010&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt
- Faraone, S. V. (2004). Genetics of adult attention-deficit/hyperactivity disorder. In *Psychiatric Clinics of North America* (Vol. 27, Issue 2). [https://doi.org/10.1016/S0193-953X\(03\)00090-X](https://doi.org/10.1016/S0193-953X(03)00090-X)
- Faraone, S. V., Perlis, R. H., Doyle, A. E., Smoller, J. W., Goralnick, J. J., Holmgren, M. A., & Sklar, P. (2005). Molecular genetics of attention-deficit/hyperactivity disorder. In *Biological*

Psychiatry (Vol. 57, Issue 11). <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2004.11.024>

Gainetdinov, R., & Caron, M. (2000). An animal model of attention deficit hyperactivity disorder. *Molecular Medicine Today*, 6, 43–44.

Gainetdinov, R. R., Caron, M. G., & Lombroso, P. J. (2001). Genetics of childhood disorders: XXIV. ADHD, part 8: Hyperdopaminergic mice as an animal model of ADHD. *Journal of the American Academy of Child and Adolescent Psychiatry*, 40(3).
<https://doi.org/10.1097/00004583-200103000-00020>

Gazarini, L., Jark Stern, C. A., Carobrez, A. P., & Bertoglio, L. J. (2013). Enhanced noradrenergic activity potentiates fear memory consolidation and reconsolidation by differentially recruiting α 1- and β -adrenergic receptors. *Learning and Memory*, 20(4), 210–219.
<https://doi.org/10.1101/lm.030007.112>

Giustino, T. F., & Maren, S. (2018). Noradrenergic modulation of fear conditioning and extinction. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 12(March), 1–20.
<https://doi.org/10.3389/fnbeh.2018.00043>

Goddard, A. W., Ball, S. G., Martinez, J., Robinson, M. J., Yang, C. R., Russell, J. M., & Shekhar, A. (2010). Current perspectives of the roles of the central norepinephrine system in anxiety and depression. In *Depression and Anxiety* (Vol. 27, Issue 4).
<https://doi.org/10.1002/da.20642>

Gomes, V. D. C., Eduardo, C., & Silva, B. (2011). The Carioca High and Low Conditioned Freezing Lines : A New Animal Model of Generalized Anxiety Disorder. *Anxiety Disorders*, 1.

Gomes, V. de C., Hassan, W., Maisonnnette, S., Johnson, L. R., Ramos, A., & Landeira-Fernandez, J. (2013). Behavioral evaluation of eight rat lines selected for high and low anxiety-related responses. *Behavioural Brain Research*, 257, 39–48.
<https://doi.org/10.1016/j.bbr.2013.09.028>

- Graeff, F. G. (2011). Defense-related emotions in humans. *Psychology and Neuroscience*, 4(2), 183–189. <https://doi.org/10.3922/j.psns.2011.2.003>
- Granon, S., Passetti, F., Thomas, K. L., Dalley, J. W., Everitt, B. J., & Robbins, T. W. (2000). Enhanced and impaired attentional performance after infusion of D1 dopaminergic receptor agents into rat prefrontal cortex. *Journal of Neuroscience*, 20(3). <https://doi.org/10.1523/jneurosci.20-03-01208.2000>
- Hess, E. J., Collins, K. A., & Wilson, M. C. (1996). Mouse model of hyperkinesis implicates SNAP-25 in behavioral regulation. *Journal of Neuroscience*, 16(9). <https://doi.org/10.1523/jneurosci.16-09-03104.1996>
- Hillhouse, T. M., & Porter, J. H. (2015). A brief history of the development of antidepressant drugs: From monoamines to glutamate. *Experimental and Clinical Psychopharmacology*, 23(1), 1–21. <https://doi.org/10.1037/a0038550>
- Hohmann, S., Hohm, E., Treutlein, J., Blomeyer, D., Jennen-Steinmetz, C., Schmidt, M. H., Esser, G., Banaschewski, T., Brandeis, D., & Laucht, M. (2015). Association of norepinephrine transporter (NET, SLC6A2) genotype with ADHD-related phenotypes: Findings of a longitudinal study from birth to adolescence. *Psychiatry Research*, 226(2–3), 425–433. <https://doi.org/10.1016/j.psychres.2014.12.029>
- Horn, J. L., Janicki, P. K., & Franks, J. J. (1995). Diminished brain synaptic plasma membrane ca^{2+} -atpase activity in spontaneously hypertensive rats: Association with reduced anesthetic requirements. *Life Sciences*, 56(22). [https://doi.org/10.1016/0024-3205\(95\)00170-B](https://doi.org/10.1016/0024-3205(95)00170-B)
- Irwin, J., Ahluwalia, P., & Anisman, H. (1986). Sensitization of norepinephrine activity following acute and chronic footshock. *Brain Research*, 379(1), 98–103. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(86\)90260-X](https://doi.org/10.1016/0006-8993(86)90260-X)

- Jedema, H. P., Sved, A. F., Zigmond, M. J., & Finlay, J. M. (1999). Sensitization of norepinephrine release in medial prefrontal cortex: Effect of different chronic stress protocols. *Brain Research*, 830(2). [https://doi.org/10.1016/S0006-8993\(99\)01369-4](https://doi.org/10.1016/S0006-8993(99)01369-4)
- Johansen, E. B., Aase, H., Meyer, A., & Sagvolden, T. (2002). Attention-deficit/hyperactivity disorder (ADHD) behaviour explained by dysfunctioning reinforcement and extinction processes. *Behavioural Brain Research*, 130(1–2). [https://doi.org/10.1016/S0166-4328\(01\)00434-X](https://doi.org/10.1016/S0166-4328(01)00434-X)
- Johnston, A. L., Baldwin, H. A., & File, S. E. (1988). Measures of anxiety and stress in the rat following chronic treatment with yohimbine. *Journal of Psychopharmacology*, 2(1). <https://doi.org/10.1177/026988118800200106>
- Jones, M. D., Williams, M. E., & Hess, E. J. (2000). Abnormal presynaptic catecholamine regulation in a hyperactive SNAP-25-deficient mouse mutant. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 68(4). [https://doi.org/10.1016/S0091-3057\(01\)00481-6](https://doi.org/10.1016/S0091-3057(01)00481-6)
- Jones, Michelle D., & Hess, E. J. (2003). Norepinephrine regulates locomotor hyperactivity in the mouse mutant coloboma. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 75(1). [https://doi.org/10.1016/S0091-3057\(03\)00073-X](https://doi.org/10.1016/S0091-3057(03)00073-X)
- Jones, Michelle D., Williams, M. E., & Hess, E. J. (2001). Expression of catecholaminergic mRNAs in the hyperactive mouse mutant coloboma. *Molecular Brain Research*, 96(1–2). [https://doi.org/10.1016/S0169-328X\(01\)00281-9](https://doi.org/10.1016/S0169-328X(01)00281-9)
- Kato, M., Fukuda, T., Wakeno, M., Fukuda, K., Okugawa, G., Ikenaga, Y., Yamashita, M., Takekita, Y., Nobuhara, K., Azuma, J., & Kinoshita, T. (2006). Effects of the serotonin type 2A, 3A and 3B receptor and the serotonin transporter genes on paroxetine and fluvoxamine efficacy and adverse drug reactions in depressed Japanese patients. *Neuropsychobiology*, 53(4). <https://doi.org/10.1159/000094727>

- Klein, M., Onnink, M., van Donkelaar, M., Wolfers, T., Harich, B., Shi, Y., Dammers, J., Arias-Vásquez, A., Hoogman, M., & Franke, B. (2017). Brain imaging genetics in ADHD and beyond – Mapping pathways from gene to disorder at different levels of complexity. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 80, 115–155.
<https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2017.01.013>
- Krause, K. H., Dresel, S. H., Krause, J., Kung, H. F., & Tatsch, K. (2000). Increased striatal dopamine transporter in adult patients with attention deficit hyperactivity disorder: Effects of methylphenidate as measured by single photon emission computed tomography. *Neuroscience Letters*, 285(2). [https://doi.org/10.1016/S0304-3940\(00\)01040-5](https://doi.org/10.1016/S0304-3940(00)01040-5)
- Landeira-Fernandez, J. (1996). Context and Pavlovian conditioning. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 29(2).
- Laura, A. L. A., Gomes, V. C., Brandão, M. L., Rodrigues, C., Cardenas, F. P., & Landeira-Fernandez, J. (2013). Corticosterone plasma concentrations in Carioca High-and Low-conditioned freezing rats after a fear conditioned task. *Avances En Psicología Latinoamericana*, 31(1), 279–287.
- Lehohla, M., Kellaway, L., & Russell, V. A. (2004). NMDA receptor function in the prefrontal cortex of a rat model for attention-deficit hyperactivity disorder. *Metabolic Brain Disease*, 19(1–2). <https://doi.org/10.1023/B:MEBR.0000027415.75432.ad>
- Lehohla, M., Russell, V., & Kellaway, L. (2001). NMDA-stimulated Ca²⁺ uptake into barrel cortex slices of spontaneously hypertensive rats. *Metabolic Brain Disease*, 16(3–4). <https://doi.org/10.1023/A:1012532709306>
- León, L. A., Castro-Gomes, V., Zárate-Guerrero, S., Corredor, K., Mello Cruz, A. P., Brandão, M. L., Cardenas, F. P., & Landeira-Fernandez, J. (2017). Behavioral effects of systemic,

infralimbic and prelimbic injections of a serotonin 5-HT_{2A} antagonist in carioca high- and low-conditioned freezing rats. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 11(July), 1–13.
<https://doi.org/10.3389/fnbeh.2017.00117>

Liu, Y., Zhao, J., & Guo, W. (2018). Emotional roles of mono-aminergic neurotransmitters in major depressive disorder and anxiety disorders. In *Frontiers in Psychology* (Vol. 9, Issue NOV). <https://doi.org/10.3389/fpsyg.2018.02201>

Ljungdahl, Å., Hökfelt, T., Nilsson, G., & Goldstein, M. (1978). Distribution of substance P-like immunoreactivity in the central nervous system of the rat-II. Light microscopic localization in relation to catecholamine-containing neurons. *Neuroscience*, 3(10).
[https://doi.org/10.1016/0306-4522\(78\)90117-3](https://doi.org/10.1016/0306-4522(78)90117-3)

López-Rubalcava, C., & Lucki, I. (2000). Strain differences in the behavioral effects of antidepressant drugs in the rat forced swimming test. *Neuropsychopharmacology*, 22(2).
[https://doi.org/10.1016/S0893-133X\(99\)00100-1](https://doi.org/10.1016/S0893-133X(99)00100-1)

Lou, H. C., Henriksen, L., Bruhn, P., Børner, H., & Nielsen, J. B. (1989). Striatal Dysfunction in Attention Deficit and Hyperkinetic Disorder. *Archives of Neurology*, 46(1).
<https://doi.org/10.1001/archneur.1989.00520370050018>

Luthman, J., Fredriksson, A., Lewander, T., Jonsson, G., & Archer, T. (1989). Effects of d-amphetamine and methylphenidate on hyperactivity produced by neonatal 6-hydroxydopamine treatment. *Psychopharmacology*, 99(4), 550–557.
<https://doi.org/10.1007/BF00589907>

Macêdo-Souza, C., Maisonnète, S. S., Filgueiras, C. C., Landeira-Fernandez, J., & Krahe, T. E. (2020). Cued Fear Conditioning in Carioca High- and Low-Conditioned Freezing Rats. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 13(January), 1–9.
<https://doi.org/10.3389/fnbeh.2019.00285>

- Macúchová, E., Ševčíková, M., Hřebíčková, I., Nohejlová, K., & Šlamberová, R. (2016). How various drugs affect anxiety-related behavior in male and female rats prenatally exposed to methamphetamine. *International Journal of Developmental Neuroscience*, 51, 1–11. <https://doi.org/10.1016/j.ijdevneu.2016.04.001>
- Maggi, C. A. (1995). The mammalian tachykinin receptors. In *General Pharmacology* (Vol. 26, Issue 5). [https://doi.org/10.1016/0306-3623\(94\)00292-U](https://doi.org/10.1016/0306-3623(94)00292-U)
- Malenka, R. C., & Nicoll, R. A. (1999). Long-term potentiation - A decade of progress? In *Science* (Vol. 285, Issue 5435). <https://doi.org/10.1126/science.285.5435.1870>
- Mignini, F., Vitaioli, L., Sabbatini, M., Tomassoni, D., & Amenta, F. (2004). The cerebral cortex of spontaneously hypertensive rats: A quantitative microanatomical study. *Clinical and Experimental Hypertension*, 26(4). <https://doi.org/10.1081/CEH-120034135>
- Mill, J., Curran, S., Kent, L., Gould, A., Hockett, L., Richards, S., Taylor, E., & Asherson, P. (2002). Association study of a SNAP-25 microsatellite and attention deficit hyperactivity disorder. *American Journal of Medical Genetics - Neuropsychiatric Genetics*, 114(3). <https://doi.org/10.1002/ajmg.10253>
- Moraes, C. de, Silva, F. M. B. N., & Andrade, Ê. R. de. (2007). Diagnóstico e tratamento de transtorno bipolar e TDAH na infância: desafios na prática clínica. *Jornal Brasileiro de Psiquiatria*, 56(suppl 1), 19–24. <https://doi.org/10.1590/s0047-20852007000500005>
- Moreno-García, I., Meneres-Sancho, S., Camacho-Vara de Rey, C., & Servera, M. (2019). A Randomized Controlled Trial to Examine the Posttreatment Efficacy of Neurofeedback, Behavior Therapy, and Pharmacology on ADHD Measures. *Journal of Attention Disorders*, 23(4). <https://doi.org/10.1177/1087054717693371>
- Myers, M. M., Musty, R. E., & Hendley, E. D. (1982). Attenuation of hyperactivity in the spontaneously hypertensive rat by amphetamine. *Behavioral and Neural Biology*, 34(1).

- Norrholm, S. D., & Ressler, K. J. (2009). Genetics of anxiety and trauma-related disorders. In *Neuroscience* (Vol. 164, Issue 1). <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2009.06.036>
- Okamoto, K., & Aoki, K. (1963). Development of a strain of spontaneously hypertensive rats. *JAPANESE CIRCULATION JOURNAL*, 27(3). <https://doi.org/10.1253/jcj.27.282>
- Olson, V. G., Rockett, H. R., Reh, R. K., Redila, V. A., Tran, P. M., Venkov, H. A., Defino, M. C., Hague, C., Peskind, E. R., Szot, P., & Raskind, M. A. (2011). The role of norepinephrine in differential response to stress in an animal model of posttraumatic stress disorder. *Biological Psychiatry*, 70(5), 441–448. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2010.11.029>
- Park, L., Nigg, J. T., Waldman, I. D., Nummy, K. A., Huang-Pollock, C., Rappley, M., & Friderici, K. H. (2005). Association and linkage of α -2A adrenergic receptor gene polymorphisms with childhood ADHD. *Molecular Psychiatry*, 10(6). <https://doi.org/10.1038/sj.mp.4001605>
- Paule, M. G., Rowland, A. S., Ferguson, S. A., Chelonis, J. J., Tannock, R., Swanson, J. M., & Castellanos, F. X. (2000). Attention deficit/hyperactivity disorder: Characteristics, interventions and models. *Neurotoxicology and Teratology*, 22(5). [https://doi.org/10.1016/S0892-0362\(00\)00095-7](https://doi.org/10.1016/S0892-0362(00)00095-7)
- Perusini, J. N., & Fanselow, M. S. (2015). Neurobehavioral perspectives on the distinction between fear and anxiety. *Learning and Memory*, 22(9), 417–425. <https://doi.org/10.1101/lm.039180.115>
- Peters, E. J., Slager, S. L., McGrath, P. J., Knowles, J. A., & Hamilton, S. P. (2004). Investigation of serotonin-related genes in antidepressant response. *Molecular Psychiatry*, 9(9). <https://doi.org/10.1038/sj.mp.4001502>
- Pietrzak, R. H., Gallezot, J. D., Ding, Y. S., Henry, S., Potenza, M. N., Southwick, S. M., Krystal, J. H., Carson, R. E., & Neumeister, A. (2013). Association of posttraumatic stress disorder with reduced in vivo norepinephrine transporter availability in the locus coeruleus. *JAMA*

Psychiatry, 70(11), 1199–1205. <https://doi.org/10.1001/jamapsychiatry.2013.399>

Puumala, T., Ruotsalainen, S., Jäkälä, P., Koivisto, E., Riekkinen, P., & Sirviö, J. (1996).

Behavioral and pharmacological studies on the validation of a new animal model for attention deficit hyperactivity disorder. *Neurobiology of Learning and Memory*, 66(2). <https://doi.org/10.1006/nlme.1996.0060>

Raber, J., Mehta, P. P., Kreifeldt, M., Parsons, L. H., Weiss, F., Bloom, F. E., & Wilson, M. C.

(1997). Coloboma hyperactive mutant mice exhibit regional and transmitter- specific deficits in neurotransmission. *Journal of Neurochemistry*, 68(1). <https://doi.org/10.1046/j.1471-4159.1997.68010176.x>

Ramikie, T. S., & Ressler, K. J. (2018). Mechanisms of Sex Differences in Fear and Posttraumatic Stress Disorder. In *Biological Psychiatry* (Vol. 83, Issue 10).

<https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2017.11.016>

Rastogi, R. B., & Singhal, R. L. (1976). Influence of neonatal and adult hyperthyroidism on

behavior and biosynthetic capacity for norepinephrine, dopamine and 5 hydroxytryptamine in rat brain. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 198(3).

Ressler, K. J., & Nemeroff, C. B. (1999). Role of norepinephrine in the pathophysiology and treatment of mood disorders. *Biological Psychiatry*, 46(9), 1219–1233.

[https://doi.org/10.1016/S0006-3223\(99\)00127-4](https://doi.org/10.1016/S0006-3223(99)00127-4)

Ribeiro-da-Silva, A., & Hökfelt, T. (2000). Neuroanatomical localisation of substance P in the CNS and sensory neurons. *Neuropeptides*, 34(5).

<https://doi.org/10.1054/npep.2000.0834>

Robbins, T. W. (2002). The 5-choice serial reaction time task: Behavioural pharmacology and functional neurochemistry. In *Psychopharmacology* (Vol. 163, Issues 3–4).

<https://doi.org/10.1007/s00213-002-1154-7>

Ruocco, L. A., Carnevale, U. A. G., Sadile, A. G., Sica, A., Arra, C., Di Maio, A., Topo, E., &

D’Aniello, A. (2009). Elevated forebrain excitatory l-glutamate, l-aspartate and d-aspartate in the Naples high-excitability rats. *Behavioural Brain Research*, 198(1).

<https://doi.org/10.1016/j.bbr.2008.11.029>

Ruocco, Lucia A., de Souza Silva, M. A., Topic, B., Mattern, C., Huston, J. P., & Sadile, A. G.

(2009). Intranasal application of dopamine reduces activity and improves attention in Naples High Excitability rats that feature the mesocortical variant of ADHD. *European Neuropsychopharmacology*, 19(10). <https://doi.org/10.1016/j.euroneuro.2009.02.005>

Russell, Vivienne A. (2001). Increased AMPA receptor function in slices containing the

prefrontal cortex of spontaneously hypertensive rats. *Metabolic Brain Disease*, 16(3–4).

<https://doi.org/10.1023/A:1012584826144>

Russell, Vivienne A., Oades, R. D., Tannock, R., Killeen, P. R., Auerbach, J. G., Johansen, E. B., &

Sagvolden, T. (2006). Response variability in Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder: A neuronal and glial energetics hypothesis. *Behavioral and Brain Functions*, 2.

<https://doi.org/10.1186/1744-9081-2-30>

Russell, Vivienne A., Sagvolden, T., & Johansen, E. B. (2005). Animal models of attention-deficit

hyperactivity disorder. *Behavioral and Brain Functions*, 1, 1–17.

<https://doi.org/10.1186/1744-9081-1-9>

Russell, Vivienne Ann. (2011). Overview of animal models of attention deficit hyperactivity

disorder (ADHD). *Current Protocols in Neuroscience*, SUPPL.54, 1–25.

<https://doi.org/10.1002/0471142301.ns0935s54>

SADILE A.G., U.A. G. C., E. V., L.A. C., H., W., & K. B. (1988). Maze learning of the Naples High

and Low-Excitability rat lines. *Adv Biosci*, 70(177–180.).

- Sagvolden, T., & Sergeant, J. A. (1998). Attention deficit/hyperactivity disorder - From brain dysfunctions to behaviour. In *Behavioural Brain Research* (Vol. 94, Issue 1).
[https://doi.org/10.1016/S0166-4328\(97\)00164-2](https://doi.org/10.1016/S0166-4328(97)00164-2)
- Sagvolden, Terje. (2000). Behavioral validation of the spontaneously hypertensive rat (SHR) as an animal model of attention-deficit/hyperactivity disorder (AD/HD). *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 24(1). [https://doi.org/10.1016/S0149-7634\(99\)00058-5](https://doi.org/10.1016/S0149-7634(99)00058-5)
- Sagvolden, Terje, Aase, H., Zeiner, P., & Berger, D. (1998). Altered reinforcement mechanisms in attention-deficit/hyperactivity disorder. *Behavioural Brain Research*, 94(1).
[https://doi.org/10.1016/S0166-4328\(97\)00170-8](https://doi.org/10.1016/S0166-4328(97)00170-8)
- Sagvolden, Terje, Russell, V. A., Aase, H., Johansen, E. B., & Farshbaf, M. (2005). Rodent models of attention-deficit/hyperactivity disorder. *Biological Psychiatry*, 57(11), 1239–1247.
<https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2005.02.002>
- Shaywitz, B. A., Klopfer, J. H., & Gordon, J. W. (1978). Methylphenidate in 6-Hydroxydopamine-Treated Developing Rat Pups: Effects on Activity and Maze Performance. *Archives of Neurology*, 35(7).
<https://doi.org/10.1001/archneur.1978.00500310065014>
- Siesser, W. B., Zhao, J., Miller, L. R., Cheng, S. Y., & McDonald, M. P. (2006). Transgenic mice expressing a human mutant $\beta 1$ thyroid receptor are hyperactive, impulsive, and inattentive. *Genes, Brain and Behavior*, 5(3). <https://doi.org/10.1111/j.1601-183X.2005.00161.x>
- Silva, A. B. B. (2014). *Mentes inquietas: TDAH Desatenção, Hiperatividade e Impulsividade*. (Globo (ed.); 4th ed.). Globo.
- Steimer, T. (2002). The biology of fear- and anxiety-related behaviors. *Dialogues in Clinical Neuroscience*, 4(3), 231–249. <https://doi.org/10.31887/dcns.2002.4.3/tsteimer>

- Taylor, E. (1998). Clinical foundations of hyperactivity research. *Behavioural Brain Research*, 94(1). [https://doi.org/10.1016/S0166-4328\(97\)00165-4](https://doi.org/10.1016/S0166-4328(97)00165-4)
- Thapar, A., O'Donovan, M., & Owen, M. J. (2005). The genetics of attention deficit hyperactivity disorder. *Human Molecular Genetics*, 14(SUPPL. 2). <https://doi.org/10.1093/hmg/ddi263>
- Tillage, R. P., Foster, S. L., Lustberg, D., Liles, L. C., & Weinshenker, D. (2020). Co-released Norepinephrine and Galanin Act on Different Timescales to Promote Stress-Induced Anxiety-Like Behavior. *BioRxiv*, 1–25. <https://doi.org/doi.org/10.1101/2020.12.05.413138>
- Tomassoni, D., Bellagamba, G., Postacchini, D., Venarucci, D., & Amenta, F. (2004). Cerebrovascular and brain microanatomy in spontaneously hypertensive rats with streptozotocin-induced diabetes. *Clinical and Experimental Hypertension*, 26(4). <https://doi.org/10.1081/CEH-120034136>
- Trinh, J. V., Nehrenberg, D. L., Jacobsen, J. P. R., Caron, M. G., & Wetsel, W. C. (2003). Differential psychostimulant-induced activation of neural circuits in dopamine transporter knockout and wild type mice. *Neuroscience*, 118(2). [https://doi.org/10.1016/S0306-4522\(03\)00165-9](https://doi.org/10.1016/S0306-4522(03)00165-9)
- Tully, K., & Bolshakov, V. Y. (2010). Emotional enhancement of memory: How norepinephrine enables synaptic plasticity. *Molecular Brain*, 3(1), 1–9. <https://doi.org/10.1186/1756-6606-3-15>
- Velasco, E. R., Florido, A., Milad, M. R., & Andero, R. (2019). Sex differences in fear extinction. In *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* (Vol. 103). <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2019.05.020>
- Viggiano, D., Ruocco, L. A., Arcieri, S., & Sadile, A. G. (2004). Involvement of norepinephrine in the control of activity and attentive processes in animal models of attention deficit

hyperactivity disorder. *Neural Plasticity*, 11(1–2), 133–149.

<https://doi.org/10.1155/NP.2004.133>

Volkow, N. D., Wang, G. J., Fowler, J. S., Logan, J., Franceschi, D., Maynard, L., Ding, Y. S., Gatley, S. J., Gifford, A., Zhu, W., & Swanson, J. M. (2002). Relationship between blockade of dopamine transporters by oral methylphenidate and the increases in extracellular dopamine: Therapeutic implications. *Synapse*, 43(3). <https://doi.org/10.1002/syn.10038>

Watanabe, Y., Fujita, M., Ito, Y., Okada, T., Kusuoka, H., & Nishimura, T. (1997). Brain dopamine transporter in spontaneously hypertensive rats. *Journal of Nuclear Medicine*, 38(3).

Wiersema, J. R., Van Der Meere, J. J., & Roeyers, H. (2005). ERP correlates of impaired error monitoring in children with ADHD. *Journal of Neural Transmission*, 112(10). <https://doi.org/10.1007/s00702-005-0276-6>

Willner, P. (1986). Validation criteria for animal models of human mental disorders: Learned helplessness as a paradigm case. *Progress in Neuropsychopharmacology and Biological Psychiatry*, 10(6). [https://doi.org/10.1016/0278-5846\(86\)90051-5](https://doi.org/10.1016/0278-5846(86)90051-5)

Wilson, M. C. (2000). Coloboma mouse mutant as an animal model of hyperkinesis and attention deficit hyperactivity disorder. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 24(1). [https://doi.org/10.1016/S0149-7634\(99\)00064-0](https://doi.org/10.1016/S0149-7634(99)00064-0)

Xavier Castellanos, F., Lee, P. P., Sharp, W., Jeffries, N. O., Greenstein, D. K., Clasen, L. S., Blumenthal, J. D., James, R. S., Ebens, C. L., Walter, J. M., Zijdenbos, A., Evans, A. C., Giedd, J. N., & Rapoport, J. L. (2002). Developmental trajectories of brain volume abnormalities in children and adolescents with attention-deficit/hyperactivity disorder. *Journal of the American Medical Association*, 288(14). <https://doi.org/10.1001/jama.288.14.1740>

- Yan, T. C., McQuillin, A., Thapar, A., Asherson, P., Hunt, S. P., Stanford, S. C., & Gurling, H. (2010). NK1 (TACR1) receptor gene knockout mouse phenotype predicts genetic association with ADHD. *Journal of Psychopharmacology*, 24(1).
<https://doi.org/10.1177/0269881108100255>
- Yan, Ting C., Hunt, S. P., & Stanford, S. C. (2009). Behavioural and neurochemical abnormalities in mice lacking functional tachykinin-1 (NK1) receptors: A model of attention deficit hyperactivity disorder. In *Neuropharmacology* (Vol. 57, Issues 7–8).
<https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2009.08.021>
- Yan, Ting Carrie, Dudley, J. A., Weir, R. K., Grabowska, E. M., Peña-Oliver, Y., Ripley, T. L., Hunt, S. P., Stephens, D. N., & Stanford, S. C. (2011). Performance deficits of NK1 receptor knockout mice in the 5-choice serial reaction-time task: Effects of d-amphetamine, stress and time of day. *PLoS ONE*, 6(3). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0017586>
- Zametkin AJ, & Rapoport JL. (1987). *Noradrenergic hypothesis of attention deficit disorder with hyperactivity: A critical review*. (: Meltzer HY (ed.)). Raven Press.
- Zhang, K., Davids, E., Tarazi, F. I., & Baldessarini, R. J. (2002a). Effects of dopamine D4 receptor-selective antagonists on motor hyperactivity in rats with neonatal 6-hydroxydopamine lesions. *Psychopharmacology*, 161(1). <https://doi.org/10.1007/s00213-002-1018-1>
- Zhang, K., Davids, E., Tarazi, F. I., & Baldessarini, R. J. (2002b). Serotonin transporter binding increases in caudate-putamen and nucleus accumbens after neonatal 6-hydroxydopamine lesions in rats: Implications for motor hyperactivity. *Developmental Brain Research*, 137(2). [https://doi.org/10.1016/S0165-3806\(02\)00436-4](https://doi.org/10.1016/S0165-3806(02)00436-4)
- Zhang, K., Tarazi, F. I., & Baldessarini, R. J. (2001). Role of dopamine D4 receptors in motor hyperactivity induced by neonatal 6-hydroxydopamine lesions in rats. *Neuropsychopharmacology*, 25(5). [https://doi.org/10.1016/S0893-133X\(01\)00262-7](https://doi.org/10.1016/S0893-133X(01)00262-7)

Tabela 1: *Validades de face, de construto e preditiva por modelo animal de***TDAA**

Modelo	Validade de face	Validade de construto	Validade preditiva
Rato Nocaute do Transportador de Dopamina (DAT-KO).	Hiperatividade; Déficit de aprendizagem e memória.	Disfunção do sistema dopaminérgico.	Hiperatividade diminuída por psicostimulantes.
O Rato de Alta Excitabilidade de Naples.	Hiperatividade; Déficit de memória.	Disfunção do sistema dopaminérgico; Concentrações elevadas de L-glutamato, D-glutamato e L-aspartato.	Melhora de desempenho com a administração de dopamina.
O Rato de Baixo Desempenho na Tarefa de Escolha por Tempo de Reação para 5 Opções (5-CSRT).	Impulsividade; Déficit de aprendizagem e de atenção sustentada.	Disfunção do sistema dopaminérgico.	Melhora da aprendizagem, da atenção sustentada e da impulsividade com metilfenidato.
O Rato Espontaneamente Hipertenso (SHR).	Hiperatividade; Impulsividade; Déficit de aprendizagem e de atenção sustentada.	Disfunção dos sistemas dopaminérgico e noradrenérgico; Alteração neuroanatômica; Diminuição do número de neurônios.	D-anfetamina e metilfenidato reduziram o comportamento semelhante ao TDAH; Metilfenidato reverteu a densidade de DRD1 no estriado.
Coloboma Mutant Mouse.	Hiperatividade; Impulsividade; Déficit inibitório.	Disfunção dos sistemas dopaminérgico, noradrenérgico e glutamatérgico.	Hiperatividade reduzida pela D-anfetamina e por depleção noradrenérgica.
Ratos Nocaute para o Receptor de Taquiquinina-1 (NK1R-KO).	Hiperatividade; Impulsividade; Desatenção.	Disfunção dos sistemas serotoninérgico, noradrenérgico e dopaminérgico.	Hiperatividade reduzida por anfetamina.
Ratos Hipertireoidianos.	Hiperatividade; Impulsividade; Desatenção; Dificuldade de extinção operante.	Disfunção do sistema dopaminérgico.	Redução da hiperatividade por metilfenidato.
Ratos com Lesão de 6-Hidroxidopamina (6-OHDA)	Hiperatividade; Déficit de aprendizagem.	Disfunção do sistema dopaminérgico.	Hiperatividade reduzida por metilfenidato, D-anfetamina, antagonistas de DRD4 e inibidores de transportadores de norepinefrina e serotonina.