



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA

INSTITUTO DE PSICOLOGIA

PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DO COMPORTAMENTO

ANÁLISE DA ESTRUTURA FATORIAL DO COMPORTAMENTO

EXPLORATÓRIO DE RATOS EM MODELOS DE ANSIEDADE,

DEPRESSÃO E RECONHECIMENTO

Graziela Furtado Scarpelli Ferreira

Brasília, DF

Agosto de 2010



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA

INSTITUTO DE PSICOLOGIA

PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DO COMPORTAMENTO

ANÁLISE DA ESTRUTURA FATORIAL DO COMPORTAMENTO  
EXPLORATÓRIO DE RATOS EM MODELOS DE ANSIEDADE,  
DEPRESSÃO E RECONHECIMENTO

Graziela Furtado Scarpelli Ferreira

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências do Comportamento do Instituto de Psicologia da Universidade de Brasília como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Ciências do Comportamento – Área de Cognição e Neurociências do Comportamento.

Orientador: Prof. Dr. Antonio Pedro de Mello Cruz

Brasília, DF

Agosto de 2010

Análise da estrutura fatorial do comportamento exploratório de ratos em modelos de ansiedade, depressão e reconhecimento.

Tese de Doutorado defendida diante e avaliada pela banca examinadora constituída por:

---

Prof. Dr. Antonio Pedro de Mello Cruz (Presidente/Orientador)  
Universidade de Brasília / IP / PPB – UnB

---

Prof. Dr. Gilson de Assis Pinheiro (Membro)  
Faculdade Maurício de Nassau

---

Prof. Dr. Sérgio Henrique de Souza Alves (Membro)  
Centro Universitário de Brasília – UniCEUB  
Instituto de Educação Superior de Brasília – IESB

---

Prof. Dr. José Eduardo Pandossio (Membro)  
Universidade de Brasília / Campus Ceilândia / Farmácia - UnB

---

Prof. Dr. Francisco Dyonísio Cardoso Mendes (Membro)  
Universidade de Brasília / IP / PPB - UnB

---

Prof. Dr<sup>a</sup>. Wânia Cristina de Souza (Suplente)  
Universidade de Brasília / IP / PPB – UnB

A minha família, pais e marido, por todo apoio  
incondicional e pela paciência.

## AGRADECIMENTOS

Ao Professor Doutor Antonio Pedro de Mello Cruz por mais uma caminhada juntos e pelo imenso respeito como pesquisador, professor e, ousou dizer, amigo. Pela sua paciência e sabedoria comigo nas horas de desespero e desânimo. Agradeço o companheirismo e, principalmente, a confiança e a liberdade que o senhor depositou em mim no desenvolvimento da minha autonomia como pesquisadora.

Ao meu marido, Enrique Maia Rocha, pela paciência e apoio incondicionais. Por respeitar e compreender minhas ausências e por abdicar de passeios para permanecer ao meu lado durante todo o processo. Obrigada por ter sabido me acompanhar nessa jornada e por ser o meu porto seguro com todo o seu amor que é fundamental para minha vida.

A meus pais, Orpheu e Beigy, pelos incentivos incansáveis e por perdoarem a minha falta nos finais de semana dedicados ao trabalho. Agradeço o carinho do meu pai ao perguntar todos os dias “como vai o trabalho, minha filha?” e a minha mãe por ter sido minha eterna amiga em todas as minhas escolhas. Obrigada pelas alegrias e choros compartilhados.

Ao amigo Marcelo Salviano pela imensa ajuda desde o planejamento, passando pela coleta de dados, análises das fitas do experimento, à análise estatística. Obrigada pelas horas dispensadas do seu curto tempo a nossa amizade e pela carinhosa sabedoria de não me deixar desanimar. Sem você essa caminhada teria sido impossível.

A grande amiga Marília Greidinger que sempre esteve ao meu lado durante todo o processo, abdicando inclusive de suas atividades para me auxiliar. Obrigada

pelo carinho e pelas conversas, pelo tempo dedicado a minha pesquisa e por ter assumido minhas atribuições no trabalho para tornar possível o final dessa jornada.

Ao Professor Doutor José Eduardo Pandossio por me apresentar para a área de neurociências e por ter sido sempre fonte inspiradora da minha jornada acadêmica e pessoal. Obrigada pelo apoio constante e por todas as caminhadas juntos. Agradeço o carinho de ter aceitado participar da banca.

Ao Professor Doutor Sérgio Henrique de Souza Alves por me acompanhar desde o mestrado sendo um grande amigo pessoal e acadêmico e companheiro de projetos experimentais. Obrigada pela presença na coleta e pelo carinho de sempre. Agradeço o aceite do convite de participar da banca, mesmo com tantas atribuições profissionais e pessoais.

Ao Professor Doutor Gilson de Assis Pinheiro por ter sido grande companheiro de mestrado e amigo nos momentos difíceis dos experimentos realizados juntos. Agradeço a gentileza no aceite do convite de participar da banca dessa tese.

A Professora Doutora Wânia Cristina de Souza pela amizade e por todo carinho nesse processo. Agradeço as palavras de alívio nos momentos de desespero e a eterna sabedoria. Obrigada por aceitar participar da banca desse trabalho.

Ao Professor Doutor Francisco Dyonísio Cardoso Mendes pelo gentil e-mail trocado e pela disponibilidade de participar da banca dessa tese.

Ao Professor Doutor João Claudio Todorov pela compreensão das minhas ausências em função dessa pesquisa e por ser incentivador da área acadêmica e fonte de inspiração para o meu desenvolvimento profissional. Obrigada pelo carinho que o senhor sempre teve comigo, por acreditar no meu trabalho, pela enorme confiança depositada nas oportunidades oferecidas.

Aos meus alunos de pesquisa Kalliu Couto e Rebeca Machado pela condução dessa pesquisa. Agradeço as tardes dispensadas na coleta de dados, o bom humor de vocês nas horas mais difíceis e o interesse pela área. Vocês são fonte inspiradora para o meu trabalho como docente.

Ao Professor Doutor Fábio Iglesias que tão gentilmente me recebeu em seu laboratório para me ensinar a análise fatorial. Agradeço as tardes dedicadas, de seu precioso tempo, a me auxiliar, especialmente, com o programa estatístico SPSS.

Ao Professor Mestre Wanderley Akira Shiguti que, de forma tão carinhosa, ensinou-me o “caminho das pedras” para apresentação dos resultados, despendeu tempo de suas tarefas para me ensinar a interpretar a estatística. Muito obrigada por ter me ensinado a me encantar com os meus resultados.

Às alunas de pesquisa que também contribuíram e tornaram possível a coleta de dados, em especial a discente Camila Abgail, pela imensa contribuição nas tardes confinadas no laboratório, e as alunas Juliana e Luana pela breve, mas importante, participação.

Às grandes amigas de todos os outros momentos, por terem sido tão compreensivas na minha ausência das atividades sociais e por terem sido grandes incentivadoras dessa caminhada. Obrigada especialmente a Ana Paula Santana, Fernanda Mendizabal, Karina Motta, Maristela Gusmão, Miriam Pondaag, Nara Liana, Sanmya Salomão, Sílvia Lordello e Valeska Zanello.

As pessoas que estiveram direta ou indiretamente envolvidas nesse processo, tais como as bioteristas Aline e Mariana que cuidaram dos animais durante a pesquisa. Agradeço fortemente, também, à secretária da pós-graduação da UnB, Joyce, que sempre foi tão atenciosa e cuidadosa comigo e com todos os colegas do curso de pós-graduação na área.

A Professora Doutora Alessandra Albuquerque por ter me recebido com tanto carinho na Universidade Católica de Brasília, incentivando o fim dessa minha jornada.

Ao Instituto de Educação Superior de Brasília – IESB por permitir que parte da coleta de dados fosse realizada em suas instalações e por incentivar as atividades no laboratório de Psicofisiologia e Psicofarmacologia.

## SUMÁRIO

DEDICATÓRIA .....	I
AGRADECIMENTOS.....	II
SUMÁRIO .....	VI
LISTA DE FIGURAS .....	VIII
LISTA DE TABELAS .....	IX
RESUMO .....	XI
ABSTRACT .....	XII
INTRODUÇÃO .....	01
MODELOS ANIMAIS .....	02
VALIDADE DOS MODELOS ANIMAIS .....	04
MODELOS ANIMAIS DE ANSIEDADE .....	09
MODELO ANIMAL DE DEPRESSÃO .....	14
MODELO ANIMAL DE RECONHECIMENTO .....	20
ANÁLISE FATORIAL .....	22
ANÁLISE FATORIAL APLICADA A MODELOS ANIMAIS .....	25
OBJETIVOS .....	26
<b>MÉTODO .....</b>	<b>28</b>
Sujeitos.....	28
Equipamentos.....	28
Procedimento .....	37
Análise Estatística.....	45
<b>RESULTADOS.....</b>	<b>45</b>
<b>DISCUSSÃO.....</b>	<b>59</b>

**REFERÊNCIAS** ..... 78

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Foto do modelo animal de Reconhecimento.	31
Figura 2. Foto do modelo animal de Transição Claro-Escuro.	32
Figura 3. Foto do modelo animal de Labirinto em Cruz Elevado.	33
Figura 4. Foto do modelo animal de Labirinto em T Elevado.	35
Figura 5. Foto do modelo animal de Nado Forçado.	36
Figura 6. Foto do modelo animal do Condicionamento da Resposta de Congelamento.	37

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Distribuição da estrutura fatorial rotacionada pelo método varimax das medidas comportamentais de ansiedade (com medidas etológicas), depressão e reconhecimento .....	46
Tabela 2. Distribuição da estrutura fatorial rotacionada pelo método varimax das medidas comportamentais de ansiedade (sem medidas etológicas), depressão e reconhecimento .....	48
Tabela 3. Distribuição da estrutura fatorial rotacionada pelo método varimax das medidas comportamentais de ansiedade (com as medidas etológicas), depressão e reconhecimento nos dois dias de exposição.....	51
Tabela 4. Distribuição da estrutura fatorial rotacionada pelo método varimax das medidas comportamentais “cognitivas” do modelo de reconhecimento nos segundo dia de exposição .....	53
Tabela 5. Distribuição da estrutura fatorial rotacionada pelo método varimax das medidas comportamentais de ansiedade do modelo de transição claro-escuro nos dois dias de exposição .....	54
Tabela 6. Distribuição da estrutura fatorial rotacionada pelo método varimax das medidas comportamentais de ansiedade do modelo de labirinto em cruz elevado, sem as medidas etológicas, nos dois dias de exposição .....	55
Tabela 7. Distribuição da estrutura fatorial rotacionada pelo método varimax das medidas comportamentais de ansiedade do modelo de labirinto em cruz elevado, com as medidas etológicas, nos dois dias de exposição .....	56

Tabela 8. Distribuição da estrutura fatorial rotacionada pelo método varimax das medidas comportamentais de ansiedade do modelo de labirinto em T elevado nos dois dias de exposição.....	57
Tabela 9. Distribuição da estrutura fatorial rotacionada pelo método varimax das medidas comportamentais de depressão do modelo nado forçado nos dois dias de exposição.....	58
Tabela 10. Distribuição da estrutura fatorial rotacionada pelo método varimax das medidas comportamentais de ansiedade condicionada do modelo de condicionamento da resposta de congelamento nos dois dias de exposição.....	58

## RESUMO

Modelos animais têm sido amplamente utilizados para o estudo de diferentes funções psicológicas em humanos, incluindo comportamentos relacionados à ansiedade e depressão. A seleção do modelo animal “adequado”, entretanto, é controversa e dependente do grau de confiabilidade que o comportamento definido operacionalmente pode reproduzir fielmente tal fenômeno psicológico, especialmente ansiedade e depressão. No presente estudo, 60 ratos Wistar foram expostos subsequentemente aos seguintes modelos animais: reconhecimento de objetos novos, transição claro-escuro, labirinto em cruz elevado, labirinto em T elevado, nado forçado e resposta condicionada de congelamento. A frequência e/ou duração das principais medidas comportamentais foram registradas e submetidas a um procedimento estatístico de análise fatorial com o objetivo de identificar os fatores com itens relacionados não apenas em cada modelo, mas também entre os seis modelos animais. Os resultados indicaram os seguintes fatores comuns: modelos de ansiedade de pressupostos etológicos; efeito de exposição repetida para modelos do labirinto em cruz elevado e o de transição claro-escuro; e covariância entre as medidas de depressão no nado forçado e as de ansiedade no modelo de condicionamento da resposta de congelamento. A adequação dos modelos estudados e as implicações baseadas em suas estruturas fatoriais são discutidas.

Palavras-chave: ansiedade, depressão, novidade, modelos animais, análise fatorial.

## ABSTRACT

Animal models have been widely used in studies of different psychological functions in humans, including anxiety and depression-related behaviors. The selection of the ‘adequate’ animal model, however, is controversial and dependent on the degree of certainty that the operationally defined behavior truly reproduces such a psychological phenomenon, especially anxiety and depression. In the present study 60 naïve male Wistar rats were subsequently exposed to the following animal models: recognizing new objects, white-dark transition test, elevated plus-maze, elevated T maze, forced swim and conditioned freezing response. The frequency and/or duration of the main behavioral measures were registered and submitted to a factor analysis statistical procedure in order to identify clusters of related items not only within each animal model separately but also between all the six animal models. Results indicated the following pattern of emerging factors: anxiety models with ethological assumptions, re-exposure effect for the elevated plus maze and light-dark transition box; intersection between measures of depression on the forced swim and of anxiety on the conditioned freezing response. The adequacy of the animal models evaluated and the implications based on its factorial structure are discussed.

Keywords: anxiety, depression, novelty, animal models, factorial analyses.

Modelos animais têm sido amplamente utilizados em pesquisas laboratoriais para o estudo de diversas funções psicológicas (Graeff & Brandão, 1999). A investigação desses modelos vem sendo realizada de modo a fornecer subsídios para pesquisas básicas sobre diferentes facetas de comportamentos humanos e de suas psicopatologias. Tais modelos animais foram desenvolvidos com o propósito de investigar essas relações entre comportamentos e diferentes respostas emocionais, coordenadas por mecanismos neurais humanos e não-humanos. “Tipicamente, modelos são preparações animais para tentar mimetizar uma condição humana, inclusive de psicopatologia.” (Geyer & Markou, 2000, p. 1).

Tais modelos animais, especialmente em mamíferos, mostram-se de grande valia na investigação científica de comportamentos correlacionados a estados emocionais em humanos (Le Doux, 1998). Ratificando essa idéia, além de padrões comportamentais semelhantes, há importante similaridade nas estruturas do sistema nervoso central (SNC), ativadas na percepção e produção de respostas em situações de perigo entre humanos e outros animais (Davis, 1986; Bandler & Depaulis, 1991). Nesse sentido, alguns dos principais modelos animais, por exemplo, os de ansiedade (Cruz, Zangrossi, Graeff & Landeira-Fernandez, 1997) e de depressão (Willner, 1984) foram desenvolvidos baseados nas semelhanças entre as características comportamentais e fisiológicas de espécies animais (Andreatini, Boerngen-Lacerda & Vital, 2006).

A pesquisa com esses modelos foi fortalecida pela compreensão de que a qualidade do ambiente no qual o sujeito está inserido é de especial importância para um desenvolvimento pleno das estruturas e funções cerebrais (Kolb & Whishaw, 1998; Oliveira, Salina & Annunziato, 2001). Dessa forma, essa relação bidirecional

que se estabelece entre o organismo e seu ambiente é suficiente para explicar as alterações de respostas emocionais vistas em alguns comportamentos humanos e reproduzidas em diferentes modelos animais experimentais.

### Modelos Animais

A despeito das limitações em relação aos aspectos subjetivos das emoções, os modelos animais têm contribuído fortemente para o desenvolvimento da neurociência. Esse aporte pode ser atribuído não só pela replicabilidade de alguns fenômenos e pela possibilidade da investigação farmacológicas, mas, especialmente, pelo auxílio na elucidação dos mecanismos neurobiológicos e de padrões comportamentais emergentes na ocorrência de determinadas emoções. Assim, a pesquisa realizada através do uso de modelos animais, apesar de suas limitações, “permite o estudo da contribuição de um fator em determinado transtorno mental, controlando-se as outras variáveis” (Andreatini, 2002, p. 164).

Segundo McKinney Junior (2000), além do controle das variáveis, o uso de modelos animais permite também a avaliação do estudo da interação entre essas múltiplas variáveis. Isso porque, nesse processo empírico, esses modelos estão baseados na observação de comportamentos dos animais (Guimarães, 1993), mesmo com a introdução de técnicas avançadas e metodologias modernas como a genética e a biologia celular (Andreatini e cols., 2006).

Corroborando essa perspectiva de que os modelos animais são ferramentas fundamentais para as pesquisas, mas passíveis de diversos equívocos, Silva, Guerra e Alves (2005) afirmam que as dificuldades com os modelos surgem quando “o

fenômeno modelado é um nome que designa um conjunto complexo de comportamentos, muitas vezes mal definido ou multidefinido” (p. 129). Dessa forma, apenas se almeja que os modelos englobem variáveis relevantes aos problemas de saúde mental (Skinner, 1972/1999). Nesse sentido, o modelo animal, diferentemente do teste, deve possibilitar a emergência de comportamentos dos animais que guardem similaridade com os padrões humanos emocionais ou psicopatológicos. Por outro lado, os testes animais se refeririam a contingências de replicação dos fenômenos psicopatológicos através do uso de fármacos (Andreatini e cols., 2006).

Portanto, há que se considerar que jamais será possível reproduzir fielmente o fenômeno psicológico através do uso de modelos animais. A despeito disso, essa aproximação é importante para o estudo de diferentes facetas das respostas emocionais, especialmente de ansiedade e depressão. Os modelos animais são problemáticos em função de suas limitações na reprodução dos padrões comportamentais e subjetivos humanos, mas têm se mostrado fundamentais na investigação de determinadas respostas emocionais, especialmente nas investigações que pressupõe variáveis que não podem contar com manipulação em humanos. No entanto, qualquer que seja o modelo animal, deve-se considerar a validade da replicabilidade do fenômeno investigado. Assim, para que se estabeleça cada modelo animal é preciso que sejam avaliados os critérios de fidedignidade, que diz respeito à consistência e estabilidade da variável observada, e da validade de cada equipamento. Ressalta-se que a validade dos modelos animais tem sido um dos critérios mais investigados na utilização de tais modelos (Geyer & Markou, 2000) e, por isso, será tratado separadamente nesse trabalho.

### Validade dos modelos animais

A validade do uso de modelos animais tem sido discutida a partir de diferentes perspectivas experimentais (Willner, 1984). No entanto, os critérios adaptados da clínica para replicação dos fenômenos em ambientes controlados têm sido os mais significativos (Andreatini e cols., 2006). Desse modo, os modelos animais pressupõem, especialmente, os critérios mínimos de previsibilidade, semelhança e homologia do fenômeno (Willner, 1984).

A validade preditiva (de previsibilidade) corresponde à capacidade do modelo animal de possibilitar a previsão de algum fenômeno ou variável de interesse do pesquisador, a partir dos dados obtidos. Em estudos de farmacologia comportamental, por exemplo, a previsibilidade pode dizer respeito ao estabelecimento de uma correlação farmacológica entre os efeitos de uma mesma substância administrada em humanos e no modelo animal, garantindo a possibilidade de investigação de novas drogas (Treit, 1985).

Além do critério de previsibilidade, o modelo animal também deve apresentar certo grau de semelhança com o fenômeno estudado e o observado em humanos. Por exemplo, um comportamento definido operacionalmente como ansiedade ou depressão em um dado modelo animal deve apresentar certo grau de similaridade fenomenológica com os sinais ou sintomas desses estados emocionais em humanos. Finalmente, o modelo animal deve atender ao critério de homologia, demonstrando validade teórica de tal forma que a mesma teoria que explica o papel desempenhado pelas variáveis interferentes nas reações comportamentais e neurobiológicas de

determinadas emoções em humanos deverá ser reproduzida também para os animais expostos aos modelos e vice-versa (Treit, 1985, Cruz e cols., 1997; Graeff, 1999).

Assim, existem diversos critérios para a validação de um modelo animal que devem ser considerados para que se possa, minimamente, extrapolar os limites de comparação de determinados fenômenos em animais e em humanos. Estes devem atender às variáveis em ação: variável dependente e independente. Os critérios da variável dependente são: constructo, convergência, discriminante e analogia. Já os critérios da variável independente são: analogia, etiologia e validade de constructo (Geyer & Markou, 2000). Há que se ressaltar que os critérios mais almejados e alcançados são os de previsibilidade, a semelhança ou homologia (Willner, 1984, Treit, 1985, Graeff, 1989, Lister, 1990, Treit, 1991, Willner, 1991, Rodgers & Cole, 1994, Blanchard, Griebel & Blanchard, 2001, Ohl, 2003, Zangrossi & Graeff, 2004).

A confiabilidade de cada modelo dependerá, então, da possibilidade de satisfação destes critérios. Destarte, uma opção adequada na investigação de emoções ou psicopatologias diferenciadas é limitar a proposta de cada modelo animal de tal forma que se possa ampliar sua confiabilidade (Andreatini e cols., 2006).

Vale lembrar que nenhum modelo será capaz de satisfazer a todos os critérios; porém, devem-se considerar cinco etapas principais para a validação de cada modelo: habilidade de manipular as variáveis; habilidade de medição da variável dependente; pouca variabilidade intra-sujeitos da variável dependente; pouca variabilidade entre-sujeitos da variável dependente; replicabilidade do fenômeno e reprodutibilidade dos efeitos das manipulações (Geyer & Markou, 2000). No entanto, além desses critérios mínimos para o estabelecimento de um

modelo animal confiável para fins de pesquisa, uma das principais limitações do planejamento e validação de modelos, bem como, de suas categorizações, passará também pela complexidade dos sintomas das diferentes emoções e das constantes modificações sintomatológicas, tendo em vista a dinâmica das intercorrências humanas (seja por acometimento externo ou interno).

Portanto, mesmo tendo sido designados para verificar efeitos de intervenções ambientais ou medicamentosas, os modelos animais não possibilitam a observação de efeitos de outros processos terapêuticos mais abstrusos, bem como não conseguem compreender todos os sintomas de algumas emoções ou transtornos psicopatológicos. Isso significa que, em função da complexidade e da natureza do diagnóstico de diferentes categorias psiquiátricas, o uso de modelos animais apenas possibilita a mimetização de um sinal ou sintoma específico que esteja associado à emoção ou psicopatologia em si (Silva e cols., 2005).

Obviamente, o uso desses instrumentos facilita as pesquisas básicas, pois proporcionam maior qualidade no controle de variáveis. No entanto, a despeito de reproduzirem bem alguns sintomas, dificilmente um modelo poderá ser validado em todos os critérios necessários para a criação de um modelo não-humano que possa replicar exatamente a contingência disposta para diferentes emoções ou sofrimentos psicopatológicos humanos.

Dessa forma, para que haja criação e validação de diferentes modelos animais devem ser considerados aspectos diferenciados em função dos objetivos propostos. Afinal de contas, o fim explícito do uso desses modelos é justamente a possibilidade de poder prever a eficácia de intervenções. Esse fator, tão relevante para a formalização de um modelo que possa mimetizar uma situação específica, trazendo à

tona comportamentos de animais que possam ser semelhantes a algum sintoma de uma complexa resposta emocional humana, torna evidente a bidirecionalidade entre organismo e ambiente (Cruz & Landeira-Fernandez, 2007). Isso significa dizer que, além de produtos genéticos, os animais (especialmente os seres humanos) são também produto de seus insumos ambientais. Assim, é causa e consequência de suas experiências vividas de tal sorte que acaba por modificar constantemente seu estado fisiológico e seu comportamento, tornando qualquer fenômeno de sua vivência um produto dinâmico e instável.

Sendo assim, é preciso compreender que, mais do que a confiabilidade do modelo em questão, o pesquisador deverá estar atento, principalmente, ao fato de que a pesquisa tem propósito em si mesma; o que significa dizer que a pesquisa vale pela própria pesquisa e não necessariamente na quantidade ou qualidade de extrapolações entre espécies que poderão ser realizadas. Ressalta-se que o uso de animais para as pesquisas, além dos cuidados éticos, requer também a probabilidade de obtenção de dados para investigar fenômenos da existência (frequentemente, no sentido de melhorar a qualidade de vida das pessoas).

Todavia, nem sempre o modelo poderá apresentar boa resposta de previsibilidade, homologia ou analogia de determinados sintomas e/ou tratamentos viáveis (Ramos, Pereira, Martins, Wehrmeister & Izídio, 2008). Com isso, fica evidente que não se trata apenas de desenvolver um bom modelo animal para investigação das variáveis, mas também de estar ciente de que toda investigação está passível de equívocos ou extrapolações para além das observações possíveis. Assim, como afirmou Paul Willner, que vem trabalhando com modelos animais desde a década de 1980, a extensão que se pode fazer entre um modelo e uma ocorrência

psicopatológica humana dependerá do critério de limitação entre humano e não-humano. Destaca-se que, mesmo os modelos que foram desenvolvidos baseados em questões etológicas, também possuem limitações e experimentos que indicam respostas opostas (por exemplo, ora com efeitos mais ansiogênicos sobre o comportamento dos animais, ora mais ansiolíticos e ora sem qualquer resposta diferenciada).

A análise etológica do comportamento animal leva em consideração os diversos padrões comportamentais característicos de cada espécie, notadamente frente às situações de sobrevivência. Tratam-se de respostas emergidas em ambientes naturais, selecionadas por processos filogenéticos e ontogenéticos (Dourish e cols., 1995). Assim, dentro da perspectiva de investigação de diferentes padrões comportamentais e de repostas subjetivas manifestas em diversas emoções, os modelos animais que possibilitam a avaliação etológica, de respostas filogenéticas, apresentam como vantagem a desobrigação de um condicionamento qualquer ou de indução de comportamentos artificiais. Corroborando essa ideia, modelos que manipulam diretamente respostas de defesa filogeneticamente preparadas passaram a integrar, como uma boa opção de adequação de equipamentos, a investigação de emoções básicas como medo e ansiedade (Cruz, Frei & Graeff, 1994; Geyer & Markou, 2000, Ramos e cols., 2008).

Nesse sentido, a exposição ao modelo que não exige do animal uma tarefa complexa ou aprendizagem prévia parece ser mais adequada ao estudo de intervenções ansiolíticas, uma vez que o efeito de drogas dessa classe, por exemplo, parece não se sobrepor aos seus eventuais efeitos em outros mecanismos

psicobiológicos, como memória, dor, atenção etc. (Cruz e cols., 1997, Rodgers, Cao, Dalvi & Holmes, 1997).

Destarte, os substratos neurais das reações inatas de medo relacionam-se mais diretamente aos mecanismos de ansiedade do que aqueles envolvidos nos modelos associativos de ansiedade (Alves, 2005). Assim, nos modelos etológicos, os animais respondem aos estímulos indutores do estado de ansiedade que fazem parte da etologia da espécie; ao contrário do comportamento de defesa gerado por estímulos arbitrários – condicionados – anteriormente neutros para o animal (pareados a estímulos aversivos). Nesses modelos etologicamente consolidados o comportamento de esquiva é eliciado por situações naturalísticas que sinalizam um perigo em potencial, bem como, um estímulo que sinalize a presença de eventual predador (Treit, 1985; Blanchard & Blanchard, 1988; Lister, 1990; Blanchard, Yudko, Rodgers & Blanchard, 1993; Cruz, Zangrossi & Graeff, 1995; Bourin, 1997; Cruz e cols., 1997; Martin, 1998, Fendt & Fanselow, 1999).

Portanto, modelos etológicos de ansiedade, desenvolvidos para roedores, têm sido amplamente utilizados para a investigação de comportamentos respondentes diante de intervenções ansiolíticas e ansiogênicas, bem como para o estudo sobre a participação de estruturas neurais na ansiedade.

### Modelos animais de ansiedade

Muitos modelos animais utilizados atualmente tiveram como perspectiva básica o conceito de ansiedade como fenômeno unitário. Apesar das inúmeras definições propostas para a ansiedade, entende-se, de uma forma geral, que se trata

de um “medo desproporcionalmente intenso não associado a um risco genuíno”, ou seja, a presença real do estímulo aversivo (Millan, 2003, p. 83). Segundo Blanchard, Blanchard, Griebel e Nutt (2008), o medo é a motivação associada a uma série de comportamentos que ocorrem, normalmente, na presença de um estímulo ameaçador. Já a ansiedade é a motivação associada ao comportamento que ocorre frente a um estímulo potencial ou dúbio de ameaça (Belzung & Griebel, 2001).

De fato, a distinção entre medo e ansiedade não é uma tarefa simples, pois ambas são reações complexas a situações específicas. Há que se considerar que ambas, ansiedade e medo, são emoções que são comumente medidas a partir da intensidade e da duração dos comportamentos aos quais estão associadas (tais como alterações neurovegetativas – palpitações, boca seca, taquicardia, alteração da respiração, vasoconstrição periférica, dilatação de pupila, além de padrões comportamentais espécie-específicos – congelamento, avaliação de risco dentre outras) (Graeff, 1989, Dractu & Lader, 1993, Zangrossi & Graeff, 2004). Ademais, essas medidas podem ser avaliadas pela capacidade de serem associadas ou condicionadas a algum outro estímulo que pode sinalizar esse perigo. Apesar de semelhantes, há que lembrar que as expressões comportamentais de respostas de medo e de ansiedade, especialmente de transtornos de ansiedade, são muito variadas. Vale ressaltar, ainda, que a ansiedade patológica (cerne dos transtornos de ansiedade) é uma das principais chaves dos distúrbios emocionais da humanidade. Assim como a depressão, o transtorno de ansiedade é uma das comorbidades mais frequentes (Landeira-Fernandez, Cruz & Brandão, 2006; Schmidt & Müller, 2006).

Sendo assim, a multiplicidade de fatores que contribuem para a qualidade de ameaça do estímulo que elicia medo e ansiedade levou a um paralelo de variações

entre o estímulo utilizado e o próprio modelo animal de ansiedade. Desse modo, as respostas de ansiedade podem resultar de fontes ambientais que representam sinais ameaçadores ou de padrões de resposta aprendida estabelecida por situações aversivas prévias (Cruz & Landeira-Fernandez, 2001). Portanto, o conceito de modelos animais aplicado aos de ansiedade tem pelo menos duas principais fontes: primeiro o desejo de compreender o processo emocional básico e segundo para avaliar os efeitos farmacológicos e de outros tratamentos possíveis para transtornos de ansiedade de um modo geral ou, até mesmo, para categorias específicas do transtorno de ansiedade (Blanchard e cols., 2008).

Seguindo os critérios de validação, os modelos animais de ansiedade têm sido utilizados especialmente com os seguintes propósitos: 1) screening de drogas, que seria a seleção de drogas potencialmente ansiolíticas para o tratamento farmacológico dos transtornos de ansiedade; 2) investigação dos mecanismos neurais relacionados à ansiedade (Treit, 1985, Lister, 1990, Koob, Hinrichs & Britton, 1998); 3) testar e/ou embasar teorias psicobiológicas da ansiedade.

Os primeiros modelos animais de ansiedade foram influenciados pelo arcabouço teórico da psicologia experimental (especialmente a análise experimental do comportamento). Estes modelos se basearam na inibição comportamental induzida por estímulos condicionados, associados previamente a choques inescapáveis ou na supressão, também induzidas por choques, de comportamentos motivados por recompensa (Zangrossi & Graeff, 2004, Silva e cols., 2005). Os comportamentos dos animais foram observados, também, a partir da utilização de outros estímulos aversivos, como por exemplo, a exposição do animal a ambientes potencialmente perigosos, predadores ou estímulos associados a esses, bem como

pelo confronto com animais da mesma espécie (Cruz e cols., 1994; Cruz e cols., 1997, Ohl, 2003).

Os resultados das análises farmacológicas empreendidas indicaram que modelos de conflito tinham maior valor preditivo que os de supressão condicionada (Zangrossi & Graeff, 2004). Contudo, esses testes de conflito foram pouco eficazes para detectar os efeitos ansiolíticos de drogas que atuam primariamente sobre a neurotransmissão serotoninérgica. Com isso, fez-se urgente o desenvolvimento de modelos animais de ansiedade que tivessem a premissa fundamentada etologicamente, conforme apontado anteriormente. Para roedores são eles: os testes de transição claro-escuro, vocalização ultra-sônica, aversão condicionada de sabores, ocultação defensiva, interação social, interação presa-predador, odor de gato (para ratos) e o Labirinto em Cruz Elevado (LCE).

Dentre esses modelos, o LCE destacou-se muito rapidamente na literatura, sendo um dos mais utilizados atualmente para avaliação de respostas de ansiedade e o teste de drogas ansiolíticas. Além desses, outros modelos pretendem auxiliar nas medidas comportamentais de ansiedade na identificação de mais índices, além dos convencionais de comportamento de defesa. Alguns padrões de comportamento de avaliação de risco (risk assessment), tais como o comportamento de espreitar, têm se mostrado mais sensíveis do que as categorias tradicionais de avaliação de exploração de modelos (como as medidas de tempo e frequência de entradas em áreas dos equipamentos), como, por exemplo, no LCE (Rodgers & Cole, 1994; Cao & Rodgers, 1997; Griebel, Rodgers, Perrault & Sanger, 1997). Nessa linha de investigação, Cruz e cols. (1994), utilizando uma análise etofarmacológica do comportamento de ratos no LCE, categorizaram outras medidas etológicas de

comportamentos (como, por exemplo, o esquadrinhar, o espreitar e a exploração da extremidade) que eram alteradas em sentidos opostos por drogas ansiolíticas (nitrazepam e midazolam) e ansiogênicas (pentilenotetrazol e FG 7142). Tais categorias etológicas, que apresentavam pesos significativos no fator relacionado à ansiedade, foram avaliadas a partir de uma análise fatorial.

Ramos e colaboradores (2008) também trabalharam com a interação de modelos animais de ansiedade, campo aberto, caixa de transição claro-escuro e LCE, para detectarem outros padrões de comportamento (tais como as alterações do nível de exploração de cada um dos modelos), bem como para identificarem novos fatores de medição. Assim, diversos estudos passaram a utilizar, além das medidas clássicas, também as denominadas medidas etológicas para mensurar comportamentos de defesa ou de avaliação de risco (que estão correlacionados com a ansiedade) e diferentes modelos animais (uma sequência de modelos que possam identificar fatores comuns) (Ramos, Berton, Mormede & Chaouloff, 1997; Rodgers e cols., 1995; Blizard, Takahashi, Galsworthy, Martin & Koide, 2007). Isso porque ainda não existem modelos únicos nos quais o(s) comportamento(s) do animal pode(m) ser contaminado(s) por outros fatores, a despeito de uma motivação principal. Segundo Dourish e colaboradores (1995) seria um equívoco ingênuo predizer o potencial de efeito ansiolítico de uma droga em humanos apenas com base nos resultados de um único modelo animal.

Nota-se que drogas antidepressivas têm sido largamente utilizadas, clinicamente e experimentalmente, para o tratamento de transtornos de ansiedade (Andreatini & Bacellar, 1999; Teixeira, Zangrossi & Graeff, 2000). Com isso, a melhor opção para avaliar a ansiedade, por exemplo, seria, então, o uso de mais

modelos animais que permitissem a avaliação de pelo menos um comportamento (como o modelo do LCE) associado ao uso de outro modelo que possibilitasse a avaliação de possíveis variáveis intervenientes ou comportamentos típicos de outras emoções, como, por exemplo, o teste do nado forçado (TNF). Nesse caso, o TNF, modelo desenvolvido por Porsolt, Le Pichon e Jalfre (1977) investiga a resposta do animal frente a uma situação aversiva inescapável de desespero comportamental que induz o desamparo apreendido e, por isso, é utilizado como modelo para depressão. De tal modo, desde as primeiras proposições de modelos animais, como, por exemplo, o modelo do campo aberto ou “arena” de Hall, desenvolvida em 1934, a principal consideração se restringia a abordagem unidimensional, a despeito da já conhecida multidimensionalidade da emocionalidade da ansiedade e do estresse (Landeira-Fernandez e cols., 2006).

### Modelo animal de depressão

Assim como os modelos de ansiedade, os modelos animais de depressão são subsidiados por procedimentos capazes de predizer o efeito clínico de respostas depressivas e das drogas antidepressivas. Willner (1984), realizando uma revisão sobre os modelos animais de depressão, afirmou que, até então, relativamente poucos procedimentos comportamentais haviam sido investigados como potenciais modelos animais deste distúrbio. Conseqüentemente, muitos dos modelos em uso atualmente foram baseados em interações farmacológicas entre antidepressivos e outras drogas.

Atualmente, considera-se que os sintomas relacionados com a depressão podem ser traduzidos por respostas a contextos aversivos, tal como a imobilidade de

animais de laboratório frente a situações inescapáveis, como no teste do nado forçado (Willner, 1991). Este teste é considerado como um modelo de desespero comportamental de roedores e está baseado em um trabalho de Porsolt e colaboradores de 1977. Corroborando com este modelo, alguns estudos com medicamentos como a fluoxetina, venlafaxina e desipramina têm se mostrado eficientes para diminuir a imobilidade e aumentar a prevalência de comportamento ativo (de nado) neste modelo. A diminuição do tempo de imobilidade de animais neste modelo está altamente correlacionada com o potencial e eficácia destes medicamentos na clínica.

O teste do nado forçado está inserido dentro dos modelos animais de depressão que possuem validade por homologia. Neste sentido, então, o teste do nado forçado preenche os requisitos de que os mesmos processos psicobiológicos responsáveis pela etiologia e fisiopatologia dos sintomas clínicos da depressão estão atuando sobre modelo (Willner, 1984, Weiss & Kilts, 1998, Graeff & Brandão, 1999). Desta forma, o animal, para satisfazer o critério de homologia, deve manifestar pelo menos uma resposta particular que se assemelhe às observadas na clínica com pacientes depressivos; como a desistência do animal no NF.

A respeito do desamparo aprendido, Willner (1984) afirmou que a exposição ao estresse incontrolável produz déficits de performance nas subsequentes tarefas de aprendizado que não são vistas nos sujeitos expostos ao idêntico estressor, mas capaz de controlá-lo. Assim, a construção da validade do modelo de depressão de desamparo aprendido tem três suposições: que animais expostos a eventos aversivos incontroláveis se tornam desamparados, que um estado similar é induzido em pessoas por incontrolabilidade e que o desamparo, em pessoas, é o sintoma central da

depressão. Neste sentido, o teste do nado forçado, apesar de ser considerado como modelo de desespero comportamental, aproxima-se desta construção, pois também envolve um procedimento de estresse (ou de ambiente aversivo) incontrolável e inescapável. Então, este modelo caracteriza sintomas da depressão, no sentido de que a imobilidade se aproxima da incapacidade de pacientes deprimidos de realizarem atividades cotidianas, ou, até mesmo, de manterem um certo nível de atividade.

Porsolt, Le Pichon e Jalfre (1978) publicaram um trabalho sobre o teste do nado forçado, justificando sua proposta como uma resposta à falta de modelos animais de depressão que sejam semelhantes à depressão e que sejam seletivamente sensíveis a medicamentos efetivos da clínica. Desta forma, o autor considerou que a falta de modelos animais de depressão sensíveis a estas condições era a maior causa da dificuldade de se estudar drogas antidepressivas. O teste do nado forçado é, então, uma proposta de modelo que tenta atender a estes dois requisitos: apresentar semelhança a sintomas de pacientes deprimidos e ser seletivamente sensível a medicamentos antidepressivos.

O método utilizado é baseado na observação de um rato que, quando forçado a nadar em uma situação inescapável, irá, após um período de comportamento ativo, cessar o movimento de nado, mantendo-se somente flutuando ou realizando pequenos movimentos que garantem apenas que seu focinho estará fora da água. Este tipo de comportamento (a imobilidade) foi interpretado pelos autores do modelo como um estado de desespero no qual o rato “aprendeu” que aquela situação é inescapável. Assim, com a redução ou o aumento do tempo de imobilidade após um tratamento, por exemplo, farmacológico se tornou uma boa estratégia para o estudo de algumas intervenções.

Nos anos seguintes ao desenvolvimento do modelo, vários trabalhos foram publicados utilizando o teste do nado forçado. Porsolt e cols. (1978) e Porsolt, Bertin, Blavet, Deniel e Jalfre (1979) escreveram artigos apresentando diferenças entre drogas e linhagens de animais submetidos ao modelo. Estes trabalhos foram de extrema importância para as replicações do modelo, porque além de validar o modelo do nado forçado com ratos e camundongos, os autores realizaram o teste com diferentes linhagens de ambas espécies, bem como com diferentes drogas (de ansiolíticos a estimulantes). Outros trabalhos que pressupunham a interação da depressão com a ansiedade, demonstram que os inibidores de recaptção serotoninérgicos não são eficazes na redução do tempo de imobilidade de animais no teste do nado forçado (Porsolt & Lenegre, 1992).

Desde sua criação, as variáveis medidas no modelo têm sido alteradas de tal forma a se tornar cada vez mais sensível às manipulações experimentais (Cryan & Lucki, 2000). A exemplo disso, o trabalho de Mercier e colaboradores (2003) contou com a exposição única de ratos ao modelo do nado forçado por 20 minutos. Uma outra alteração do modelo foi a da temperatura da água que, originalmente está descrita para variar apenas 1° C em torno de 25° C, e, no experimento citado, foi colocada a 36° C. O grupo controle foi colocado no tanque sem água, para que se evitasse a exposição ao fator estressante. O experimento demonstrou que a exposição a um estressor causa mudanças nos comportamentos dos animais que podem ser observadas 24 horas após a exposição. Além disso, foi visto que a magnitude destas alterações comportamentais depende do estressor ao qual o sujeito foi exposto.

Por fim, alguns estudos correlacionam o nado forçado com outros modelos (Andreatini & Bacellar, 1999, Hoa, Pawlak, Guob & Schwarting, 2003). A interação,

por exemplo, de um modelo animal de ansiedade (labirinto em cruz elevado) e o nado forçado (modelo animal de depressão) demonstrou que as medidas obtidas a partir do comportamento dos animais nos modelos podem ser alteradas. Neste sentido, Andreatini e Bacellar (1999) investigaram ambos os modelos para discutirem se a interação entre os modelos poderia ou não influenciar na medida final de cada sintoma reproduzido. Os autores verificaram, então, que há influência da ordem dos modelos aos quais os animais são submetidos nos resultados, como, por exemplo, o aumento do tempo de permanência de camundongos nos braços fechados e a diminuição de entradas nos braços abertos, quando estes animais haviam passado, previamente, pelo modelo nado forçado. Contudo, Andreatini e Bacellar (1999) argumentam que a recíproca não é verdadeira, ou seja, animais submetidos ao modelo de ansiedade em questão, anteriormente, não apresentavam alteração em relação aos seus comportamentos quando submetidos ao modelo de depressão. Esse achado corrobora a proposta de interação entre modelos animais que pressupõe a exposição ao modelo de menor aversividade para o de maior simulação de situação aversiva (Ramos e cols., 2008).

De uma maneira geral, o teste do nado forçado, desenvolvido por Porsolt e colaboradores (1977), vem sendo amplamente utilizado na seleção de drogas com potencial antidepressivo, talvez porque seja fácil de replicar e de detectar os efeitos destas drogas. Apesar de ser um modelo classificado como modelo de desespero comportamental, poucas evidências apontam para um comportamento que poderia ser denominado de “desespero”. Talvez, este comportamento esteja sendo confundido com o nado (Porsolt e cols., 1977, Porsolt e cols., 1978, Porsolt e cols., 1979) ou com outros comportamentos (como, por exemplo, o mergulho e a escalada

da parece do cilindro) que vem sendo classificados no teste do nado forçado (Brotto, Barr & Gorzalka, 2000, Cryan & Lucki 2000).

Este modelo animal de depressão vêm sendo apresentado das mais variadas formas, como por exemplo, no dia do teste, alguns autores ao invés de 5 minutos, expõem os sujeitos por 10 minutos (Hill, Brotto, Lee & Gorzalka, 2003). Outros consideram além do tempo de imobilidade, também o tempo de nado em ambos os dias (Brotto e cols., 2000; Hill e cols., 2003). E, além disto, nenhum artigo, dos considerados neste trabalho, a não ser os do próprio Porsolt, seguiu as especificações do cilindro de acrílico designado pelo modelo original (40 cm de altura e 18 cm de diâmetro), talvez pelo peso dos animais utilizados, que no artigo original foram ratos machos Sprague-Dawley (160 - 180 gramas). Na verdade, os outros trabalhos ou utilizaram cilindro de acrílico maior (Deckte, Wieland & Lucki, 1995, Hill e cols., 2003), ou cilindro de vidro (Andreatini & Bacellar, 1999), ou, até mesmo, o que denominaram de tanque (Einat, Clenet, Shaldubina, Belmakar & Bourin, 2001, Mercier e cols., 2003).

Por fim, vale ressaltar, a importância deste modelo na investigação de comportamentos relacionados à depressão, tanto para intervenções farmacológicas, como para intervenções ambientais. Assim, alguns trabalhos apontam para a relevância de fatores como: a escolha do sujeito, que deve estar de acordo com o modelo (Porsolt e cols., 1978), e a interação com outros modelos animais, devidamente observada, com antecipação, para evitar interferência de um modelo sobre o outro (Andreatini & Bacellar, 1999). Os modelos que pressupõe o estabelecimento do desamparo apreendido implicam, necessariamente, em um processo de aprendizagem. E tal qual em modelos de condicionamento aversivo para

avaliação de respostas de ansiedade, os modelos de depressão também sofrem influência de respostas de outras funções, como, por exemplo, a memória e o reconhecimento do ambiente (Andreatini e cols., 2006). Desse modo, para que haja o estabelecimento de aprendizagem no modelo do NF e a emergência de respostas do desamparo aprendido, pressupõe-se o uso de outros processos básicos dos animais, tais como funções cognitivas de reconhecimento (Ennaceur, 2010).

### Modelo animal de reconhecimento

Da mesma forma que as pesquisas sobre a ansiedade e a depressão, as investigações a respeito da memória tem crescido especialmente em função da ocorrência de doenças neurodegenerativas (Staay, 2006). O estudo da memória tem sido alvo de muitos pesquisadores na busca da explicação mais adequada para os processos de memória (Baxter & Byrne, 2006). Nesse sentido as pesquisas na área da neurociência tem investido no desenvolvimento de modelos animais que possam avaliar fatores cognitivos, como, por exemplo, a identificação de objetos/ambientes novos ou familiares, não só para o estudo dos processos de memória, mas principalmente para distinguir possíveis variáveis intervenientes (relativas às respostas de reconhecimento/memória ou de locomoção) que podem ser confundidas com comportamentos de determinadas emoções (tais como as respostas de inibição comportamental da ansiedade ou de desistência/imobilidade da depressão).

O procedimento de avaliação da memória e do reconhecimento só pode ser estabelecido porque animais expostos a objetos novos e objetos familiares tendem a preferir a exploração dos objetos novos frente aos já conhecidos (Ennaceur,

Michalikova & Chazot, 2006). Obviamente, esse experimento será variável em função do tipo de objeto e da espécie estudada. Para tanto, diversos trabalhos têm sido realizados com a utilização dessa proposta adequada a outros modelos, como, por exemplo, para ratos, o campo aberto (Hoplight, Vincow & Neumaier, 2005; Dias, Bevilaqua, Silveira, Landeira-Fernandez, & Gardino, 2009). As críticas a esse modelo estão justamente focadas nos processamentos de memória; pois, se a medição do modelo é realizada justamente a partir da capacidade do animal de avaliar e comparar os objetos, o treino e o tempo entre a pré-exposição e o teste no modelo serão fundamentais para a emergência do comportamento exploratório sobre o objeto novo (Ennaceur, 2010).

Diversas tentativas de desenvolver a avaliação da capacidade dos animais de reconhecerem ambientes e objetos novos frente a outros já conhecidos têm sido realizadas para minimizar possíveis variáveis intervenientes em modelos animais com diferentes pressupostos (Ennaceur e cols., 2006). A situação nova pode ser ansiogênica e inibir o comportamento exploratório do animal (Gray, 1982), tal como ocorre no modelo animal de transição claro-escuro (Zangrossi & Graeff, 2004).

Dessa forma, enquanto novos modelos animais de identificação de padrões cognitivos não são desenvolvidos, o modelo de reconhecimento de uma exposição seguida de outra com a apresentação de um objeto inusitado tem se mostrado uma boa forma de avaliar alguns padrões exploratórios e cognitivos dos animais.

Assim, além do uso de um modelo para avaliar respostas relacionadas à emoção alvo, tem-se estabelecido o estudo comparativo entre diferentes modelos para teste de determinadas intervenções, especialmente o testes de ansiedade com drogas que apresentam resultados contraditórios (File & Andrews, 1991; Barret &

Vanover, 1993; Handley & McBlane, 1993). Tais diferenças corroboram a ideia de que qualquer modelo pode apresentar a capacidade de avaliar apenas uma faceta da emoção ou transtorno psíquico. O esclarecimento de tal questão pode ser feito de diversas formas: utilizando-se mais de um modelo animal para avaliar diferentes comportamentos, o uso de animais geneticamente alterados, ampliação das drogas administradas e controle positivo, e/ou avaliação das medidas a partir da análise estatística multivariada, por exemplo, a análise fatorial (Boergen-Lacerda & Souza-Formigoni, 2000). Esse tipo de análise estatística prevê a combinação entre os índices dos modelos de tal forma que a relação entre os fatores indicará diferentes padrões de comportamentos dos modelos que se referem a diferentes dimensões de uma mesma emocionalidade, tal como a ansiedade, a depressão ou o reconhecimento.

### Análise fatorial

Para avaliar um conjunto de variáveis manifestas frente a um número inferior de variáveis latentes, o pesquisador deverá lançar mão de uma análise fatorial. Essa ferramenta estatística é uma das técnicas mais utilizadas para casos de análises multivariadas. Isso significa que, para comparar diferentes comportamentos verificados em variados modelos, a covariação entre essas medidas poderá ser avaliada de tal forma a sugerir a semelhança e apontar as diferenças entre os padrões observados (Kerlinger, 1980).

Isso porque a análise fatorial é uma das técnicas estatísticas que permite, através da avaliação das relações entre múltiplas variáveis, uma redução do número

de variáveis e a detecção das estruturas entre essas variáveis. Desse modo, a função principal dessa ferramenta é a definição da estrutura subjacente em uma matriz de dados (Hair, Anderson, Tatham & Black, 2005). A análise fatorial, então, torna possível a análise das correlações entre um grande número de variáveis, estabelecendo um conjunto de dimensões latentes semelhantes denominados de fatores.

As aglomerações dos itens comuns, cuja variância explicada deverá estar acima da raiz latente 1, indica a formação de cada fator. Ao reduzir o número de variáveis, baseada na covariância dos itens, essa análise permite não só a detecção de alta correlação entre as medidas obtidas, mas possibilita a substituição desses itens por apenas um deles (Andreatini e cols., 2006). Com isso, comportamentos determinados por um fator podem ser medidos por apenas um item de carga fatorial alta. A análise fatorial permite ainda, quando identificadas estruturas nas relações entre as variáveis observadas, a identificação de fatores que representam o agrupamento das variáveis que se correlacionam.

Dessa forma, as técnicas de análise fatorial possibilitam a identificação de regularidades entre duas ou mais variáveis e testam modelos alternativos de associação entre elas. Essa técnica pressupõe a possibilidade de determinar a natureza e o grau de associação entre um conjunto de variáveis dependentes e um conjunto de variáveis independentes, além de gerar uma possível função de avaliação das variáveis dependentes a partir das independentes e de estabelecer significância estatística associada entre essas relações (Kerlinger, 1986). Nesse sentido, a análise fatorial utiliza-se de dois princípios: resumir os dados o que significa possibilitar a

interpretação e compreensão dos dados através de um número menor de conceitos do que as variáveis individuais de origem (Campbell & Fiske, 1959).

Para interpretar os fatores obtidos através da variância dos itens observados, utiliza-se a rotação fatorial. Nessa análise os “eixos de referencia dos fatores são rotacionados em torno da origem até que alguma outra posição seja alcançada.” (Hair e cols., 2005, p. 103). O produto final desse tratamento rotacional da matriz fatorial é a redistribuição das variâncias dos fatores de modo a obter um padrão fatorial mais simples de variância dos primeiros para os últimos fatores.

Uma das rotações mais comuns é a ortogonal, pois se trata de uma rotação oblíqua onde os eixos são fixados em 90 graus. Esse método rotacional serve para facilitar a interpretação, simplificando as linhas e colunas de matrizes dos dados. A exemplo desse tipo de rotação ortogonal existe o critério Varimax que simplifica as colunas da matriz fatorial aproximando as cargas fatoriais de  $\pm 1$ , maximizando, assim, a soma de variância de cargas exigidas, fornecendo uma separação mais clara entre os fatores (Hair e cols., 2005).

Como produto final da rotação ortogonal, emergirá a matriz fatorial com a disposição das cargas de cada medida dentro de cada fator. Cada carga fatorial representa a correlação entre uma variável original e seu fator (Kerlinger, 1980). A interpretação da matriz é realizada a partir do primeiro fator emergido (da esquerda para a direita) e cada medida ou item de cada fator é avaliado em relação a sua significância. Em seguida, caberá ao pesquisador a nomeação dos fatores, determinando significado para o padrão de cargas fatoriais comuns. A análise fatorial, portanto, vai possibilitar a avaliação dos modelos animais a partir de inferências realizadas em função de medidas observadas que geraram um fator

específico. Ao fornecer o grau de previsibilidade do comportamento, essa técnica estatística pode e deve ser usada como ferramenta de investigação para estudos não conclusivos sobre determinadas emoções a partir da utilização de modelos animais. Quando esses modelos são utilizados separadamente pressupõem, muitas vezes, erroneamente, a categorização de certas medidas como respostas inatas ou condicionadas a situações específicas.

### Análise fatorial aplicada a modelos animais

Os modelos animais têm sido utilizados para o estudo de respostas comportamentais, intervenções farmacológicas, e a investigação da fisiologia e da neuroanatomia envolvidas nos diferentes processos emocionais ou psicopatológicos. Nesse sentido a técnica da análise fatorial surge como uma boa ferramenta de investigação desses processos em função de algumas razões fundamentais. Inicialmente, pode-se citar os estudos inconclusivos que indicam respostas diferentes para intervenções semelhantes em animais expostos a um mesmo modelo animal (e vice-versa). Ressalta-se também que o “desenho” experimental de procedimentos que pressupõem a utilização de diferentes modelos o fazem de forma separada, para avaliar medidas isoladas ou convergentes (Ramos e cols., 2008). E, principalmente, o fato de que poucos trabalhos na área têm se utilizado do mesmo animal para a exposição sucessiva aos modelos pré-determinados (Andreatini & Bacellar, 1999), impedindo a observação de variáveis comuns entre as medidas obtidas.

Para avaliar as medidas obtidas em cada modelo animal, diversas pesquisas têm se utilizado da análise fatorial para determinar comportamentos específicos de

certas emoções ou àqueles que dizem respeito a variáveis intervenientes (File, Zangrossi, Viana & Graeff, 1993; Cruz e cols., 1994; Albrechet-Souza, Carvalho, Franci & Brandão, 2007). Por outro lado, Torrejais, Rosa, Boergen-Lacerda e Andreatini (2008) utilizaram uma análise fatorial para averiguar fatores de interação entre os modelos do Labirinto em T Elevado (LTE) e o Campo Aberto (CA). Esses autores estavam interessados na medição e interpretação dos comportamentos emergidos no LTE e, para tanto, fizeram uso, também, de um outro modelo animal, que pressupunha medir comportamentos relacionados à ansiedade (o CA), para que fosse possível estabelecer um critério mínimo de comparação. Do mesmo modo, Ramos e cols. (2008) realizaram a análise estatística multivariada (análise fatorial varimax ortogonal) para investigar possíveis alterações nos padrões dos dados obtidos nos modelos animais Campo Aberto, Caixa de Transição Claro-escuro e Labirinto em Cruz Elevado, utilizados separadamente ou quando agrupados.

Esses estudos denotam a necessidade da utilização não mais de um modelo animal, mas da interação de diferentes modelos animais para análise dos fenômenos humanos. Dessa forma, este trabalho teve por objetivo analisar a estrutura fatorial emergida a partir de medidas do comportamento exploratório de ratos expostos a modelos animais de ansiedade, depressão e reconhecimento.

### Objetivos

O presente trabalho teve por objetivo analisar a estrutura fatorial do comportamento exploratório de animais expostos, sequencialmente, aos principais modelos de ansiedade e depressão. Os modelos animais escolhidos foram: modelo

de transição claro-escuro, labirinto em cruz elevado (LCE), labirinto em T elevado (LTE), condicionamento da resposta de congelamento (CRC), nado forçado (NF) e modelo de reconhecimento.

Os três primeiros (transição claro-escuro, LCE e LTE) são modelos baseados etologicamente para respostas de ansiedade. Desses, o LCE tem sido o modelo mais utilizado na investigação de comportamentos referentes às respostas de medo e ansiedade. Os modelos de transição claro-escuro e LTE são considerados dentro da categoria de testes de conflito aproximação-esquiva (Gray & McNaughton, 2000). Já o CRC foi escolhido por se basear em uma forma aprendida de medo e ansiedade, pois pressupõe condicionamento da resposta observada (estabelecido por exposição prévia a estímulo aversivo). O modelo do nado forçado (NF) foi escolhido por se tratar do modelo animal mais utilizado para o estudo das respostas emocionais relacionadas à depressão. Adicionalmente, foi introduzido um modelo de reconhecimento do objeto novo para que fossem avaliadas medidas que não correspondessem nem a respostas de ansiedade e nem de depressão. Ademais, o modelo de reconhecimento foi um bom parâmetro para avaliar medidas que correspondiam mais a questões relativas à memória do que às emoções avaliadas.

Considerando que o procedimento de alguns desses modelos (de reconhecimento, NF e CRC) exigia duas exposições consecutivas, o objetivo secundário desse trabalho foi analisar qual o padrão de distribuição fatorial de reteste dos modelos que pressupunham, classicamente, exposição única (LCE, LTE e transição claro-escuro).

## MÉTODO

### Sujeitos

Foram utilizados 60 *Rattus norvegicus*, da linhagem Wistar, machos e experimentalmente ingênuos, com pesos entre 200 e 280 g. Os animais foram provenientes da BIOAGRI e permaneceram no biotério do laboratório de Psicobiologia por, no mínimo, 7 dias antes do tratamento experimental. Os animais foram alojados em gaiolas-viveiro (45 x 28 x 13 cm) em grupos de 4 animais, sob um ciclo claro-escuro de 12h (com a fase clara de 7 às 19h) e em condições *ad libitum* de comida e água. Os experimentos foram realizados na fase clara do ciclo, entre 12 e 18h.

Os experimentos realizados estiveram em conformidade com as normas da Sociedade Brasileira de Neurociências e Comportamento (SBNeC), balizadas pelo *National Institutes of Health Guide for Care and Use of Laboratory Animals* (revisada em 1999), bem como seguem a um modelo-mãe aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa Animal da Universidade de Brasília.

### Equipamentos

Foram utilizados seis modelos animais: Modelo de Reconhecimento, Transição Claro-escuro, Labirinto em Cruz Elevado, Labirinto em T Elevado, Nado Forçado e Condicionamento da Resposta de Congelamento. Cada um dos modelos será descrito abaixo.

Modelo de Reconhecimento: o modelo de reconhecimento (modelo da novidade) ou de reconhecimento de situação/objeto novo seguiu especificações do

modelo original estabelecido inicialmente por Ennaceur e Delacour em 1988 (Ennaceur e cols., 2006; Ennaceur, 2010). Esse modelo foi adaptado dentro do modelo do Campo Aberto (uma arena composta por uma base tracejada e um cilindro de acrílico de 60 cm de diâmetro x 50 cm de altura). Além desse espaço, foram utilizados objetos para que fosse estabelecida a comparação entre objetos familiares (expostos no treino) e o objeto novo (colocado no modelo apenas no dia do teste). Por isso, esse foi um modelo de reconhecimento de objeto novo ou também conhecido como modelo “cognitivo”, porque previu avaliar a capacidade do animal de distinguir o objeto novo de objetos já conhecidos. No experimento do presente trabalho foram utilizados dois objetos metálicos (latas), para o treino, e um objeto de vidro (garrafa), para o teste. O modelo de reconhecimento pressupôs exploração do ambiente e dos objetos metálicos no primeiro dia por 15 minutos. No segundo dia de exposição, apenas um dos objetos familiares foi apresentado, juntamente com um objeto novo (garrafa) e o animal pode explorar a caixa livremente também pelo mesmo tempo de exposição (15 minutos). Foram computados os segundos gastos de exploração em cada objeto, considerando-se a proximidade do focinho do animal dos objetos (lata ou garrafa) de no mínimo 3 cm de distancia. Para fins de análise, foram consideradas as mesmas medidas tomadas por Dias e colaboradores (2009): as porcentagem de tempo (em segundos) e de frequência de exploração do objeto novo (garrafa), comparadas ao tempo total de exploração de objetos (familiar ou novo). Além dessas medidas, foram computadas as frequências de cruzamento dos quadrantes e as entradas no centro do modelo (Figura 1).



Figura 1. Foto do modelo animal de Reconhecimento.

Transição Claro-Escuro: o modelo de transição de claro-escuro seguiu os padrões estabelecidos em outros trabalhos (Crawley & Goodwin, 1980; Costall, Jones, Kelly, Naylor & Tomkins, 1989; Smythe, Bhatnagar, Murphy, Timothy, & Costall, 1998). Tratava-se de uma caixa semelhante a caixa operante utilizada por Skinner (31 cm altura x 26 cm frente x 22,5 cm fundo), mas com dois compartimentos interligados, como se fossem duas caixas interligadas. Nela havia um lado claro (transparente) e outro lado escuro (preto) que se interligavam por uma parede com uma passagem central que permitia a comunicação entre os dois lados (escuro e claro). Nesse modelo, o animal podia escolher livremente o lado de permanência e foram a partir das medidas obtidas foram consideradas as porcentagem de tempo de permanência (em segundos) e a frequência de entradas no lado claro da caixa. O tempo de permanência no lado escuro foi obtido por subtração

do tempo total, uma vez que o pesquisador só conseguia visualizar o animal no lado claro (Figura 2).



Figura 2. Foto do modelo animal de Transição Claro-Escuro.

Labirinto em Cruz Elevado: seguindo a especificação de Pellow, Chopin, File e Briley (1985), o LCE consistiu de dois braços abertos e opostos, e outros dois braços fechados opostos do mesmo tamanho (50 x 10 cm cada um), de madeira com paredes laterais de 50 cm de altura. Nas beiradas dos braços abertos foi fixada uma pequena borda de acrílico transparente (0,5 cm de altura), a fim de diminuir o número de quedas dos animais. Os braços se cruzavam perpendicularmente formando uma cruz, delimitada por uma área central de 10 x 10 cm e permanecia a 50 cm do solo (Figura 3). O labirinto encontrava-se em uma sala com isolamento acústico parcial, iluminado por uma lâmpada incandescente (60-W), colocada verticalmente a 150 cm acima do aparato. Para análise dos comportamentos

observados, utilizou-se um programa computacional de registro de categorias OBS desenvolvido especificamente para esta situação experimental. Desta forma, o registro das categorias foi feito a partir da digitação, no teclado do computador, do número correspondente ao código de cada categoria comportamental, conforme programação prévia. As frequências e duração dos comportamentos analisados foram contabilizadas a partir destes registros. Assim, ao digitar outro número, cada registro de categoria anterior era imediatamente interrompido, contabilizando a frequência e a duração da nova categoria. Nesse caso, foram contabilizados os seguintes comportamentos: porcentagem de entrada e permanência nos braços abertos, total de entradas nos braços, tempo de espreitar (definido pelo estiramento da cabeça em direção aos braços abertos, estando no braço fechado), e de esquadrihar (comportamento de, no braço aberto, direcionar a cabeça além do braço em direção ao chão), e frequência de exploração de extremidade (definido pela parte final dos braços abertos, oposta aos outros braços), conforme descrito por Cruz e cols. (1994).



Figura 3. Foto do modelo animal Labirinto em Cruz Elevado.

Labirinto em T Elevado: desenvolvido por Viana, Tomaz e Graeff (1994) para investigar pânico através dos comportamentos de fuga e esquiva, esse modelo seguiu a mesma especificação do LCE, com a exceção da ausência de um dos braços fechados. Isso significa que o modelo possuía dois braços abertos e somente um fechado em 3 lados. A exposição seguiu o protocolo original de exposição (Graeff, Netto & Zangrossi, 1998; Teixeira e cols., 2000). Nesse modelo foram contabilizados os segundos de esquiva e de fuga do animal. O comportamento de esquiva foi padronizado a partir da latência da primeira saída do animal do braço fechado em direção ao braço aberto. Isso significa que assim que o animal era colocado no final do braço fechado, cronometrava-se o tempo até a primeira saída do animal (com as quatro patas) desse braço para um dos braços abertos. Já o comportamento de fuga era contabilizado pela latência de entrada no braço fechado a partir do início do experimento, quando o animal é posto no final do braço aberto. Seguindo a exposição proposta por Teixeira e colaboradores (2000), a submissão dos animais nesse modelo seguiu o seguinte protocolo: 3 exposições seguidas a partir do braço fechado (3 medidas de latência de esquiva), com um intervalo de 30 segundos entre cada exposição e uma tolerância máxima de 5 minutos para a ocorrência do comportamento; e 1 exposição ao braço aberto para medir a latência de fuga (em segundos), também com os critérios mínimos de ocorrência (intervalo de 30 segundos da última exposição do animal ao modelo e uma tolerância máxima de 5 minutos para que o comportamento ocorresse) (Figura 4).



Figura 4. Foto do modelo animal do Labirinto em T Elevado.

Nado Forçado: seguindo o padrão determinado por Porsolt e colaboradores (1977), o modelo do nado forçado foi realizado nos moldes originais de um cilindro de acrílico (65 cm de altura e 35 cm de diâmetro), preenchido por água até 55 cm de altura. Os animais foram submetidos por dois dias consecutivos, respeitando o mesmo horário de exposição. No primeiro dia o animal permaneceu por 15 minutos (estabelecendo a situação aversiva inescapável) e, no segundo dia, apenas por 5 minutos. A água foi controlada a  $25^{\circ}\text{C} + \text{ou} - 1^{\circ}\text{C}$  e trocada a cada sujeito. Nesse experimento, foram computadas as medidas clássicas descritas por Porsolt e colaboradores (1977): tempo total de nado e de imobilidade (Porsolt e cols., 1978, Porsolt e cols., 1979), além da latência para imobilidade (Gomes, 2009). Todos os tempos foram contabilizados em segundos (Figura 5).



Figura 5. Foto do modelo animal Nado Forçado.

Condicionamento da Resposta de Congelamento: tratava-se de um modelo de condicionamento ao contexto observado a partir da resposta de congelamento. Consistiu de uma caixa de condicionamento (27 x 30 cm), adaptada da caixa operante, com paredes transparentes de acrílico e um assoalho de uma grade formada por 18 barras de aço, para permitir a condutância do choque. O choque foi ativado apenas no primeiro dia (treino) em uma voltagem de 0,6 mA com duração de 1,5 segundos, a partir de um estimulador de choques elétricos (Grason-Stadler, modelo E 600B, EUA), ligado a um sistema de interface no computador na sala de observação. Foram dados 3 choques seguidos dentro de um período de 1 minuto. Os sujeitos foram expostos a dois dias consecutivos no aparato com 7 minutos de exposição no primeiro dia e 5 minutos no segundo dia (Santos, 2005; Salviano, 2008). Mediu-se, em segundos, a porcentagem de congelamento ou de parada total do animal (Landeira-Fernandez e cols., 2006) (Figura 6).



Figura 6. Foto do modelo animal de Condicionamento da Resposta de Congelamento.

Todas as sessões experimentais foram observadas e gravadas através de uma vídeo-câmara conectada a uma TV e a um vídeo-cassete que estavam instalados em uma sala ao lado da sala de cada um dos modelos. Cada modelo animal estava isolado em um cubículo (sala de 2 x 2 m), com isolamento acústico e iluminação artificial. A filmagem correspondente a cada animal foi analisada posteriormente por dois observadores. Desta forma, o registro das categorias foi realizado a partir de programas computacionais específicos para cada modelo, seguindo cada especificação dos comportamentos observados (tempo e/ou frequência de cada

comportamento pré-determinado em cada modelo). Ressalta-se que os tempos de cada comportamento observados foram cronometrados em segundos.

### Procedimento

O procedimento realizado seguiu um protocolo de seis dias consecutivos para cada animal, conforme especificado a seguir (por dia de experimento). A sequência de modelos foi estabelecida da seguinte forma: 3 modelos nos dois primeiros dias, 2 modelos nos terceiro e quarto dias e 1 modelo animal nos dois últimos dias de experimento por grupo. A sucessão da exposição aos modelos respeitou o nível de aversividade de cada modelo, em nível crescente de aversividade (Andreatini & Bacellar, 1999).

No primeiro dia de experimento o animal era submetido ao modelo de reconhecimento (por 15 minutos), seguido da caixa de transição claro-escuro (por 5 minutos) e o Labirinto em Cruz Elevado (por 5 minutos). A sequência dos 3 modelos avaliados nesse dia foi montada de tal forma que o animal era imediatamente exposto a um modelo assim que finalizava a passagem pelo equipamento anterior.

No segundo dia de exposição, os animais eram submetidos ao mesmo procedimento, respeitando-se a ordem dos modelos e o tempo de exposição em cada equipamento, com apenas duas alterações: inserção do objeto novo no modelo de reconhecimento e, no segundo modelo (caixa de transição claro-escuro), o animal era inserido no modelo pelo lado claro (diferentemente do dia anterior, quando o animal era colocado no equipamento pelo lado escuro).

Já no terceiro dia de experimento, os animais eram submetidos a sequência de dois modelos: Labirinto em T Elevado (por 5 minutos) e ao Nado Forçado (por 15

minutos). No quarto dia de experimento, os animais passaram pelo mesmo procedimento do dia anterior, com a ressalva de que o Nado Forçado seria de exposição máxima de 5 minutos, conforme descrito anteriormente.

No penúltimo dia de experimento, os animais foram submetidos ao treino na caixa de condicionamento da resposta de congelamento (por 7 minutos) e, no dia seguinte (último dia do experimento), ao teste desse modelo (por 5 minutos). A seguir, estão descritas particularidades de todo o procedimento:

1º dia de experimento:

- a) Modelo de reconhecimento (15 minutos de exposição): utilizou-se o campo aberto, formado por um cilindro de 60 cm de diâmetro por 50 cm de altura, sob uma plataforma de acrílico branca demarcada por dois círculos (um maior do tamanho do cilindro e um menor de 30 cm de diâmetro). Nesse dia, treino, foram colocados dois objetos (duas latas de refrigerante fechadas) equidistantes no centro. O 1º dia serviu apenas para adaptação do sujeito aos objetos e ao modelo.
- b) Caixa de Transição Claro-Escuro (5 minutos de exposição): seguida a exposição ao modelo de reconhecimento, o animal foi exposto ao modelo Claro-Escuro, iniciando no lado escuro. Permaneceu nesse modelo por 5 minutos e foram computados os tempos de permanência bem como a frequência de entrada em cada lado (claro ou escuro). Nesse caso a câmera esteve posicionada de frente para o modelo (lado claro), pois apenas as medidas desse lado puderam ser filmadas. Os dados do lado escuro foram obtidos pela diminuição do tempo total e da frequência do outro lado (claro). Como os artigos na área são contraditórios quanto ao lado no qual o animal

deverá iniciar a exposição, o desenho experimental dessa pesquisa decidiu por iniciar no lado escuro e a re-exposição ao modelo no dia seguinte iniciou-se pelo lado claro. A medida de porcentagem de permanência no lado claro foi calculada da seguinte forma:

Porcentagem de entradas no lado claro =

$$\frac{\text{Tempo de permanencia no lado claro}}{\text{Tempo total de permanencia na caixa de transição claro-escuro}} \times 100$$

Tempo total de permanencia na caixa de transição claro-escuro

- c) Labirinto em Cruz Elevado – LCE (5 minutos de exposição): assim que o animal saiu do modelo de transição claro-escuro foi exposto ao LCE. Os animais foram colocados no centro do modelo com a cabeça voltada para um dos braços fechados. Foram consideradas as medidas clássicas e etológicas (espreitar, esquadrinhar e exploração de extremidade), conforme apontado anteriormente; ou seja, foram registrados o número de entradas e o tempo gasto em ambos os braços, bem como o tempo de permanência no centro do labirinto. A partir dessas medidas foram calculados os seguintes índices:

Porcentagem de entradas nos braços abertos =

$$\frac{\text{Entradas nos abertos}}{\text{Entradas nos abertos} + \text{Entradas nos fechados}} \times 100$$

Entradas nos abertos + Entradas nos fechados

Porcentagem de tempo nos braços abertos =

$$\frac{\text{Tempo nos abertos}}{\text{Tempo nos abertos} + \text{tempo nos fechados}} \times 100$$

De acordo com Cruz e colaboradores (1994), outras medidas, além das supracitadas, foram registradas a partir de sucessivas observações de comportamentos apresentados por animais expostos ao LCE. Uma dessas medidas, amplamente utilizada para verificar efeitos ansiolíticos de compostos gaba-benzodiazepínicos e serotoninérgicos, é o comportamento de espreitar (risk-assessment). O espreitar foi considerado quando o animal saía parcialmente dos braços fechados, colocando a cabeça e as patas dianteiras na plataforma central ou nas entradas dos braços abertos, este comportamento foi frequentemente seguido por um estiramento do corpo. Já o comportamento de esquadrihar, foi considerado a partir do momento em que o animal, em estando no braço aberto, pronunciava sua cabeça em direção ao chão. A terceira medida etológica considerada foi o comportamento de exploração de extremidade que foi computado todas as vezes que o animal chegou ao final de qualquer um dos braços abertos.

2º dia de experimento:

- a) Modelo de reconhecimento (15 minutos de exposição): o procedimento foi o mesmo, com um dos objetos alterados. Ao invés de duas latas de refrigerante fechadas, utilizou-se uma lata e uma garrafa de refrigerante fechadas. Foram consideradas as frequências de cruzamentos de quadrante e para o centro do modelo, bem como frequência e a duração de aproximação, conforme

descrito anteriormente, em direção aos objetos. A partir dessas medidas foram calculados os seguintes índices:

Porcentagem de frequência de exploração do objeto novo =

$$\frac{\text{Exploração do objeto novo}}{\text{Exploração do objeto novo} + \text{Exploração do objeto familiar}} \times 100$$

Exploração do objeto novo + Exploração do objeto familiar

Porcentagem de tempo de exploração do objeto novo =

$$\frac{\text{Tempo de Exploração do objeto novo}}{\text{Tempo de Exploração do objeto novo} + \text{Tempo de Exploração do objeto familiar}} \times 100$$

Tempo de Exploração do objeto novo + Tempo de Exploração do objeto familiar

- b) Caixa de Transição Claro-Escuro (5 minutos de exposição): seguida a exposição ao modelo de reconhecimento, o animal foi exposto à caixa de transição claro-escuro, iniciando agora pelo lado claro. Foram medidos os mesmos comportamentos do 1º dia de exposição.
- c) Labirinto em Cruz Elevado – LCE (5 minutos de exposição): assim que o animal saiu do equipamento anterior foi exposto ao LCE, igualmente ao dia anterior. Foram consideradas as mesmas medidas da exposição do 1º dia.

### 3º dia de experimento:

- a) Labirinto em T Elevado – LTE (até 20 minutos de exposição): utilizou-se um LCE com 1 braço fechado bloqueado. Conforme apontado anteriormente, foram medidas as latências do que foi denominado como esquivas inibitórias (latência de saída do braço fechado com as 4 patas, assim que o experimentador colocava o animal no final do braço fechado); foi realizada a

chamada linha de base de latência de esquiiva inibitória (o animal foi exposto novamente ao final do braço fechado e sua latência de saída foi medida mais 2 vezes); vale lembrar que entre a primeira submissão do animal até a 3ª vez (a 1ª somada a duas outras exposições) foram dados 30 segundos de intervalo entre as exposições; além disso, mediu-se também a latência de fuga (nesse momento, foi medida a latência de fuga de um dos braços abertos até a entrada com as 4 patas no braço fechado). Foi dado um tempo limite de 5 minutos para cada exposição.

- b) Nado Forçado – NF (15 minutos de exposição): seguida a exposição ao LTE, o animal foi exposto ao treino do nado forçado. Permaneceu nesse modelo por 15 minutos e foram computadas a latência para imobilidade de cada animal (tempo entre a entrada do animal no cilindro até a primeira vez que o sujeito parava de nadar por mais de 3 segundos) e o tempo total de nado (medido também em segundos). Para fins de concordância entre os observadores, a parada do nado foi considerada quando o animal movimentava apenas lentamente as patas dianteiras para manter a cabeça fora da água, sem tirá-las da superfície da água, ou quando de fato permanecia imóvel, sem qualquer movimento, apenas boiando na superfície da água. Após exposição, os animais foram secados por uma toalha e um secador de cabelo e colocados em suas caixas.

#### 4º dia de exposição:

- a) Labirinto em T Elevado – LTE (até 20 minutos de exposição): foi realizada a exposição ao modelo seguindo o mesmo protocolo do dia anterior.

- b) Nado Forçado – NF (5 minutos de exposição): em seguida à exposição ao LTE, o animal foi exposto ao teste do nado forçado e, diferentemente do dia anterior, permaneceu nesse modelo por apenas 5 minutos. Foram computados a latência para imobilidade de cada animal e o tempo total de nado em segundos. Tal qual no dia anterior, após a exposição, os animais foram secados por uma toalha e um secador de cabelo e colocados em suas caixas.

5º dia de experimento:

- a) Condicionamento de Resposta de Congelamento – CRC (7 minutos de exposição): a exposição foi feita conforme padrão já adaptado do laboratório (Santos, 2005; Salviano, 2008); ou seja, os animais foram expostos à caixa, individualmente, por um período de 7 minutos divididos da seguinte forma: 4min60s iniciais de exploração, três choques durante o 5º minuto, conforme explicado anteriormente, seguidos de 2 minutos sem choque. O experimento foi gravado por uma câmera acoplada à caixa de choque. Para fins de análise dos dados, os comportamentos do animal foram observados a cada segundo e foram contabilizados padrões de atividade ou de congelamento. Essa categoria de congelamento foi determinada pela ausência de movimento do animal a não ser pelo movimento torácico respiratório ou das vibrissas, somente. Para cada sujeito, foram computadas as porcentagens de congelamento ao final da exposição. Vale ressaltar que o modelo foi limpo por desinfetante de odor limão antes da colocação de cada animal para, além de eliminar o odor do animal exposto anteriormente, adquirir propriedade de estímulo discriminativo para a re-exposição no dia seguinte. A medida de porcentagem de congelamento foi calculada da seguinte forma:

Porcentagem de congelamento =

$$\frac{\text{Tempo de congelamento}}{\text{Tempo total de exposição à caixa CRC}} \times 100$$

Tempo total de exposição à caixa CRC

6º dia de experimento:

- a) Condicionamento de Resposta de Congelamento – CRC (5 minutos de exposição): a re-exposição ao modelo seguiu conforme protocolo do dia anterior; contudo sem a manipulação de choque elétrico. Nesse dia o animal permaneceu por 5 minutos e foram registrados seus comportamentos. O experimento também foi gravado e a porcentagem de congelamento foi computada. Ressalta-se que, novamente, antes da colocação de cada animal, o modelo foi limpo por desinfetante odor de limão.

Com exceção do modelo CRC, os demais aparatos foram limpos por uma mistura de álcool a 20% com o objetivo de minimizar os odores deixados por cada animal previamente exposto. O experimento foi realizado somente no período vespertino e a sucessão dos testes respeitou o nível de aversividade de cada modelo, do menos para o supostamente mais aversivo (Andreatini & Bacellar, 1999; Ramos e cols., 2008). As sessões foram monitoradas, gravadas e analisadas, posteriormente, por dois observadores independentes cujo índice de confiança foi de 95% dos dados medidos.

### Análise estatística

Os dados foram analisados por meio de análises fatoriais rotacionadas ortogonalmente pelo método Varimax, utilizando-se o programa estatístico SPSS (Statistic Package for the Social Sciences), versão 11.5.

Para identificar a estrutura latente das relações e os autovalores obtidos, foi utilizada a análise de componentes principais que determinou os fatores emergentes. A matriz fatorial de cargas considerou valores de cargas fatoriais superiores a 0,4 (Cruz e cols., 1994; Torrejais e cols., 2008). A avaliação da validade da aplicação da análise fatorial (fatorabilidade dos itens) foi determinada pelo teste Kaiser-Meyer-Olkin (KMO). Segundo esse teste inicial da análise fatorial, os índices deveriam sempre atender a um critério de  $KMO \geq 0,5$  para que fossem considerados aceitáveis.

## RESULTADOS

Os resultados da primeira análise fatorial realizada (Tabela 1) indicam o carregamento de 5 fatores diferentes para as medidas obtidas nos seis modelos animais utilizados. Foram consideradas as medidas: porcentagem tempo e de frequência de exploração do objeto novo no modelo de reconhecimento, no 2º dia, porcentagem de permanência e frequência de entradas no lado claro na caixa de transição claro-escuro, no 1º dia de exposição, porcentagem de entradas e de permanência nos braços abertos, total de entradas nos braços fechados, tempo de espreitar e de esquadrinhar e frequência de exploração de extremidade no LCE, medidos no 1º dia de exposição, media da latência de esquiva e latência de fuga no

LTE, no 1º dia de exposição, latencia para imobilidade e tempo total de nado no NF, medidos no 2º dia, e porcentagem de congelamento no modelo CRC do 2º dia de exposição.

Tabela 1. Distribuição da estrutura fatorial rotacionada pelo método varimax das medidas comportamentais de ansiedade (com medidas etológicas), depressão e reconhecimento (N = 60).

Medidas	1º Fator	2º Fator	3º Fator	4º Fator	5º Fator
% frequência de exploração do objeto novo – Modelo de reconhecimento (2º dia)	-	-	0,95	-	-
% tempo de exploração do objeto novo – Modelo de reconhecimento (2º dia)	-	-	0,92	-	-
% de permanência no lado claro – transição claro-escuro (1º dia)	-	-	-	-	0,81
Entradas no lado claro – transição claro-escuro (1º dia)	-	-	-	-	0,75
% de entradas nos braços abertos – LCE (1º dia)	0,88	-	-	-	-
% de permanência nos braços abertos – LCE (1º dia)	0,92	-	-	-	-
Entradas nos braços fechados – LCE (1º dia)	-	-	-	0,73	-
Tempo de espreitar – LCE (1º dia)	-0,42	-	-	0,61	-
Tempo de esquadrihar – LCE (1º dia)	0,85	-	-	-	-
Exploração de extremidade – LCE (1º dia)	0,79	-	-	-	-
Média da latência de esquiva – LTE (1º dia)	-0,50	-	-	-	-0,45
Latencia de fuga – LTE (1º dia)	-	-	-	-0,78	-
Latencia para imobilidade no nado forçado – NF (2º dia)	-	0,86	-	-	-
Tempo de nado no nado forçado – NF (2º dia)	-	0,83	-	-	-
% de congelamento – CRC (2º dia)	-	-0,68	-	-	-

\* apenas cargas fatoriais  $\geq 0,4$  estão representadas (Torrejais e cols., 2008).

O primeiro fator carregado nessa análise foi emergido positivamente a partir das medidas de porcentagem de tempo de permanência (0,92) e de entradas (0,88) nos braços abertos e pelo tempo de esquadrihar (0,85) e a exploração de extremidade (0,79) no primeiro dia de exposição ao LCE. Além dessas medidas, pesaram negativamente nesse fator as medidas de tempo de espreitar no LCE (-0,42)

e a media da latência de esquivas no LTE (-0,50) avaliados no primeiro dia de exposição aos modelos.

Já para o segundo fator, pesaram positivamente as medidas relativas a exposição ao NF no segundo dia, latência para a imobilidade (0,86) e tempo total de nado (0,83) e negativamente a porcentagem de congelamento no CRC (-0,68), também avaliada na segunda exposição ao modelo.

O terceiro fator foi carregado pelas medidas avaliadas no segundo dia do modelo de reconhecimento, porcentagem de tempo (0,92) e de frequência (0,95) de exploração do objeto novo.

No quarto fator pesaram positivamente as medidas de entradas nos braços fechados (0,73) e tempo de espreitar (0,61) no primeiro dia de exposição ao LCE, e pesou negativamente a latência de fuga (-0,78) no primeiro dia do LTE.

O último fator foi carregado pelas medidas da caixa de transição claro-escuro avaliadas no primeiro dia de exposição que foram: porcentagem de tempo de permanência (0,81) e entradas no lado claro (0,75). E pesou negativamente a medida do primeiro dia do LTE de media da latência de esquivas (-0,45).

Para a segunda análise fatorial foram consideradas as mesmas medidas da análise anterior, à exceção das medidas etológicas do LCE. Assim, foram computadas as porcentagens tempo e de frequência de exploração do objeto novo no modelo de reconhecimento, no 2º dia, porcentagem de permanência e frequência de entradas no lado claro na caixa de transição claro-escuro, no 1º dia de exposição, porcentagem de entradas e de permanência nos braços abertos e total de entradas nos braços fechados no LCE, medidos no 1º dia de exposição, media da latência de esquivas e latência de fuga no LTE, no 1º dia de exposição, latencia para imobilidade

e tempo total de nado no NF, medidos no 2º dia, e porcentagem de congelamento no modelo CRC do 2º dia de exposição. Dessa análise emergiram 5 fatores, conforme Tabela 2.

Tabela 2. Distribuição da estrutura fatorial rotacionada pelo método varimax das medidas comportamentais de ansiedade (sem as medidas etológicas), depressão e reconhecimento (N = 60).

Medidas	1º Fator	2º Fator	3º Fator	4º Fator	5º Fator
% frequência de exploração do objeto novo – Modelo de reconhecimento (2º dia)	-	0,95	-	-	-
% tempo de exploração do objeto novo – Modelo de reconhecimento (2º dia)	-	0,94	-	-	-
% de permanência no lado claro – transição claro-escuro (1º dia)	-	-	-	0,87	-
Entradas no lado claro – transição claro-escuro (1º dia)	-	-	-	0,70	-0,43
% de entradas nos braços abertos – LCE (1º dia)	0,89	-	-	-	-
% de permanência nos braços abertos – LCE (1º dia)	0,85	-	-	-	-
Entradas nos braços fechados – LCE (1º dia)	-	-	-	-	-0,78
Média da latência de esquiva – LTE (1º dia)	-0,68	-	-	-	-
Latencia de fuga – LTE (1º dia)	-	-	-	-	0,75
Latencia para imobilidade no nado forçado – NF (2º dia)	-	-	0,85	-	-
Tempo de nado no nado forçado – NF (2º dia)	-	-	0,84	-	-
% de congelamento – CRC (2º dia)	-	-	-0,69	-	-

\* apenas cargas fatoriais  $\geq 0,4$  estão representadas (Torrejais e cols., 2008).

Os itens carregados de forma robusta e positivamente relacionados no primeiro fator são concernentes às medidas do primeiro dia de exposição ao modelo LCE quais sejam as porcentagens de permanência (0,89) e de entrada nos braços abertos (0,85). Carregou também esse primeiro fator de forma negativamente relacionada a média da latência de esquiva medida no primeiro dia de exposição ao LTE (-0,68).

O segundo fator foi formado pelas medidas do segundo dia do modelo de reconhecimento: porcentagem de tempo (0,94) e de frequência (0,95) de exploração do objeto novo.

O terceiro fator foi carregado positivamente pelas medidas do NF (latência para imobilidade, 0,85, e tempo total de nado, 0,84). Também carregou esse fator, de forma negativamente relacionada, a porcentagem de congelamento do CRC medida no segundo dia de exposição ao modelo (-0,69).

O quarto fator emergido foi estabelecido pelos pesos das medidas obtidas o primeiro dia de exposição da transição claro-escuro de porcentagem de permanência (0,87) e entradas (0,70) no lado claro.

O quinto e último fator emergido nessa análise foi montado negativamente pelas medidas de entradas no lado claro da caixa de transição claro-escuro (-0,43) e entradas nos braços fechados do LCE (-0,78). Esse fator foi carregado positivamente pela latência de fuga (0,75) do LTE. Todas as medidas relevantes desse fator foram obtidas no primeiro dia de exposição aos modelos carregados.

A terceira análise fatorial realizada refere-se a análise estatística dos dados avaliados nos dois dias de todos os modelos animais (com as medidas etológicas do LCE). Nesse caso foram considerados os itens: do 2º dia de exposição ao modelo de reconhecimento a partir das porcentagens de tempo e de frequência de exploração do objeto novo e o cruzamento de quadrantes no equipamento; na caixa de transição claro-escuro foram avaliadas a porcentagem de permanência e a frequência de entradas no lado claro, nos dois dias de exposição; no LCE foram consideradas as porcentagens de entradas e de permanência nos braços abertos, o total de entradas nos braços fechados, os tempos de espreitar e de esquadrihar e a frequência de

exploração de extremidade, medidos nos dois dias de exposição; foram avaliadas também a média da latência de esquiva e a latência de fuga no LTE, nos dois dias de exposição; as medidas do NF que foram a latência para imobilidade e tempo total de nado no NF apenas do 2º dia; e porcentagem de congelamento no modelo CRC também do 2º dia de exposição (vide Tabela 3). Dessa rotação, emergiram 8 fatores que foram identificados de acordo com os itens relevantes para a formação de cada componente.

O primeiro fator dessa análise rotacionada foi formado positivamente pelas medidas de porcentagens de entradas (0,82) e de tempo de permanência (0,87) nos braços abertos e pelo tempo de esquadrihar (0,77) e a frequência de exploração de extremidade (0,77) do segundo dia de exposição ao LCE. Além dessas medidas, pesaram também nesse fator, mas de forma negativa, o tempo de espreitar no LCE (-0,64) também do segundo dia de exposição e a média da latência de esquiva do primeiro dia de exposição ao LTE (-0,60).

O segundo fator foi carregado por medidas do primeiro dia de exposição ao LCE. Sendo assim, pesaram positivamente nesse fator as porcentagens de entradas (0,83) e de tempo de permanência (0,91) nos braços abertos e o tempo de esquadrihar (0,87) e a frequência de exploração de extremidade (0,75) do primeiro dia no LCE. Carregaram esse fator de forma negativa as medidas de tempo de espreitar no LCE no primeiro (-0,44) e no segundo dia (-0,45) de exposição ao modelo.

Tabela 3. Distribuição da estrutura fatorial rotacionada pelo método varimax das medidas comportamentais de ansiedade (com as medidas etológicas), depressão e reconhecimento nos dois dias de exposição (N = 60).

Medidas	1° Fator	2° Fator	3° Fator	4° Fator	5° Fator	6° Fator	7° Fator	8° Fator
% de expl. do objeto novo – Modelo de reconhecimento (2° dia)	-	-	0,78	-	-	-	-	-
% tempo de expl. do objeto novo – Modelo de reconhecimento (2° dia)	-	-	0,86	-	-	-	-	-
Cruzamento de quadrantes – Modelo de reconhecimento (2° dia)	-	-	-	-	-	-	-	0,63
% de permanência no lado claro – transição claro-escuro (1° dia)	-	-	-	-	0,59	-	-	-
Entradas no lado claro – transição claro-escuro (1° dia)	-	-	-	-	0,67	-	0,42	-
% de permanência no lado claro – transição claro-escuro (2° dia)	-	-	-	-	-	-	0,65	-
Entradas no lado claro – transição claro-escuro (2° dia)	-	-	-	-	-	-	0,84	-
% de entradas nos braços abertos – LCE (1° dia)	-	0,83	-	-	-	-	-	-
% de permanência nos braços abertos – LCE (1° dia)	-	0,91	-	-	-	-	-	-
Entradas nos braços fechados – LCE (1° dia)	-	-	-	-	0,66	-	-	-
Tempo de espreitar – LCE (1° dia)	-	-0,44	-	-	0,42	-	-	-
Tempo de esquadrihar – LCE (1° dia)	-	0,87	-	-	-	-	-	-
Exploração de extremidade – LCE (1° dia)	-	0,75	-	-	-	-	-	-
% de entradas nos braços abertos – LCE (2° dia)	0,82	-	-	-	-	-	-	-
% de permanência nos braços abertos – LCE (2° dia)	0,87	-	-	-	-	-	-	-
Entradas nos braços fechados – LCE (2° dia)	-	-	-	-	-	-	-	0,84
Tempo de espreitar – LCE (2° dia)	-0,64	-0,45	-	-	-	-	-	-
Tempo de esquadrihar – LCE (2° dia)	0,77	-	-	-	-	-	-	-
Exploração de extremidade – LCE (2° dia)	0,77	-	-	-	-	-	-	-
Média da latência de esquiva – LTE (1° dia)	-0,60	-	-	-	-	0,62	-	-
Latencia de fuga – LTE (1° dia)	-	-	-0,78	-	-	-	-	-
Média da latência de esquiva – LTE (2° dia)	-	-	-	-	-	0,76	-	-
Latencia de fuga – LTE (2° dia)	-	-	-0,78	-	-	-	-	-
Latencia para imobilidade no nado forçado – NF (2° dia)	-	-	-	0,89	-	-	-	-
Tempo de nado no nado forçado – NF (2° dia)	-	-	-	0,85	-	-	-	-
% de congelamento – CRC (2° dia)	-	-	-	-0,57	-	0,52	-	-

\* apenas cargas fatoriais  $\geq 0,4$  estão representadas (Torrejais e cols., 2008).

O terceiro fator foi carregado positivamente pelas medidas do modelo de reconhecimento de porcentagens de frequência (0,78) e de tempo de exploração (0,86) do segundo dia de exposição a esse modelo. Ademais, pesaram negativamente nesse fator as medidas de latência de fuga do LTE nos dois dias (-0,78 cada item).

No quarto fator, foram significantes para o carregamento do fator as medidas relativas ao modelo do NF que foram a latência para imobilidade (0,89) e tempo total de nado (0,85) avaliados no segundo dia de exposição ao modelo. Pesou negativamente nesse fator a medida de porcentagem de congelamento (-0,57) do CRC.

O quinto fator emergido foi formado a partir das medidas de primeira exposição à caixa de transição claro-escuro que foram avaliadas. São elas: a porcentagem de tempo de permanência (0,59) e entradas (0,67) no lado claro. Ademais, as outras medidas que corroboraram para a formação desse fator foram: total de entradas nos braços fechados (0,66) e tempo de espreitar (0,42) do primeiro dia de exposição ao LCE.

O sexto fator foi carregado por medidas do LTE e do CRC. A medida de maior peso foi a média da latência de esquiva do segundo dia de exposição ao LTE (0,76), seguido pela mesma medida do LTE do primeiro dia de exposição (0,62) e do tempo de congelamento no segundo dia do CRC (0,52).

Para o sétimo fator, pesaram as medidas da segunda exposição à transição claro-escuro (porcentagem de permanência, 0,65, e entradas, 0,84, no lado claro) e a frequência de entradas (0,42) no lado claro do primeiro dia de exposição ao mesmo modelo.

O último fator emergido (8º fator) foi formado pelas medidas de cruzamentos de quadrantes no modelo de reconhecimento (0,63) e o total de entradas nos braços fechados (0,84) no segundo dia de LCE.

A terceira análise fatorial avaliou as medidas de cada modelo, de forma individual, para teste e re-teste. Para o modelo de reconhecimento, a análise fatorial considerou a variância dos itens de porcentagem de frequência e de tempo de exploração do objeto novo, bem como os cruzamentos dos quadrantes e as entradas no centro do equipamento. Dessa distribuição emergiram dois fatores (Tabela 4).

Tabela 4. Distribuição da estrutura fatorial rotacionada pelo método varimax das medidas comportamentais “cognitivas” do modelo de reconhecimento nos segundo dia de exposição (N = 60).

Medidas	1º Fator	2º Fator
% exploração do objeto novo	0,95	-
% de tempo de exploração do objeto novo	0,96	-
Entradas no centro	-	0,80
Cruzamento de quadrantes	-	0,80

\* apenas cargas fatoriais  $\geq 0,4$  estão representadas (Torrejais e cols., 2008).

Os dois fatores emergidos estão separados pelas medidas de exploração do novo objeto através da porcentagem de tempo (0,96) e frequência (0,95). Enquanto o segundo fator teve como medidas de peso os comportamentos de cruzamento de quadrantes e de entradas no centro do equipamento (0,80, para cada medida).

A análise fatorial do modelo de transição claro-escuro nos dois dias de exposição também teve suas medidas avaliadas agrupadas em dois fatores (Tabela 5). Foram computadas as porcentagens de permanência e a frequência de entradas no lado claro do modelo.

Tabela 5. Distribuição da estrutura fatorial rotacionada pelo método varimax das medidas comportamentais de ansiedade do modelo de transição claro-escuro nos dois dias de exposição (N = 60).

Medidas	1º Fator	2º Fator
% tempo de exploração do lado claro (1º dia)	0,92	-
Frequencia de exploração do lado claro (1º dia)	0,80	-
% tempo de exploração do lado claro (2º dia)	-	0,78
Frequencia de exploração do lado claro (2º dia)	-	0,79

\* apenas cargas fatoriais  $\geq 0,4$  estão representadas (Torrejais e cols., 2008).

O primeiro fator foi carregado pelas medidas do primeiro dia de exposição ao modelo (porcentagem de tempo, 0,92, e frequencia de entradas no lado claro, 0,80); enquanto o segundo fator foi carregado pelas mesmas medidas, mas do segundo dia de exposição ao modelo (0,78, para a porcentagem de permanência e 0,79 para a frequencia de entradas no lado claro).

Sobre as medidas avaliadas no LCE duas análises foram realizadas: uma primeira sem as medidas etológicas avaliadas e a segunda considerou as medidas clássicas e as etológicas observadas no modelo. Da análise fatorial dos dois dias de exposição ao modelo, sem considerar as medidas etológicas, emergiram 3 fatores a partir das medidas: porcentagem de entradas e de permanência nos braços abertos e total de entradas nos braços fechados (Tabela 6).

Tabela 6. Distribuição da estrutura fatorial rotacionada pelo método varimax das medidas comportamentais de ansiedade do modelo de LCE, sem as medidas etológicas, nos dois dias de exposição (N = 60).

Medidas	1º Fator	2º Fator	3º Fator
% de entradas nos braços abertos – LCE (1º dia)	0,95	-	-
% de permanência nos braços abertos – LCE (1º dia)	0,95	-	-
Entradas nos braços fechados – LCE (1º dia)	-	-	0,70
% de entradas nos braços abertos – LCE (2º dia)	-	0,93	-
% de permanência nos braços abertos – LCE (2º dia)	-	0,93	-
Entradas nos braços fechados – LCE (2º dia)	-	-	0,81

\* apenas cargas fatoriais  $\geq 0,4$  estão representadas (Torrejais e cols., 2008).

De acordo com a análise da matriz, o primeiro fator emergiu a partir das medidas do primeiro dia de exposição ao LCE de porcentagens de entradas (0,95) e de permanência nos braços abertos (0,95). Enquanto o segundo fator foi carregado pelas mesmas medidas do LCE mas apenas do segundo dia de exposição (0,93 para cada porcentagem de entradas ou de permanência nos braços abertos). O último fator (3º fator) foi carregado pelas medidas do total de entradas nos braços fechados (0,70 para medida do primeiro dia e 0,80 para medida do segundo dia).

A outra análise fatorial realizada a partir dos dois dias de exposição ao LCE considerou as medidas clássicas e etológicas desse modelo que são: porcentagem de entradas e de permanência nos braços abertos, total de entradas nos braços fechados, tempo de espreitar e de esquadrinhar e frequência de exploração às extremidades (Tabela 7).

Tabela 7. Distribuição da estrutura fatorial rotacionada pelo método varimax das medidas comportamentais de ansiedade do modelo de LCE, com as medidas etológicas, nos dois dias de exposição (N = 60).

Medidas	1º Fator	2º Fator	3º Fator
% frequência de entradas de braços abertos (1º dia)	0,89	-	-
% tempo de braços abertos (1º dia)	0,94	-	-
Entradas nos braços fechados (1º dia)	-	-	0,82
Tempo de espreitar (1º dia)	-0,45	-	0,50
Tempo de esquadrihar (1º dia)	0,88	-	-
Frequência de exploração das extremidades (1º dia)	0,78	-	-
% frequência de entradas de braços abertos (2º dia)	-	0,86	-
% tempo de braços abertos (2º dia)	-	0,91	-
Entradas nos braços fechados (2º dia)	-	-	0,62
Tempo de espreitar (2º dia)	-0,41	-0,70	-
Tempo de esquadrihar (2º dia)	-	0,73	-
Frequência de exploração das extremidades (2º dia)	-	0,76	-

\* apenas cargas fatoriais  $\geq 0,4$  estão representadas (Torrejais e cols., 2008).

O primeiro fator emergiu a partir dos pesos, positivamente relacionados, das porcentagens de entrada (0,89) e de permanência (0,94) nos braços abertos, o tempo de esquadrihar (0,88) e frequência de exploração de extremidade (0,78) do primeiro dia de exposição ao LCE. Carregaram também esse fator, negativamente, as medidas de tempo de espreitar no primeiro (-0,45) e no segundo (-0,41) dias de LCE.

O segundo fator foi carregado pelas medidas do segundo dia de exposição ao LCE que foram as porcentagens de entrada (0,86) e de permanência (0,91) nos braços abertos, o tempo de esquadrihar (0,73) e frequência de exploração de extremidade (0,76). Esse segundo fator foi carregado negativamente pela medida de tempo de espreitar (-0,70) do segundo dia de LCE.

O terceiro fator foi carregado pelas medidas de entradas nos braços fechados no primeiro (0,82) e no segundo (0,62) dias e pelo tempo de espreitar (0,50) no primeiro dia de exposição.

A análise fatorial do modelo LTE indicou a emergência de dois fatores para as medidas de média de latência de esquiva e latência de fuga nos dois dias de exposição ao equipamento (Tabela 8).

Tabela 8. Distribuição da estrutura fatorial rotacionada pelo método varimax das medidas comportamentais de ansiedade do modelo de LTE nos dois dias de exposição (N = 60).

Medidas	1º Fator	2º Fator
Média da latencia de esquiva (1º dia)	0,91	-
Latencia de fuga (1º dia)	-	0,89
Média da latencia de esquiva (2º dia)	0,91	-
Latencia de fuga (2º dia)	-	0,89

\* apenas cargas fatoriais  $\geq 0,4$  estão representadas (Torrejais e cols., 2008).

A análise fatorial das medidas dos dois dias de exposição ao LTE indicou a emergência de dois fatores que foram pesados pelas medidas avaliadas. Assim, o primeiro fator foi carregado pelas médias das latências de esquiva do primeiro (0,91) e do segundo (0,91) dia; enquanto o segundo fator foi carregado com o mesmo peso (0,89) pelas medidas de latência de fuga dos dois dias.

A análise fatorial das medidas obtidas no NF apresentou a emergência de dois fatores pesados pelas medidas de tempo total de nado e latência para a imobilidade nos dois dias de exposição (Tabela 9).

Tabela 9. Distribuição da estrutura fatorial rotacionada pelo método varimax das medidas comportamentais de depressão do modelo NF nos dois dias de exposição (N = 60).

Medidas	1º Fator	2º Fator
Latencia para imobilidade (1º dia)	-	0,94
Tempo de nado (1º dia)	0,64	0,60
Latencia para imobilidade (2º dia)	0,85	-
Tempo de nado (2º dia)	0,92	-

\* apenas cargas fatoriais  $\geq 0,4$  estão representadas (Torrejais e cols., 2008).

O primeiro fator foi formado pelas medidas de tempo de nado no primeiro (0,64) e no segundo (0,92) dia de exposição e pela latência para imobilidade (0,85) no segundo dia de nado. Já o segundo fator foi carregado pelas medidas obtidas no primeiro dia de submissão ao modelo (latência para imobilidade, 0,94, e tempo de nado, 0,60).

A análise fatorial do último modelo considerado, CRC, indicou o peso semelhante (0,85) das medidas dos dois dias de exposição para a porcentagem de congelamento no modelo Tabela 10.

Tabela 10. Distribuição da estrutura fatorial rotacionada pelo método varimax das medidas comportamentais de ansiedade condicionada do modelo CRC nos dois dias de exposição (N = 60).

Medidas	1º Fator
% de congelamento (1º dia)	0,85
% de congelamento (2º dia)	0,85

\* apenas cargas fatoriais  $\geq 0,4$  estão representadas (Torrejais e cols., 2008).

## DISCUSSÃO

Um dos maiores problemas na determinação de certas interações terapêuticas das emoções e de seus transtornos mentais está relacionado à limitação dos modelos animais na replicabilidade dos fenômenos humanos e das situações experimentais que possibilitem a avaliação de determinados padrões de resposta no ambiente complexo (Geyer & Markou, 2000; Silva e cols., 2005; Kallueff, Wheaton & Murph, 2007; Ramos e cols., 2008). Alguns trabalhos na área de neurociência têm buscado a solução desses problemas através da utilização de mais de um modelo animal para isolar respostas diferenciadas em equipamentos específicos (Rodgers & Shepherd, 1993; Andreatini & Bacellar, 1999; Cryan & Holmes, 2005; Guerra & Alves, 2005; Santos, 2005; Andreatini e cols., 2006; Landeira-Fernandez e cols., 2006).

Outras tentativas estão justamente na análise mais aprofundada de cada um dos itens avaliados por cada modelo animal (File e cols., 1993; Cruz e cols. 1994, Rodgers & Johnson, 1995; Carobrez & Bertoglio, 2005), principalmente, utilizando-se de ferramentas estatísticas que sejam capazes de reduzir as variáveis observadas em fatores agrupados, de tal forma a diminuir a variância única em relação à variância comum (Hair e cols., 2005). Isso significa que é de extremo interesse para a área que os modelos animais sejam cada vez mais esclarecidos para permitirem que cada um dos itens avaliados, através da exposição dos animais, possa ser medido a partir de um fator diferenciado. A exemplo disso, utiliza-se a análise fatorial da integração de diferentes modelos animais (Sáenz, Villagra & Trias, 2006, Ramos e cols., 2008; Torrejais e cols. 2008).

A partir dessa perspectiva da necessidade do surgimento de “desenhos” experimentais que incluam não só a exposição a diversos modelos animais, mas que o façam para o mesmo animal em sequência, de modo a possibilitar uma análise da variância das medidas repetidas, esse trabalho objetivou analisar a estrutura fatorial do comportamento exploratório de animais expostos, sequencialmente, a modelos de ansiedade e depressão.

Os resultados da primeira análise fatorial da interação dos modelos, considerando as medidas etológicas do labirinto em cruz elevado (Tabela 1), indicaram a emergência de fatores relativos às respostas de baixa ansiedade (correlacionando o primeiro fator às medidas de ansiedade observadas no LCE), de desamparo aprendido (identificado pelo segundo fator), de habilidades cognitivas identificadas por padrões de reconhecimento (emergida no terceiro fator), de atividades locomotoras e exploratórias (representadas pelo quarto fator) e de medidas de ansiedade de teste de conflito do tipo aproximação-esquiva (apontadas no quinto fator emergido da análise) que pode ser verificado no teste de transição.

Esses resultados, que identificaram o primeiro fator dessa análise, corroboram os achados anteriores de que o LCE é um modelo animal baseado em pressupostos de simulação de situações nas quais emergem comportamentos de medo e ansiedade (File, 1990; File e cols., 1993; Cruz e cols., 1994; Cruz e cols., 1997; Albrechet-Souza e cols., 2007). Já o LTE possibilita a observação de dois padrões comportamentais diferentes: um relacionado à resposta de avaliação de risco, semelhante às respostas emitidas no LCE, e outro padrão de comportamento que vem sendo relacionado aos comportamentos relativos ao pânico (Viana, Tomaz & Graeff, 1994; Duzzioni, Calixto, Duarte & De Lima, 2008). Além disso, há que se

considerar a multiplicidade de respostas emocionais relacionadas à ansiedade e que os fatores propostos por Gray, no Sistema de Inibição Comportamental (SIC), para designar o disparo da resposta emocional e o preparo para comportamentos de fuga e de luta em situações de perigo real ou potencial, podem ser avaliados de acordo com diferentes perspectivas (Gray, 1982; LeDoux, 1993). A constatação de que a ansiedade é multifacetada é constatada nessa análise pela emergência de dois fatores relacionados à ansiedade (fatores 1 e 5), porém relacionadas a respostas diferenciadas dessa emoção (Menard & Treit, 1999; Zangrossi & Graeff, 2004).

O segundo fator emergido nessa análise agrupou as respostas de imobilidade, verificada no teste do nado forçado, e de congelamento, avaliada no condicionamento de resposta de congelamento, indicando que essa resposta no CRC pode representar uma resposta de desamparo aprendido e não de ansiedade. Ressalta-se que a literatura da área tem apresentado o CRC como modelo de resposta aprendida de ansiedade sensível à intervenção farmacológica de ansiolíticos (Landeira-Fernandez e cols., 2006). Apesar disso, não se pode desconsiderar o fato de que essa resposta de congelamento é obtida através da exposição repetida do animal a um ambiente cuja exposição prévia foi pareada a um estímulo aversivo e inescapável. Essa manipulação de submissão do animal a uma situação aversiva e inescapável é o pressuposto dos modelos de depressão/desamparo aprendido, especialmente o NF (Willner, 1984). Assim, o peso dos dois modelos no mesmo fator parece indicar que ambos pressupõem a exposição do animal à situação aversiva inescapável e com re-exposição ao equipamento gerando não uma resposta de ansiedade, mas uma resposta de desamparo aprendido (Papp & Wieronska, 2000; Kitamura & Gomita, 2002).

O terceiro fator relacionado ao reconhecimento foi fundamental para a formação dos demais fatores porque isolou as medidas de reconhecimento/cognitivas dos demais itens. O resultado isolado das medidas de reconhecimento nesse fator indicou um importante resultado para discriminar que as respostas emergidas nos outros modelos utilizados (de ansiedade e depressão) não são respostas apenas de memória ou reconhecimento, mas respostas emocionais relacionadas aos outros fatores. Ennaucer e colaboradores (2006) apontam a dificuldade de isolar as respostas cognitivas das respostas emocionais e afirmam que, muito provavelmente, algumas medidas de outros modelos animais devem estar medindo respostas de processos básicos não computados inicialmente. Os resultados apontados na Tabela 1 apontam o contrário desses achados.

O quarto fator emergido pode ser interpretado como fator de locomoção, pois foi pesado pela medida motora do LCE que é o total de entradas nos braços fechados (Cruz e cols., 1994). Outras duas medidas carregam esse fator e, apesar de serem classificadas como medidas de ansiedade, também são alteradas em função da atividade locomotora e por isso foram significantes nesse fator (Torrejais e cols., 2008). Há que se considerar que o tempo de espreitar observado no LCE não é a melhor medida de ansiedade do modelo (Cruz e cols., 1994) e que a latência de fuga do LTE também apresenta resultados contraditórios em relação aos diferentes tratamentos farmacológicos (Carvalho-Netto & Nunes-de-Souza, 2004).

O quinto fator emergido nessa análise esteve correlacionado à ansiedade, mas nos apenas para medidas da caixa de transição claro-escuro. Segundo Crawley e Goodwin (1980), o modelo de transição tem se mostrado um bom modelo de ansiedade e sensível ao uso de medicamentos benzodiazepínicos. No entanto, trata-se

de um sistema de conflito entre o comportamento exploratório instintivo do animal e a aversão ao local iluminado. Diferentemente do LCE, o animal não fica exposto a um ambiente aberto e nem alto (File, 1993).

Os resultados da segunda análise fatorial (Tabela 2) corroboram a análise gerada com itens que incluíam as medidas etológicas do LCE. Nessa segunda fatoração dos itens o primeiro fator também esteve relacionado com medidas de ansiedade geradas pelo LCE, à exceção das medidas etológicas. Esses resultados apontam para uma confiabilidade maior das medidas clássicas dos dois modelos, LCE e LTE (Pellow e cols., 1985), pois mesmo sem as medidas etológicas, as medidas carregaram o primeiro fator da análise.

Seguindo essa mesma ideia, o segundo fator dessa análise também foi formado exclusivamente por medidas de exploração do objeto novo no modelo de reconhecimento. Esse resultado, conforme apontado na primeira análise, corrobora a fundamentação do modelo, indicando que os comportamentos avaliados não estão relacionados com as outras medidas e sim com o comportamento apontado por Ennaceur e colaboradores (2006) de reconhecimento do objeto familiar diante do objeto novo. Nota-se que esse resultado é fundamental para separar também as outras medidas que estão sendo avaliadas. Isso porque, apesar de alguns modelos utilizados nessa pesquisa preverem re-teste, as medidas avaliadas devem estar relacionadas a outras respostas, pois não compõem o fator relativo à “cognição”/memória.

Da mesma forma que a primeira análise fatorial, o terceiro fator emergido também agrupou medidas do nado forçado e do condicionamento de resposta de congelamento. Isso significa que da mesma forma que na primeira análise, os resultados indicam que a resposta de congelamento nesse modelo deve estar

relacionada às respostas de desamparo aprendido, em função da exposição aversiva inescapável (Porsolt e cols., 1979; Brotto, Gorzalka & Barr, 2001).

Assim também o quarto fator emergido se restringiu a medidas da caixa de transição claro-escuro. Nesse caso, acredita-se que a resposta de aproximação-esquiva produzida nesse modelo está relacionada à ansiedade (Zangrossi & Graeff, 2004), mas não às mesmas repostas do LCE. Já o último fator emergido dessa análise foi carregado por itens relacionados às medidas de locomoção (Albrechet-Souza e cols., 2008).

Quando considerados todos os modelos nos dois dias de procedimento de cada um, os resultados da análise fatorial apontaram para oito fatores (Tabela 3). Os dois primeiros fatores apontaram para índices de baixa ansiedade do LCE. Enquanto o segundo fator se relaciona às medidas avaliadas no LCE no primeiro dia de exposição, o segundo fator, no entanto, está relacionado às medidas da segunda exposição ao LCE, evidenciando a ocorrência do fenômeno de one-trial tolerance (tolerância de um ensaio). Isso significa que os dias da exposição tiveram pesos mais fundamentais para essa covariância do que as atividades medidas em si, quando considerados os critérios para a formação desses fatores. Esses resultados vão ao encontro do que já se conhece como tolerância de um ensaio, descrito pela Sandra File em 1990 (Vargas, Da Cunha & Andreatini, 2006). Isso significa que modelos como o labirinto em cruz elevado são sensíveis a pré-exposição e que o comportamento dos animais fica alterado na medida em que eles permanecem ou são re-expostos ao equipamento (File, 1990; Rodgers & Shepherd, 1993; Dawson, Crawford, Stanhope, Iversen, & Tricklebank, 1994; Andreatini e cols., 2006).

Esse efeito de tolerância de apenas uma exposição ao modelo pode ser visto também em relação à transição claro-escuro quando são comparados os fatores cinco e sete que emergem a partir das mesmas medidas obtidas nesse modelo. Isso porque no quinto fator, relativo à avaliação de risco, pesaram as medidas da caixa de transição claro-escuro e as medidas de entradas nos braços fechados e o tempo de espreitar no LCE (Blanchard e cols., 1993). Apesar do total de entradas nos braços fechados ter sido relacionado às atividades locomotoras, o comportamento de espreitar já foi apontado como medida da avaliação de risco aparente em animais expostos a ambientes naturalmente aversivos (Cruz e cols., 1994). No sétimo fator emergido, ao contrário, aparecem apenas as medidas da caixa de transição, especialmente do segundo dia de submissão ao modelo. Esse resultado evidencia a relação desse fator com um tipo de resposta de ansiedade diferente das obtidas através da exposição ao LCE (típica dos dois primeiros fatores), conforme apontado anteriormente, reforçando a ideia de que existem múltiplas facetas das respostas de ansiedade passíveis de serem avaliadas e que esses modelos, apesar de serem etologicamente fundamentados, possibilitam a avaliação de respostas diferentes (Cruz e cols., 1997).

O terceiro fator emergido dessa análise foi carregado por medidas do modelo de reconhecimento e pelas latências de fuga (nos dois dias) do LTE. Essa formação indica que esse fator está relacionado às habilidades de reconhecimento e/ou “cognitivas”. O fato das medidas de fuga pesarem de forma inversamente relacionada a esse fator indica que o reconhecimento do ambiente é fundamental para a resposta emocional de fuga do local aversivo. Conforme aponta Ennaceur e colaboradores (2008), as medidas de reconhecimento não são passíveis de serem

isoladas de respostas emocionais. Assim, esse resultado reforça a afirmação dos autores de que as medidas de reconhecimento nem sempre serão “puras” e isentas de influências de respostas emocionais, especialmente, sob contexto aversivo que induz respostas inatas de medo e ansiedade (Ennaceur, 2010).

Conforme as análises prévias (Tabelas 1 e 2), o quarto fator emergido dessa análise (Tabela 3) foi resultado das medidas de avaliação dos comportamentos dos modelos NF e CRC. Mais uma vez, a resposta de congelamento do CRC apareceu sensível a medida de desamparo aprendido (Landeira-Fernandez e cols., 2006), indicando que o modelo CRC pode ser também um bom equipamento para induzir repostas de desamparo.

O sexto fator emergido nessa análise esteve relacionado a um tipo de ansiedade não aparente nas outras análises realizadas nesse trabalho. Trata-se da ansiedade aprendida, caracterizada pela re-exposição à latência de esquiva no LTE nos dois dias do modelo e da resposta de congelamento no CRC. Esse resultado corrobora com os achados da literatura da área que indicam o CRC como modelo de ansiedade aprendida e com o procedimento de re-exposição ao LTE para medir a resposta de esquiva (Cruz e cols., 1997, Graeff e cols., 1998; Carvalho-Netto & Nunes-de-Souza, 2004; Landeira-Fernandez e cols., 2006; Duzzioni e cols., 2008).

Já o último fator emergido nessa análise diz respeito à atividade locomotora, pois foi formado pelos cruzamentos de quadrantes no modelo de reconhecimento e pelo total de entradas nos braços fechados do LCE (Cruz e cols., 1994; Cruz e cols, 1997; Weiss, Wadsworth, Fletcher & Dourish, 1998).

Assim, os fatores emergidos nas três análises realizadas parecem convergir para alguns pontos relevantes: a) as medidas de ansiedade avaliadas nos modelos

LCE, LTE, transição claro-escuro e CRC não avaliam o mesmo tipo de resposta de ansiedade; b) a resposta de congelamento dos animais expostos ao CRC parece estar mais relacionada a um processo de desamparo aprendido do que a resposta de ansiedade; c) algumas medidas avaliadas nos modelos estão dependentes também das respostas locomotoras e vice-versa; d) as respostas de ansiedade aprendidas só foram significantes no peso de um fator exclusivo quando foram consideradas todas as medidas de teste e re-teste dos modelos; e) houve um claro efeito de tolerância de um ensaio para os modelos de, classicamente, exposição única (LCE e transição claro-escuro).

Considerando esses resultados, foi, então, necessária a avaliação individual de cada modelo nos dias de teste e re-teste para averiguar o efeito da re-exposição ao modelo. Os resultados obtidos (Tabela 4), por meio da análise fatorial, apontaram para medidas de locomoção no segundo fator formado pelas medidas do modelo de novidade, enquanto o primeiro fator emergiu por medidas de reconhecimento, confirmando a proposta desse modelo (Dias e cols., 2009; Ennaceur e cols., 2006; Ennaceur, 2010).

O segundo modelo avaliado foi o de transição claro-escuro e, conforme apontado anteriormente, a análise fatorial desse modelo apontou para a emergência de dois fatores variados em função do dia de exposição ao modelo (Tabela 5), confirmando o efeito de tolerância de ensaio do modelo (File, 1993).

Já o LCE foi avaliado de duas formas (Tabelas 6 e 7), por meio da análise fatorial, na primeira avaliação foram computadas apenas as medidas clássicas desse modelo. Nessa análise emergiram três fatores: um pesado pelas medidas de ansiedade (porcentagens de entrada e de permanência nos braços abertos) do

primeiro dia de exposição, outro com as mesmas medidas, mas do segundo dia do modelo e um terceiro fator com as medidas de locomoção (total de entradas nos braços fechados) dos dois dias de exposição. Esse resultado reproduz o efeito de tolerância descrito por File, conforme discutido, e ressalta um dado relevante que é a inalteração do comportamento motor (medida de locomoção) em função da re-exposição (Albrechet-Souza e cols., 2007).

Assim também quando foram consideradas as medidas etológicas, a análise fatorial dessas medidas não alterou o número de fatores emergidos. Desse modo, emergiram três fatores que também foram separados pelo dia de exposição (cada dia foi relevante para a formação de um fator diferente) e um terceiro fator emergiu para as medidas de locomoção (Weiss e cols., 1998). Vale ressaltar que nessa análise a medida de espreitar do primeiro dia pesou no primeiro e no terceiro fator e que, essa mesma medida do segundo dia de exposição, também pesou em dois fatores diferentes (no primeiro e no segundo fator). Esse efeito corrobora com os resultados obtidos no trabalho de Cruz e colaboradores (1994) que também indicaram que a medida de espreitar pesou na análise fatorial do modelo LCE em dois fatores diferentes, indicando a pouca confiabilidade dessa medida para indicar, sozinha, as repostas de ansiedade.

A análise fatorial do modelo LTE corroborou os resultados apontados por Torrejais e colaboradores (2008) no sentido de separar em fatores diferentes as medidas de esquiva e de fuga. Os resultados dessa análise vão ao encontro do exposto nos trabalhos da área que apontam a semelhança da latência de esquiva com repostas de medo e ansiedade presentes na exposição ao LCE e que a latência de fuga do LTE não se refere à ansiedade generalizada (Graeff, Vianna & Tomaz, 1993;

Graeff e cols., 1998). Contudo, ao contrário do proposto por Viana e colaboradores (1994), o presente trabalho não indicou a medida de fuga como fator diferenciado de outras respostas emocionais de ansiedade, mas sim como uma resposta relacionada ao reconhecimento do ambiente e às medidas locomotoras de exploração dos ambientes.

A análise fatorial do nado forçado indicou a emergência de dois fatores. Nesse caso, a análise de variância desse modelo foi bastante relevante, pois indicou que as respostas dos animais manifestadas nesse modelo no primeiro dia de exposição dizem respeito ao desespero comportamental (caracterizado pelo segundo fator emergido); enquanto o segundo dia esteve relacionado ao desamparo aprendido (primeiro fator). Esses resultados corroboram a diferenciação de desespero comportamental, que aparece imediatamente na exposição do animal (no primeiro dia), e desamparo aprendido, que se estabelece pela re-exposição à situação aversiva inescapável (Porsolt e cols., 1978; Porsolt e cols., 1979).

A análise fatorial do último modelo utilizado apresentou apenas um fator no qual as medidas de porcentagem de congelamento dos dois dias de exposição ao modelo pesaram de forma semelhante. Nesse caso, o resultado apenas indicou que a medida tomada no primeiro e no segundo dia dizem respeito ao mesmo fenômeno, mas interpretar esse achado se torna uma tarefa complexa à medida em que não se possui outros itens comparativos. Conforme afirmado anteriormente, a análise fatorial rotacionada por meio de uma varimax apenas indica os pesos de cada medida dentro de cada fator (Hair e cols., 2005), mas a avaliação de cada fator dependerá do agrupamento de medidas que foi montado e de como o pesquisador interpretará os resultados.

Seguindo essa ideia, esse trabalho delimitou o uso de modelos animais de categorias distintas de medida de forma intencional para possibilitar a avaliação de itens que pudessem estar concorrendo em dois fatores ao mesmo tempo e; portanto, não possibilitassem, quando analisados sozinhos, a predição de quaisquer conclusões específicas sobre determinadas emoções ou seus transtornos. Isso quer dizer que uma medida (por exemplo, o total de entradas nos braços fechados no LCE) pode carregar, concomitantemente, de forma positiva ou negativa, dois ou mais fatores distintos de um mesmo modelo animal (como foi verificado em resultado anterior, a medida de entradas nos braços fechados carregou um fator relativo a itens de locomoção e, ao mesmo tempo, outro fator foi correlacionado com medidas de ansiedade). Esses itens que pesam em mais de um fator (por exemplo, o comportamento de espreitar) indicam que aquela medida está relacionada a mais de uma habilidade ou resposta emocional. Nesse sentido, a análise fatorial tem se mostrado uma excelente ferramenta de investigação das medidas avaliadas nos modelos animais, pois ela fornece ao pesquisador evidências estatísticas da correlação entre as medidas observadas.

Essa discussão é corroborada por outras pesquisas que se utilizaram da análise fatorial para verificar a variância entre as medidas avaliadas de tal forma que puderam interpretar melhor os resultados das suas intervenções (Cruz e cols., 1994; Albrechet-Souza e cols., 2007; Ramos e cols., 2008, Torrejais e cols., 2008). Além da avaliação mais apurada das medidas avaliadas em um ou mais modelos animais, a análise fatorial contribuiu para a área possibilitando a avaliação do efeito de re-teste a modelos que previam exposição única (File e cols., 1993). Os resultados desse trabalho confirmam o fenômeno da tolerância de ensaio nos modelos do labirinto em

cruz elevado e na caixa de transição claro-escuro, conforme apontado na literatura (File, 1990; Rodgers & Shepherd, 1993; Dawson e cols., 1994). Isso significa que mais do que o efeito das respostas emocionais, os fatores gerados pela análise de cada modelo individualmente apresentou alteração em função da re-exposição. Por isso, torna-se fundamental a compreensão de que os modelos animais designados para medir respostas de ansiedade, possibilitam respostas diferenciadas dos animais em virtude da pré-exposição.

Esse resultado parece corroborar com a perspectiva de quatro fatores fundamentais para o disparo de respostas de antecipação do medo, designados por Jeffrey Gray. Através de estudos no Instituto de Psiquiatria de Londres, nos anos 60, esse pesquisador estabeleceu o constructo teórico, em sua primeira versão, que correlacionava a ansiedade à ativação do sistema de inibição comportamental (SIC). Segundo Gray (1982), esse sistema seria ativado a partir de uma classe de estímulos (tais como, sinais condicionados de punição, de frustração, de perigos inatos e estímulos ou situações novas). Posteriormente, Gray verificou que essa inibição ocorria em função da estimulação do sistema septo-hipocampal (formado pelas conexões noradrenérgica e serotoninérgica entre o septo e o hipocampo), para inibir alguns comportamentos. Assim, esse sistema seria ativado e, conseqüentemente, geraria a emoção conhecida como ansiedade a partir das quatro classes de estímulos (Graeff & Hetem, 2004, Cruz & Landeira-Fernandez, 2007).

Dessa forma, estímulos que produzem respostas inatas e condicionadas de medo, novidade e sinais de frustração ativariam o SIC. Esse, por sua vez, ao ser ativado, promoveria a inibição de comportamentos, ou seja, produziria a “ansiedade”. Nesses casos, o sujeito passaria a um estado de níveis de alerta e

atenção mais altos (Gray, 1982), mas esse nível seria alterado, então, em função da retirada do fator “novidade” da situação aversiva (Rodgers & Shepherd, 1993).

Dessa forma, no que diz respeito à ansiedade e às emoções relacionadas, tal como o medo, pode-se dizer que as raízes biológicas estão arraigadas nas reações de defesa dos mamíferos. Seguindo esse pensamento, é possível acreditar que o sistema cerebral de defesa e o sistema de inibição comportamental atuam de modo complementar (Brandão, 2001, p. 137-138), conforme pode ser verificado nos resultados apresentados pelas três primeiras tabelas (da interação entre os modelos).

Assim como na primeira análise das variáveis dos modelos, os comportamentos de baixa ou alta ansiedade caracterizados nos diferentes fatores podem corroborar a hipótese de que o re-teste ao modelo de exposição única é crucial para a formação de um novo fator (File, 1990; Rodgers & Shepherd, 1993; Dawson e cols., 1994). Nesse sentido é correto afirmar que, ainda que distintos, todos os fatores em uma análise para avaliar o efeito da tolerância ao ensaio estão de alguma forma carregados por índices de ansiedade, como os comportamentos de avaliação de risco ou os emergidos na presença do estímulo aversivo (Dias e cols., 2009).

Ao que tudo indica, então, File (1990) não estava equivocada quando apontou a diferença do uso de medicamentos ansiolíticos nos dois dias de exposição ao modelo, mas é preciso ressaltar que, na verdade, o que não se deve estar medindo na segunda exposição ao modelo é a questão da resposta do animal frente ao contexto de aversividade da novidade, conforme discutido. Outros autores consideram que esse padrão alterado de resposta, em função da exposição prévia ao LCE, geraria, na verdade, habituação (Dawson e cols., 1994). Isso quer dizer que, além de ser um

modelo sensível à exposição prévia, há uma alteração considerável na exploração do aparato do primeiro para o segundo dia, aparentemente eliminando o conflito previamente detectado (Zangrossi & Graeff, 2004; Rodgers & Shepherd, 1993).

Além desse efeito de tolerância ao ensaio, os resultados desse trabalho apontaram também para interações interessantes entre as medidas obtidas pelos modelos; a exemplo disso, pode-se observar que as medidas obtidas no NF apresentaram variância semelhante à medida de congelamento do CRC. Isso aponta não só para uma boa validade do NF para avaliação de comportamentos relativos à depressão/desamparo aprendido, conforme apontado em diversos estudos (Porsolt e cols., 1977; Porsolt e cols., 1978; Porsolt e cols., 1979; Willner, 1984, Willner, 1991, Andreatini & Bacellar, 1999; Ciulla e cols., 2007), mas especialmente para a discussão do modelo de condicionamento de resposta de congelamento.

Os resultados desse trabalho sugerem, ainda, que a resposta de congelamento pode ser assemelhada à resposta de desistência do nado no NF (Tabelas 1 e 2) pelo comportamento de avaliação de risco eliciado por ambientes naturalmente ansiogênicos, condicionados por uma história aversiva prévia (Cryan & Lucki, 2000). Contudo, na análise de todas as medidas obtidas nos dois dias de exposição aos modelos (Tabela 3), revelou também a variância semelhante dessa resposta de congelamento com o comportamento de esquiva no LTE, sugerindo uma resposta de avaliação de risco ou de ansiedade, estabelecida por condicionamento (Landeira-Fernandez e cols., 2006). Assim, o condicionamento aversivo que pode ser estabelecido por esses modelos (LTE e CRC) é o que mais se aproxima das respostas de medo e ansiedade em humanos relacionada a uma história aversiva prévia (Lissek

e cols., 2005; Brandão, Zanovelli, Ruiz-Martinez, Oliveira & Landeira Fernandez, 2008; Dias e cols, 2009).

Esses resultados com modelos que pressupunham aprendizagem apenas reforçam e são reforçados pela perspectiva de que funções básicas como memória e locomoção estão presentes e são necessárias para a desenvoltura de modelos animais (Weiss e cols., 1998). Contudo, os resultados apontaram que, mesmo que se validem de processos de reconhecimento do ambiente (Ennaceur e cols., 2006), as respostas dos animais expostos aos modelos de ansiedade e depressão não são respostas de reconhecimento do ambiente, mas sim dos respondentes eliciados em cada um dos modelos (Silva e cols., 2005). Esse dado é relevante porque a medida em que se utiliza um modelo animal que possibilita a medição de outros itens e que eles não se confundem com outros modelos (de ansiedade ou de depressão), também se está definindo melhor a gama de comportamentos que podem ser utilizados para avaliar cada fator. Esse pensamento reflete a discussão sobre o princípio polar na definição conceitual de termos na psicologia (Ryle, 1949/1980); ou seja, definir fatores, comportamentos ou medidas específicos de uma emoção, auxilia o processo de definição também de outros processos básicos não relacionados.

Dessa forma, a interação entre modelos animais que tenham pressupostos diferenciados é de fundamental importância para avaliar determinados fenômenos mais complexos como as diversas facetas de uma emoção e de seus transtornos psiquiátricos, pois há interação entre algumas medidas, para mais de um fator, que representam mais de um fenômeno. Ademais, o fato de haver alteração no padrão comportamental entre as medidas do primeiro em relação às mesmas medidas do

segundo dia de modelos de ansiedade revela a participação fundamental da interação bidirecional apontada por Cruz e Landeira-Fernandez (2007).

Do ponto de vista das emoções, para a neurobiologia os fundamentos dessa bidirecionalidade estão datados desde os estudos de Darwin sobre o caráter evolutivo emocional do homem, especialmente ao que se refere a emoções básicas como medo e ansiedade (Darwin, 1872/2000). Dessa forma, todas as espécies possuiriam uma capacidade adaptativa, o que garantiria sua sobrevivência e certa seleção natural, pois apenas os mais susceptíveis à adaptação conseguiriam vencer as adversidades das diferentes estimulações e modificações ambientais (Brandão, Vianna, Masson & Santos, 2003). Os animais se adaptariam às variações do ambiente e, para tanto, precisariam ser sensíveis aos eventos que ocorrem ao seu redor, respondendo a relações temporais, espaciais e preditivas entre estes eventos. Isso significa que a elaboração de Darwin ainda no século XIX já indicava um caminho para o estudo sobre as emoções dos animais. Inclusive, após esse “pontapé” inicial de Darwin, foi possível ser descrito o denominado ‘sistema cerebral de defesa’ que se refere a repertórios emocionais em animais (especialmente os humanos) desenvolvidos em decorrência de pressões evolutivas (LeDoux, 1993).

Desse modo, os modelos animais estariam em conformidade com essa ideia de que as respostas observadas podem refletir relativamente as respostas mais complexas dos humanos e são também passíveis de intervenções adversas. Naughton e Zangrossi, 2008) afirmam que uma emoção pode não ser uma entidade singular dentro de um organismo; e, se isso for verdade, será preciso o uso de múltiplos modelos animais para que cada um permita acessar aspectos independentes de uma emoção. Isso significa que o futuro das pesquisas nessa área estará cada vez mais

ligado ao uso de uma bateria ou sequência de modelos nos quais o mesmo animal será submetido para que, por meio da análise fatorial, os fatores emergentes possam ser compostos de itens ou comportamentos que se referem a um mesmo fenômeno.

Nesse sentido, a exposição a uma bateria de modelos animais desse trabalho possibilitou não só a análise de todos os dados (Tabela 3), mas principalmente a avaliação do efeito da interação entre esses modelos (Tabelas 1 e 2). Os resultados indicaram que o modelo do Labirinto em Cruz Elevado é adequado para avaliação de comportamentos relacionados à ansiedade generalizada, porém sensível à pré-exposição. Nesse mesmo sentido, o modelo do Labirinto em T Elevado parece também ser um importante aparato para medição de respostas de ansiedade através da medida da latência de esquivas, mas não das respostas de fuga. Essa medida (latência de fuga) parece estar mais relacionada com respostas locomotoras ou com reconhecimento do ambiente. E o modelo de transição claro-escuro parece ser avaliado por medidas de respostas de ansiedade que não se relacionam com o LCE, mas também dizem respeito a um padrão defensivo apresentado diante de estímulos aversivos que eliciam respostas inatas (Zangrossi & Graeff, 2004).

A contribuição desse trabalho, obviamente, levou em consideração a limitação da extrapolação entre os achados no experimento e a complexidade das emoções humanas e seus diversos transtornos mentais, mas de qualquer forma, apresentou uma possibilidade robusta de avaliação das medidas obtidas nos diferentes modelos animais de ansiedade, depressão e reconhecimento. Sabe-se que o uso de modelos animais está limitado a alguns poucos fatores comportamentais observáveis que cada modelo fornecerá, mesmo sem satisfazer todos os critérios de validação para uma real transição e comparação com os fenômenos humanos.

Além disso, para investigações futuras sugere-se a utilização de medicamentos que possam alterar o padrão comportamental, para que as análises realizadas possam contar com mais uma variável independente. Ademais, experimentos vindouros devem também considerar um número maior de sujeitos para que a análise estatística a ser ampliada possa se valer de mais itens com um índice de fatorabilidade ideal. Indica-se, por fim, que novas pesquisas sejam realizadas com outros modelos animais ou com outras sequências possíveis entre os modelos utilizados.

## REFERÊNCIAS

- Albrechet-Souza, L., Carvalho, M. C., Franci, C. R., & Brandão, M. L. (2007). Increases in plasma corticosterone and stretched-attend posture in rats naive and previously exposed to the elevated plus-maze are sensitive to the anxiolytic-like effects of midazolam. *Hormones and Behavior*, 52, 267-273.
- Alves, S. H. (2005). *Envolvimento diferenciado do hipocampo ventral e dorsal na modulação de estados de ansiedade induzidos por agonistas e antagonistas de receptores serotoninérgicos 5-HT<sub>2</sub>*. Tese de Doutorado, Universidade de Brasília, Brasília.
- Andreatini, R. (2002). A importância dos modelos animais em psiquiatria. *Revista Brasileira de Psiquiatria*, 24(4), 164.
- Andreatini, R., & Bacellar, L. F. S. (1999). The relationship between anxiety and depression in animal models: a study using the forced swimming test and elevated plus-maze. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 32, 1121-1126.
- Andreatini, R., Boerngen-Lacerda, R., & Vital, M. A. B. F. (2006). Modelos Animais em Psicofarmacologia. Em: R. N. de Almeida (org.), *Psicofarmacologia: fundamentos práticos*. (pp. 53-61). Rio de Janeiro: Guanabara Koogan.
- Bandler, R., & Depaulis, A. (1991). Midbrain periaqueductal gray control of defensive behaviour in the cat and in the rat. Em: Depaulis A., & Bandler E. (eds.). *The midbrain periaqueductal gray matter* (pp. 177-198). New York: Plenum.

- Barret, J. E., & Vancouver, K. E. (1993). 5-HT receptors as targets for the development of novel anxiolytic drugs, models, mechanisms and future directions. *Psychopharmacology*, *112*, 1-12.
- Baxter, D. A., & Byrne, J. H. (2006). Feeding behavior of *Aplysia*: a model system for comparing cellular mechanisms of classical and operant conditioning. *Learning & Memory*, *13*, 669-680.
- Belzung, C., & Griebel, G. (2001). Measuring normal and pathological anxiety-like behavior in mice: a review. *Behavioural Brain Research*, *125*, 141-149.
- Blanchard D. C., & Blanchard R. J. (1988). Ethoexperimental approaches to the biology of emotion. *Annual Reviews of Psychology*, *39*, 43-68.
- Blanchard R. J., Yudko, E.B., Rodgers, R. J., & Blanchard D. C. (1993). Defense system psychopharmacology: an ethological approach to the pharmacology of fear and anxiety. *Behavioral Brain Research*, *58*, 155-166.
- Blanchard, D. C., Griebel, G., & Blanchard, R. J. (2001). Mouse defensive behaviors: pharmacological and behavioral assays for anxiety and panic. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, *25*, 205-218.
- Blanchard, R. J., Blanchard, D. C., Griebel, G., & Nutt, D. (2008). Introduction to the handbook on fear and anxiety. Em: R. J. Blanchard, D. C. Blanchard, G. Griebel, & D. Nutt (Eds.), *Handbook of anxiety and fear* (V. 17, pp. 3-7). Amsterdam: Elsevier.
- Blizard, D. A., Takahashi, A., Galsworthy, M. I., Martin, B., & Koide, T. (2007). Test standardization in behavioural neuroscience: a response to Stanford. *Journal of Psychopharmacology*, *21*, 136-139.

- Boergen-Lacerda, R., & Souza-Formigoni, M. L. (2000). Does the increase in locomotion induced by ethanol indicate its stimulant or anxiolytic properties? *Pharmacological Biochemistry Behavioural*, 67, 225-232.
- Bourin, M. (1997). Animal models of anxiety: are they suitable for predicting drug action in humans? *Polish Journal of Pharmacology*, 49, 79-84.
- Brandão, M. L. (2001). Comportamento Emocional. Em: *Psicofisiologia* (pp. 125-149). 2ª. ed. São Paulo: Editora Atheneu.
- Brandão, M. L., Zanovelli, J. M., Ruiz-Martinez, R. C. R., Oliveira, L. C., & Landeira Fernandez, J. (2008). Different patterns of freezing behavior organized in the periaqueductal Gray of rats: association with different types of anxiety. *Behavioural Brain Research*, 188, 1-13.
- Brandão, M.L., Vianna, D.M., Masson, S., & Santos, J. (2003). Organização neural de diferentes tipos de medo e suas implicações na ansiedade. *Revista Brasileira de Psiquiatria*, 25(Supl II), 36-41.
- Brotto, L. A., Barr, A. M., & Gorzalka, B. B. (2000). Sex differences in forced-swim and open-field test behaviours after chronic administration of melatonin. *European Journal of Pharmacology*, 402, 87-93
- Brotto, L. A., Gorzalka, B. B., & Barr, A. M. (2001). Paradoxical effects of chronic corticosterona on forced swim behaviours in aged male and female rats. *European Journal of Pharmacology*, 424, 403-409.
- Campbell, D. T., & Fiske, D. W. (1959). Convergent and discriminat validity by the multitrait-multimethod matrix. *Psychological Bulletin*, 56, 81-105.

- Cao, B. J., & Rodgers, R. J. (1997). Influence of 5-HT<sub>1A</sub> receptor antagonism on plus maze behavior in mice II WAY 100635, SDZ 216-525 and NAN 190. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 58, 593-603.
- Carobrez, A. P., & Bertoglio, L. J. (2005). Ethological and temporal analyses of anxiety-like behavior: the elevated plus-maze model 20 year on. *Neuroscience and Biobehavioral Review*, 29, 1193-1205.
- Carvalho-Netto, E.F., & Nunes-de-Souza, R. L. (2004). Use of the elevated T-maze to study anxiety in mice. *Behavioural Brain Research*, 148, 119-132.
- Ciulla, L. Menezes, H., S., Bueno, B. B. M., Schuh, A., Alves, R. J., & Abegg, M. P. (2007). Antidepressant behavioral effects of duloxetine and fluoxetine in the rat forced swimming test. *Acta Cirúrgica Brasileira*, 22(5), 351-354.
- Costall, B., Jones, B. J., Kelly, M. E., Naylor, R. J., & Tomkins, D. M. (1989). Exploration of mice in a black and white test box: Validation as a model of anxiety. *Pharmacological Biochemistry Behavioral*, 32, 777-785.
- Crawley, J.N., & Goodwin, F.K. (1980). Preliminary report of a simple animal behavior model for the anxiolytic effects of benzodiazepines. *Pharmacology Biochemistry Behavioral*, 13, 167-170.
- Cruz, A. P. M., & Landeira-Fernandez, J. (2001). A ciência do medo e da dor. *Ciência Hoje*, 29(174), 16-23.
- Cruz, A. P. M., & Landeira-Fernandez, J. (2007). Por uma Psicologia baseada em um cérebro em transformação. Em: J. Landeira-Fernandez, & M. T. A. Silva (orgs), *Intersecções entre Psicologia e Neurociências* (pp 1-15). Rio de Janeiro: MedBook.

- Cruz, A. P. M., Frei, F., & Graeff, F. G. (1994). Ethopharmacological analysis of rat behavior on the elevated plus-maze. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 49(1), 171-176.
- Cruz, A. P. M., Zangrossi, H., Graeff, F. G., & Landeira-Fernandez, J. (1997). Modelos animais de ansiedade: implicações para a seleção de drogas ansiolíticas. *Psicologia: Teoria e Pesquisa*, 13(3), 269-278.
- Cruz, A. P. M., Zangrossi, H., & Graeff, F. G. (1995). Psicobiologia da ansiedade. Em: B. P. Rangé, (org), *Psicoterapia comportamental e cognitiva: pesquisa, prática, aplicações e problemas* (pp. 301-312). Campinas: Editorial Psy.
- Cryan, J. F., & Lucki, I. (2000). 5-HT<sub>4</sub> receptors do not mediate the antidepressant-like behavioral effects of fluoxetine in a modified forced swim test. *European Journal of Pharmacology*, 409, 295-299.
- Cryan, J. F., Holmes, A. (2005). The ascent of mouse: advances in modeling human depression and anxiety. *Nature Reviews Drug Discovery*, 4, 775-790.
- Darwin, C. (1882/2000). *A expressão das emoções nos homens e nos animais*. São Paulo: Companhia das Letras (reimpresso, 2000).
- Davis, M. (1986). Pharmacology and anatomical analysis of fear conditioning using the fear-potentiated startle paradigm. *Behavioral Neuroscience*, 100, 814-824.
- Dawson, G. R., Crawford, S. P., Stanhope, K. J., Iversen, S. D., & Tricklebank, M. D. (1994). One-trial tolerance to the effects of chlordiazepoxide on the elevated plus-maze may be due to locomotor habituation, not repeated drug exposure. *Psychopharmacology*, 113, 570-572.

- Dectke, M. J., Wieland, S., & Lucki, I. (1995). Blockade of the antidepressant-like effects of 8-OH-DPAT, buspirone and desipramine in the rat forced swim test by 5HT<sub>1A</sub> receptor antagonists. *Psychopharmacology*, *119*, 47-54.
- Dias, G. P., Bevilacqua, M. C. N., Silveira, A. C. D.; Landeira-Fernandez, J.; & Gardino, P. F. (2009). Behavioral profile and dorsal hippocampal cells in cavioca high-conditioned freezing rats. *Behavioural Brain Research*, 10.1016/j.bbr.2009.06.038.
- Dourish, C. T., Grewal, S. S., Shepherd, J. K., Stanhope, K. J., Bill, D. J., & Fletcher, A. (1995). Benefits of ethological analysis of behaviour. *TIPS*, *16*, 260-261.
- Dractu, L., & Lader, M. (1993). Ansiedade: conceito, classificação e biologia. *Jornal Brasileiro de Psiquiatria*, *42* (1), 19-32.
- Duzzioni, M., Calixto, A. V., Duarte, F., S., De Lima, T. C. M. (2008). Modulation of anxiety in rats evaluated in the elevated T-maze: evidence of the relationship between substance P and diazepam. *Behavioural Brain Research*, *187*, 140-145.
- Einat, H., Clenet, F., Shaldubina, A., Belmaker, R. H., & Bourin, M. (2001). The antidepressant activity of inositol in the forced swim test involves 5-HT<sub>2</sub> receptors. *Behavioral Brain Research*, *118*, 77-83.
- Ennaceur, A. (2010). One-trial object recognition in rats and mice: methodological and theoretical issues. *Behavioural Brain Research*, 10.1016/j.bbr.2009.12.036.
- Ennaceur, A., Michalikova, S., & Chazot, P. L. (2006). Models of anxiety: responses of rats to novelty in an open space and an enclosed space. *Behavioural Brain Research*, *171*, 26-49.
- Fendt, M., & Fanselow, M. S. (1999). The neuroanatomical and neurochemical basis of conditioned fear. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, *23*, 743-760.

- File, S. E. (1990). One trial tolerance to the anxiolytic effects of chlordiazepoxide in the plus-maze. *Psychopharmacology*, *100*, 281-282.
- File, S. E., & Andrews, N. (1991). Low but not high doses of buspirone reduces the anxiogenic effects of diazepam withdrawal. *Psychopharmacology*, *105*, 578-582.
- File, S. E., Zangrossi, H., Viana, M., & Graeff, F. G. (1993). Trial 2 in the elevated plus-maze: a different form of fear? *Psychopharmacology*, *111*, 491-494.
- Geyer, M. A., & Markou, A. (2000). Animal models of psychiatric disorders. *Neuropsychopharmacology: the fifth generation of progress*.
- Gomes, F. M. S. R. (2009). Efeitos ansiogênicos e antidepressivos da ativação farmacológica aguda dos receptores 5-HT<sub>2C</sub> em modelos animais de ansiedade e depressão. Dissertação de Mestrado, Universidade de Brasília, Brasília.
- Graeff, F. G. (1989). Ansiolíticos. Em: *Drogas Psicotrópicas e Seu Modo de Ação* (pp 61-84). São Paulo: E.P.U.
- Graeff, F. G. (1999). Bases psicológicas. Em: F.G. Graeff & F. S. Guimarães (Eds.), *Fundamentos de Psicofarmacologia* (pp. 43-52). São Paulo: Atheneu.
- Graeff, F. G., & Brandão, M. L. (1999). *Neurobiologia das doenças mentais*. São Paulo: Lemos Editorial.
- Graeff, F. G., & Hetem, L. A. (2004). Neurobiologia. Em: L. A. Hetem, & F. G. Graeff (Eds.), *Transtornos de Ansiedade*. (pp. 107-132). São Paulo: Atheneu.
- Graeff, F. G., Netto, C. F., & Zangrossi, H. Jr. (1998). The elevated T maze as an experimental model of anxiety. *Neuroscience and Biobehavioral Review*, *23*, 237-246.

- Graeff, F. G., Vianna, M. B., & Tomaz, C. (1993). The elevated T maze, a new experimental model of anxiety and memory: effects of diazepam. *Brazilian Journal Medical and Biological Research*, 26, 67-70.
- Gray, J. A. (1982). *The neuropsychology of anxiety: an enquiry in to the functions of the septo-hippocampal system*. Oxford: Oxford University Press.
- Gray, J. A., & McNaughton, N. (2000). *The Neuropsychology of Anxiety*. Oxford: Oxford University Press.
- Griebel, G., Rodgers, R. J., Perrault, G., & Sanger, D. J. (1997). A comparative study of the effects of selective and non-selective 5-HT<sub>2</sub> receptor subtype antagonists in rat and mouse models of anxiety. *Neuropharmacology*, 36(6), 793-802.
- Guimarães, F. S. (1993). Modelos experimentais de doenças mentais. *Revista Brasileira de Psiquiatria (ABP-APAL)*, 15(4), 149-152.
- Hair, J. F., Anderson, R. E., Tatham, R. L., & Back, W. C. (2005). Análise multivariada de dados. 5ª edição. São Paulo: Editora Bookman.
- Handley, S. L., & McBlane, J. W. (1993). 5-HT drugs in animal models of anxiety. *Psychopharmacology*, 112, 13-20.
- Hill, M. N., Brotto, L. A., Lee, T. T. Y., & Gorzalka, B.B. (2003). Corticosterone attenuates the antidepressant-like effects elicited by melatonin in the forced swim test in both male and female rats. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*, 27, 905 – 911.
- Ho, Y. J., Pawlak, C. R., Guob, L., & Schwarting, R. K. W. (2003). Acute and long-term consequences of single MDMA administration in relation to individual anxiety levels in the rat. *Behavioral Brain Research*.

- Hoplight, B. J., Vincow, E. S., & Neumaier, J. F. (2005). The effects of SB 224289 on anxiety and cocaine-related behaviors in a novel object task. *Physiology & Behavior, 84*, 707-714.
- Kallueff, A. V., Wheaton, M., & Murphy, D. I. (2007). What's wrong with my mouse model? Advances and strategies in animal modeling of anxiety and depression. *Behavior and Brain Research, 179*, 1-18.
- Kerlinger, F. N. (1980). *Metodologia da pesquisa em ciências sociais*. São Paulo: EPU.
- Kerlinger, F. N. (1986). *Foundations of Behavioral Research: Educational and Psychological Inquiry*. New York: John Wiley.
- Kitamura, Y., A., & Gomita, Y. (2002). Influence of ACTH on the effects of imipramine, desipramine and lithium on duration of immobility of rats in the forced swim test. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior, 71*, 63– 69.
- Kolb, B., & Whishaw, I. Q. (1998). Brain plasticity and behavior. *Annual Review of Psychology, 49*, 43-64.
- Koob, G. F., Hiinrichs, S. C., & Britton, K. (1998). Animal models of anxiety disorders. Em: A. F. Schatzberg e C. B. Nemeroff (eds.). *Psychopharmacology* (pp. 133-144), Washington: American Psychiatric Press.
- Landeira-Fernandez, J., Cruz, A. P. M., & Brandão, M. L. (2006). Padrões de respostas defensivas de congelamento associados a diferentes transtornos de ansiedade. *Psicologia USP, 17* (4), 175-192.
- Le Doux, J. (1998). Fear and the brain: where have we been, and where are we going? *Biological Psychiatry, 44*, 1229-1238.

- LeDoux, J. (1993). Emotion memory systems in the brain. *Behavioural Brain Research*, 58, 68-79.
- Lissek, S., Powers, A. S., McClure, E. B., Phelps, E. A., Woldehawariat, G., Grillon, C., & Pine, D. (2005). Classical fear conditioning in the anxiety disorders: meta-analysis. *Behaviour Research and Therapy*, 43, 1391-1424.
- Lister, R. G. (1990). Ethologically based animal models of anxiety disorders. *Pharmacological Therapy*, 46, 321-340.
- Martin, P. (1998). Animal models sensitive to anti-anxiety agents. *Acta Psychiatria Scandinavica*, 98(Suppl. 393), 74-80.
- McKinney Jr, W. T (2000). Animal research and its relevance to psychiatry. Em: Sadock BJ, Sadock VA (Eds). *Kaplan & Sadock's comprehensive textbook of Psychiatry* (pp. 545-562). Baltimore: Lippincott & Williams.
- Menard, J., & Treit, D. (1999). Effects of centrally administered anxiolytic compounds in animal models of anxiety. *Neuroscience Biobehavioral Reviews*, 23, 591-613.
- Mercier, S., Frédéric, Canini, Buguet, A., Cespuglio, R., Martin, S., & Bourdon, L. (2003). Behavioural changes after an acute stress: stressor and test types influences. *Behavioral Brain Research*, 139, 167-175.
- Millan, M. J. (2003). The neurobiology and control of anxious states. *Progress in Neurobiology*, 70, 83-244.
- Naughton, N., & Zangrossi, H. (2008). Theoretical approaches to the modeling of anxiety in animals. Em: R. J. Blanchard, D. C. Blanchard, G. Griebel, & D. Nutt (Eds). *Handbook of anxiety and fear* (pp. 11-28). Vol. 17. Netherlands: Elsevier.

- Ohl, F. (2003). Testing for anxiety. *Clinical Neuroscience Research*, 3, 233-238.
- Oliveira, C. E. N., Salina, M. E., & Annunziato, N. F. (2001). Fatores ambientais que influenciam o SNC. *Acta Fisiatrica*, 8(1), 6-13.
- Papp, M., & Wieronska, J. (2000). Antidepressant-like activity of amisulpride in two animal models of depression. *Journal of Psychopharmacology*, 14, (1), 46–52.
- Pellow, S., Chopin, P., File, S. E., & Briley, M. (1985). Validation of open: closed arm entries in the elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. *Journal of Neuroscience Methods*, 14, 149-167.
- Porsolt, R. D., Bertin, A., & Jalfre, M. (1978). “Behavioural despair” in rats and mice: strain differences and the effects of imipramine. *European Journal of Pharmacology*, 51, 291-294.
- Porsolt, R. D., Bertin, A., Blavet, M. D., & Jalfre, M. (1979). Immobility induced by forced swimming in rats: effects of agents which modify central catecholamine and serotonin activity. *European Journal of Pharmacology*, 57, 201-210.
- Porsolt, R. M., & Lenegre, A. (1992). Behavioral models of depression. Em J. M. Elliot, D. J. Heal, C. A. Marsden (Eds.), *Experimental approaches to anxiety and depression* (pp. 73-85). New York: Wiley.
- Porsolt, R. M., Le Pichon, M., & Jalfre, M. (1977). Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments. *Nature*, 266, 730.
- Ramos, A., Berton, O., Mormede, P., & Chaouloff, F. (1997). A multiple-test study of anxiety-related behaviours in six inbred rats strains. *Behavioural Brain Research*, 85, 57-69.
- Ramos, A., Pereira, E., Martins, G. C., Wehrmeister, T. D., & Izidio, G. S. (2008). Integrating the open field, elevated plus maze and light/dark box to assess

- different types of emotional behaviors in one single trial. *Behavioural Brain Research*, 193, 277-288.
- Rodgers, R. J., & Cole, J. C. (1994). The elevated plus-maze: Pharmacology, methodology and ethology. *Ethology and Psychopharmacology*, 9-44.
- Rodgers, R. J., & Johnson, N. J. T. (1995). Factor analysis of spationtemporal and ethological measures in the murine elevated plus-maze test of anxiety. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 52, 297-303.
- Rodgers, R. J., & Shepherd, J. K. (1993) Influence of prior maze experience on behavior and responses to diazepam in the elevated plus-maze and light/dark tests of anxiety in mice. *Psychopharmacology*, 113, 237-242.
- Rodgers, R. J., Cao, B. J., Dalvi, A., & Holmes, A. (1997). Animal models of anxiety: An ethological perspective. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 30 (3), 289-304.
- Ryle, G. (1949/1980). *The concept of mind*. England: Penguin Books.
- Sáenz, J. C. B., Villagra, O. R., & Trías, J. F. (2006). Factor analysis of forced swimming test, sucrose preference test and open field test on enriched, social and isolated reared rats. *Behavioural Brain Research*, 169, 57-65.
- Salviano, M. (2008). Efeitos da ipsapirona em ratos selecionados para altos e baixos índices de congelamento condicionado. Dissertação de Mestrado, Universidade de Brasília, Brasília.
- Santos, L. F. (2005). Efeitos ansiolíticos de um novo antagonista serotoninérgico avaliados em dois modelos animais de ansiedade. . Dissertação de Mestrado, Universidade de Brasília, Brasília.

- Schimdt, M.V., & Müller, M.B. (2006). Animal models of anxiety. *Drug Discovery Today: Disease Models*, 3(4), 369-374.
- Silva, M. T. A., Guerra, L. G. G. C., & Alves, C. R. R. (2005). Modelos comportamentais em neurociências. *Revista Brasileira de Análise do Comportamento*, 1(1), 7-14.
- Skinner, B. F. (1972/1999). What is psychotic behavior? Em: B. F. Skinner (ed.), *Cumulative Record* (pp. 303-321). Acton: Copley.
- Smythe, J.W., Bhatnagar, S., Murphy, D., Timophy, C., & Costall, B. (1998). The effects of Intrahippocampal Scopolamine infusions on anxiety in rats as measured by the Black-white Box test. *Brain Research Bulletin*, 45(1), 89-93.
- Staay, F. J. V.D. (2006). Animal models of behavioral dysfunction: Basic concepts and classifications, and an evaluation strategy. *Brain Research Reviews*, 52, 131-159.
- Teixeira, R. C., Zangrossi, H., & Graeff, F. G. (2000). Behavioral effects of acute and chronic imipramine in the Elevated T-maze model of anxiety. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 65 (4), 571-576.
- Torrejais, J. C. M., Rosa, C. C., Boergen-Lacerda, R., & Andreatini, R. (2008). The elevated T-maze as a mesure of two types of defensiv reactions: a factor analysis. *Brain Research Bulletin*, 76, 376-379.
- Treit, D. (1985). Animal models for the study of anti-anxiety agents: a review. *Neuroscience Biobehavioral Reviews*, 9, 203-222.
- Treit, D. (1991). Anxiolitic effects of benzodiazepines and 5-HT<sub>1A</sub> agonists: animal models. Em: Rodgers, R. J., & Cooper, S. J. (orgs.). *5-HT<sub>1A</sub> agonists, 5-HT<sub>3</sub>*

- antagonists and benzodiazepines: Their comparative behavioural pharmacology* (pp. 107-131). Chichester: John Wiley and Sons.
- Vargas, K. M., Da Cunha, C., & Andreatini, R. (2006). Amphetamine and pentylenetetrazole given post-trial 1 enhance one-trial tolerance to the anxiolytic effect of diazepam in the elevated plus-maze in mice. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, *30*, 1394-1402.
- Viana, M. B., Tomaz, C., & Graeff, F. G. (1994). The elevated T-maze: a new animal model of anxiety and memory. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, *49* (3), 549-554.
- Weiss, J. M., & Kilts, C. D. (1998). Animal models of depression and schizophrenia. Em A. F. Schatzberg & C. B. Nemeroff (Eds.), *The American Psychiatry Press textbook of psychopharmacology* (pp. 89-131). Washington: The American Psychiatry Press.
- Weiss, S. M., Wadsworth, G. Fletcher, A., Dourisch, C. T. (1998). Utility of ethological analysis to overcome locomotor confounds in the elevated maze models of anxiety. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, *23*, 265-271.
- Willner, P. (1984). The validity of animal models of depression. *Psychopharmacology*, *83*, 1-16.
- Willner, P. (1991). Animal models as simulations do depression. *Trends in Pharmacological Sciences*, *12*, 131-136.
- Zangrossi, H. J., & Graeff, F. G. (2004). Modelos animais. Em: L. A. Hetem, & F. G. Graeff (Eds.), *Transtornos de Ansiedade*. (pp. 55-74). São Paulo: Atheneu.