



Talita da Silva Clerc de Freitas

**Caracterização Comportamental dos
Ratos Cariocas com Baixo
Congelamento: Uma Avaliação de um
Potencial Modelo de TDAH**

Dissertação de Mestrado

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

Orientador: Prof. Thomas Eichenberg Krahe

Rio de Janeiro,
abril de 2024



Talita da Silva Clerc de Freitas

**Caracterização Comportamental dos
Ratos Cariocas com Baixo
Congelamento: Uma Avaliação de um
Potencial Modelo de TDAH**

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

Prof. Thomas Eichenberg Krahe

Orientador

Departamento de Psicologia - PUC-Rio

Profa. Cátia Martins Leite Padilha

Departamento de Psicologia - PUC-Rio

Profa. Cláudio Carneiro Filgueiras

Universidade Estadual do Rio de Janeiro - UERJ

Rio de Janeiro, 02 de abril de 2024.

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

Talita da Silva Clerc de Freitas

Graduou-se em Psicologia pela PUC-Rio em 2021. Fez especialização em *Accelerated Experiential Dynamic Psychotherapy* no Instituto AEDP Brasil em 2022. É pesquisadora no grupo de pesquisa LANEK na PUC-Rio. Atua como psicóloga clínica desde 2022 e é consultora e palestrante na área de psicologia organizacional.

Ficha Catalográfica

Freitas, Talita da Silva Clerc de

Caracterização comportamental dos ratos cariocas com baixo congelamento : uma avaliação de um potencial modelo de TDAH / Talita da Silva Clerc de Freitas ; orientador: Thomas Eichenberg Krahe. – 2024.

106 f. : il. color. ; 30 cm

Dissertação (mestrado)—Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro, Departamento de Psicologia, 2024.

Inclui bibliografia

1. Psicologia – Teses. 2. Modelo animal. 3. Rearing. 4. Grooming. 5. Ansiedade. 6. TDAH. I. Krahe, Thomas Eichenberg. II. Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro. Departamento de Psicologia. III. Título.

CDD: 150

CDD: 150

“Não fui eu que ordenei a você? Seja forte e corajoso! Não se apavore nem desanime, pois o Senhor, o seu Deus, estará com você por onde você andar.”

(Josué 1, 9)

AGRADECIMENTOS

Agradeço, em primeiro lugar, a Deus, Autor da Vida, Aquele que tudo conhece, tudo vê e acima de tudo nos ama. Ele que é meu tudo e me acompanhou nas horas mais sombrias e nas mais alegres e me deu força e ânimo para concluir esse sonho que é o mestrado, graças à sua infinita Misericórdia.

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

Aos meus amados pais, Luiz e Conceição, por todo amor, cuidado e dedicação e carinho que transbordam todos os dias de minha vida. Honestamente, me faltam palavras para dizer a quão grata eu sou a vocês. Obrigada por acreditarem em mim até quando nem eu conseguia. Obrigada por serem os meus maiores fãs e incentivadores desde sempre. Obrigada por tudo ainda é pouco. Tudo isso é e sempre será para honrar e alegrar vocês. Eu amo infinitamente vocês.

À minha irmã e melhor amiga que sempre tinha as palavras e os esporros certos para não me deixar perder o foco dos meus sonhos e não me deixar perder de mim. Obrigada por ser minha amiga desde antes de eu nascer e não apenas sonhar comigo, mas me ajudar todos os dias, em cada dificuldade, e celebrar comigo cada conquista.

Ao meu noivo e futuro marido, Gabriel, por todas as incontáveis horas que revisou cada linha por mim escrita, por todas as vezes que me buscou no laboratório e me acompanhou em experimentos. Obrigada por não apenas apoiar meus sonhos, mas também sonhá-los comigo e se esforçar ao máximo para que tudo ocorra da melhor forma. Eu não poderia desejar ter um parceiro melhor. Eu te amo muito, meu amor.

À minha pessoa, minha querida Juju, por sempre me apoiar. Você é minha pessoa e eu não seria quem sou sem você, todo o seu incentivo e amor. Obrigada por sempre estar ao meu lado e por acreditar em mim, quando nem eu conseguia isso. Todos deveriam ter uma Juju em suas vidas. Eu te amo.

Ao meu querido orientador, Thomas, por tudo que me ensinou ao longo desses anos de iniciação científica e mestrado. Obrigada por toda ajuda e todo aprendizado.

A todos os integrantes do Laboratório de Neurociência Comportamental da PUC-Rio por todo suporte nesses anos de aprendizado. Obrigada por cada

oportunidade, em especial, à Silvia Maissonette por sempre estar disponível para me ouvir e me aconselhar. Obrigada, Flávia, por toda paciência e toda dedicação. As minhas queridas amigas e companheiras de jornada, Amanda e Bruninha, que tornaram as loucuras de congresso mais divertidas e animadas. As melhores ICs que poderíamos ter: Carol, Rafa, Marie, Pimentinha e Mabela. Eu não tenho palavras para agradecer tudo que vocês fizeram ao longo desses dois anos. Obrigada por toda dedicação, por cada brincadeira, por cada ajuda e por terem tornado esses anos mais leves.

Às queridas professoras Norma Franco e Cátia Padilha que sempre me deram a oportunidade de arriscar e praticar na docência. Seus conselhos, sugestões e ensinamentos permitiram com que eu pudesse me desenvolver mais do que eu poderia imaginar. Norma, obrigada por ter semeado o desejo pelo ensino anos atrás, quando eu era apenas uma aluna de graduação do 2º período. Foi essa oportunidade que me deu forças para chegar aqui hoje. Cátia, mal tenho palavras por toda ajuda que você me proporcionou ao longo desse último ano. Minha carreira sempre será marcada pelas nossas longas conversas com café na sala L204.

A todos os meus queridos amigos e familiares que sempre me deram apoio e concederam palavras de acolhimento e incentivo nos momentos mais difíceis e comemoraram ao meu lado cada pequena conquista. Em especial, obrigada, Mariana, por todas as orações e todo apoio, principalmente com as piadas e diversões que me fizeram seguir com maior tranquilidade nessa jornada. Eu não poderia pedir amizade melhor. Obrigada, Dudinha, por ser a melhor afilhada que eu poderia ter e sempre ser tão compreensiva, estando do meu lado desde sempre.

À querida Erika Pelegrino que se tornou uma amiga e mentora, que segurou minha mão e intercedeu por mim nesse último ano. Nossa amizade surgiu do nada e eu não poderia ser mais grata a Deus por colocá-la em minha vida e me ajudar tanto na minha vida profissional.

À família Chrisman Simões por sempre se disponibilizarem e serem uma verdadeira segunda família para mim. Tia Ju, obrigada por me ajudar em cada passo e sempre estar ali comigo e me ajudar desde a teoria estatística até com os conselhos sobre como agir. Tio Diogo, seu carinho e calma sempre sabiam fazer um problema tornar algo bobo e simples. Meu querido irmãozinho, eu não poderia agradecer por ter melhor companheiro de caronas e um parceiro para tantas risadas durante cada ida ao Lab nos fins de semana. Minhas bochechas, mesmo longe, sinto seu carinho.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

RESUMO

Freitas, Talita da Silva Clerc; Krahe, Thomas Eichenberg. **Caracterização Comportamental dos Ratos Cariocas com Baixo Congelamento: Uma Avaliação de um Potencial Modelo de TDAH.** Rio de Janeiro, 2024. 106p. Dissertação de Mestrado – Departamento de Psicologia, Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro.

O medo é uma parte intrínseca da evolução humana e animal, mas pode se manifestar de forma patológica, como no Transtorno de Ansiedade. Há estudos na literatura que apontam o uso de modelos animais para compreender psicopatologias, devido à simplicidade e semelhança neurobiológica. Foram desenvolvidas duas linhagens de ratos, denominadas Cariocas com Alto e Baixo Congelamento (CAC e CBC), que significam os níveis de ansiedade. O objetivo deste estudo foi investigar comportamentos compulsivos e hiperativos nos “Cariocas”, especificamente o *grooming* e o *rearing* de 138 animais (CAC, n=34; CBC, n=36; CTL, n=38). A metodologia foi analítica e descritiva com base em imagens obtidas em gravações do teste do medo contextual, ao longo de 8 minutos antes do choque. Nossos resultados indicaram que os CBC apresentam maior frequência [$F(3,60) = 45,94$, $p < 0,0001$] e duração [$F(3,43) = 21,51$, $p < 0,0001$] do comportamento de *rearing* quando comparados aos outros grupos, CAC e CTL (rANOVA; $P < 0,05$, teste *post hoc* de LSD). Do mesmo modo, quanto ao *grooming*, houve uma diminuição significativa no tempo total [$F(2,00) = 6,35$, $p < 0,01$]. Portanto, os resultados sugerem que os CBCs exibem um comportamento mais hiperativo, apoiando a hipótese de que podem servir como um modelo animal de TDAH.

Palavras-chave

Modelo Animal; *Rearing*; *Grooming*; Ansiedade; TDAH.

ABSTRACT

Freitas, Talita da Silva Clerc; Krahe, Thomas Eichenberg. **Behavioral Characterization of Carioca Rats with Low Freezing: An Assessment of a Potential ADHD Model**. Rio de Janeiro, 2024. 106p. Dissertação de Mestrado – Departamento de Psicologia, Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro.

Fear is an intrinsic part of human and animal evolution, but it can manifest itself in pathological ways, such as Anxiety Disorder. There are studies in the literature that point to the use of animal models to understand psychopathologies, due to their simplicity and neurobiological similarity. Two strains of rats were developed, called Cariocas with High and Low Freezing (CAC and CBC), which means anxiety levels. The objective of this study was to investigate compulsive and hyperactive behaviors in “Cariocas”, specifically the grooming and rearing of 138 animals (CAC, n=34; CBC, n=36; CTL, n=38). The methodology was analytical and descriptive based on images obtained from recordings of the contextual fear test, over 8 minutes before the shock. Our results indicated that BCC present a higher frequency [$F(3,60)= 45.94, p<0.0001$] and duration [$F(3,43)= 21.51, p< 0.0001$] of behavior rearing when compared to the other groups, CAC and CTL (rANOVA; $P<0.05$, LSD post hoc test). Likewise, regarding grooming, there was a significant decrease in total time [$F(2,00)= 6.35, p<0.01$]. Therefore, the results suggest that CBCs exhibit more hyperactive behavior, supporting the hypothesis that they may serve as an animal model of ADHD.

Keywords

Animal Model; *Rearing*; *Grooming*; Anxiety; ADHD.

SUMÁRIO

LISTA DE SIGLAS E ABREVIACÕES	11
1. INTRODUÇÃO	11
1.1. MODELO DOS RATOS CARIOCAS	14
1.1.1. PAPEL DA PESQUISA ANIMAL	15
1.1.2. TIPOS DE VALIDADE	16
1.1.3. LINHAGEM DOS RATOS CARIOCAS	17
1.1.4. HIPÓTESE DO TDAH	22
1.2. COMPORTAMENTO PATOLÓGICO	24
1.2.1. NORMAL VS. PATOLÓGICO	24
1.2.2. GROOMING	28
1.2.3. REARING	33
2. OBJETIVOS	34
2.1. OBJETIVO GERAL	34
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	34
3. METODOLOGIA	35
3.1. ANIMAIS	35
3.2. PROCEDIMENTO	35
3.3. ANÁLISE ESTATÍSTICA	37
4. RESULTADOS	38
5. DISCUSSÃO	41
6. CONCLUSÃO	48
7. REFERÊNCIAS	49
8. ANEXO I - ARTIGO	69

Lista de siglas e abreviações

ACTH: Hormônio Adrenocorticotrófico

BLA: núcleo basolateral da amígdala

CAC: Carioca com Alto Congelamento

CBC: Carioca com Baixo Congelamento

CG1: Córtex Cingulado Anterior

CPF: Córtex Pré frontal

CTL: grupo Controle

D[n]: Receptor de Dopamina

DAT-KO: Modelo animal Knock Out do transportador de Dopamina

DRD[n]: Receptor D[n] de Dopamina

FPLSD: *Protected Least Significant Difference*

HPA: Hipotálamo-Pituitária-Adrenal

PL: Pré Límbico

PR: Córtex Perirrinal

PVN: Núcleo Paraventricular

rANOVA: Análises de Variância Repetição

RBE: Rato com Baixa Evitação

RBA: Rato com Alta Evitação

S[n]: Geração de ratos número

SHR: *Spontaneous Hypertensive Rat*, em português rato espontaneamente hipertenso

TA: Transtorno de Ansiedade

TAG: Transtorno de Ansiedade Generalizada

TDAH: Transtorno do Déficit de Atenção e Hiperatividade

TOC: Transtorno Obsessivo Compulsivo

INTRODUÇÃO

O transtorno de déficit de atenção e hiperatividade (TDAH) é considerado um transtorno do neurodesenvolvimento com caráter hereditário e heterogêneo marcado por uma tríade sintomatológica – desatenção, hiperatividade e impulsividade (American Psychiatric Association, 2023; Moisan et al., 2003; Russell et al., 2005; Sagvolden & Johansen, 2012; Ugarte et al., 2023). O quadro é comumente diagnosticado em idade escolar, mas pode persistir até a vida adulta e atinge cerca de 7,2% de crianças e 2,5% dos adultos mundialmente (American Psychiatric Association, 2023; Friedman & Rapoport, 2015; Posner et al., 2020; Salari et al., 2023). Contudo, podem ocorrer modificações da sintomatologia ao longo do tempo, o que foi pontuado por estudos longitudinais que evidenciaram um declínio dos sintomas, tais como déficit de atenção, impulsividade e hiperatividade (Posner et al., 2020; Salari et al., 2023). Algumas das consequências desse transtorno envolvem dificuldades de aprendizagem e autoestima (Maia & Confortin, 2015; O’Leary, 2021), perturbação da vivência social, delinquência juvenil, criminalidade, uso de substâncias, como álcool e drogas ilícitas, suscetibilidade ao HIV e um aumento significativo da mortalidade devido a causas não naturais (Cortese et al., 2023; American Psychiatric Association, 2023; Sagvolden & Johansen, 2012). Além disso, o TDAH tem uma prevalência 2,5 vezes maior em homens do que mulheres (American Psychiatric Association, 2023; Cortese et al., 2023; Kaplan & Sadock, 1988), e estudos comparativos apontam que os meninos teriam sintomas mais externalizados, como a impulsividade, enquanto as meninas apresentariam características mais internalizadas, como desatenção (Rucklidge, 2010).

Nas últimas décadas, transtornos como Déficit de Atenção e Hiperatividade, Obsessivo Compulsivo, Opositivo Desafiante e Dislexia parecem ter se tornado “contagiosos”, uma vez que o número de diagnósticos de crianças e adolescentes em idade escolar só tem crescido. Tal fato atrai a atenção de muitos pais, profissionais da educação e da saúde (Pais et al., 2016). A partir desse aumento do

número de casos, surge um questionamento: seriam muitos casos ou uma visão hiperpatológica do comportamento? Nesse ponto que muitos estudiosos buscam realizar pesquisas para aumentar o entendimento acerca dos quadros. Um comportamento pode permitir múltiplos diagnósticos, como no caso da hipobulia que é como em Depressão, Transtorno Bipolar e até Transtornos Alimentares. Assim, os sinais comportamentais, quando disfuncionais, caracterizam um ou mais quadros que só podem ser concluídos após uma análise mais profunda, segundo o trabalho de Pais e seus colaboradores (2016).

Alguns aspectos genéticos e neurobiológicos das psicopatologias ainda são desconhecidos, como o TDAH (Puumala et al., 1996; Russell, 2011; Sagvolden et al., 2005; Sagvolden & Johansen, 2012). Por isso, torna-se relevante o uso de modelos animais para uma melhor compreensão da relação entre os transtornos e seus circuitos neurais e comportamentais, visto que possibilita um estudo mais simples e homogêneo de sistemas e funções complexas; além de permitir que sejam feitos experimentos de cunho investigativo (Cryan & Holmes, 2005; Hassan et al., 2013; Wegener et al., 2011). Devido a esses fatos, diversos modelos de roedores já foram desenvolvidos para investigar os mecanismos de diferentes quadros diagnósticos (Raymundo & Goldim, 2002). Descobertas de estudos em modelos animais de TDAH apontam para importantes fatores genéticos, neuroquímicos, estruturais e comportamentais associados ao TDAH (de la Peña et al., 2018; Kostrzewa et al., 1994; Rahi & Kumar, 2021; Russell, 2011; Russell et al., 2005; Sagvolden et al., 2005; Sagvolden & Johansen, 2012; Sontag et al., 2010; Wickens et al., 2011). Outros estudos também apontam para déficits de aprendizagem, aumento da impulsividade, comportamentos repetitivos e hiperatividade (Sagvolden et al., 2008; Kim et al., 2012; Drolet et al., 2002; Howells & Russell, 2008; Kim et al., 2012; Puumala et al., 1996; Wultz et al., 1990). Com relação à hiperatividade e comportamentos compulsivos, destacam-se o *rearing* e *grooming*, respectivamente – comportamentos inatos e considerados como índices comportamentais relevantes em modelos animais, inclusive os de TDAH (Kiguchi et al., 2008; Negishi et al., 2005).

Uma das estratégias mais usadas para compreender transtornos psicológicos é a utilização de modelos animais, uma vez que são difundidos desde o início do século XX. Alguns dos motivos que torna essa escolha bem aceita é que animais possuem um sistema nervoso mais simples, permitem uma maior homogeneidade e

possibilita um maior controle do ambiente, gerando inúmeras opções de intervenção (Sagvolden, 2000). Como tratado anteriormente, o comportamento é um dos elementos-chave para o diagnóstico psicopatológico. No caso das pesquisas animais, essa validação de face, ou seja, de comportamento, é o cerne da validação de modelos animais (Sagvolden, 2000; Sagvolden et al., 2008; Sagvolden & Johansen, 2012). Além disso, é importante considerar os 3 R's apresentados no material de Goldberg & Hartung (2006) – redução, refinamento e substituição do inglês *reduce, refinement e replacement*. O primeiro tem como objetivo conseguir o máximo de informações adequadas usando o menor número de animais possíveis. O segundo é definido por evoluir os protocolos e técnicas utilizadas em procedimentos e experimentos visando envolver menos dor e sofrimento por parte do animal. Por fim, o último R é definido pela tentativa de substituir totalmente o uso de animais em testes experimentais.

O *grooming* pode apresentar diferentes significados a depender de seu contexto e sua hierarquia, como autolimpeza, atividade deslocada, manutenção corporal e até excitação social (Bolles, 1960; Jolles et al., 1979; Sachs, 1988; Spruijt et al., 1992). Quando esse comportamento passa a ser executado de forma exacerbada, pode ser um sinal de comportamento repetitivo ou com o intuito de aliviar o desconforto; assim, sendo correlacionado com modelos animais de autismo, TDAH e ansiedade (Díaz-Morán et al., 2014; Estanislau et al., 2019a; Korff & Harvey, 2006). O *rearing*, por sua vez, é caracterizado como um comportamento exploratório, que quando é feito constantemente assume um caráter hiperativo (Huang et al., 2013; Luo et al., 2014; Montgomery, 1955; Olmedo-Córdoba et al., 2023; Sturman et al., 2018). Estes comportamentos já foram estudados em outros modelos animais de TDAH (para saber mais sobre, leia Ennaceur, 2014), nos quais é esperado que o animal tenha um aumento de *rearing* e redução de *grooming*, conforme descrito por Besson e seus colaboradores (2008) e em outros estudos (Abdulla et al., 2020; Calzavara et al., 2011; Ohno et al., 2012; Ruocco, Carnevale, et al., 2009; Ruocco, de Souza Silva, et al., 2009; Ruocco et al., 2015; Unis et al., 1991; Yuan et al., 2019). Pode-se observar que, independentemente do tipo de modelo animal para TDAH usado, seja Rato Espontaneamente Hipertenso, seja um modelo por lesão farmacológica por 6-OHDA (Sontag et al., 2010), a hiperatividade é classificada pelo aumento do número de *rearings* (Wickens et al., 2011). Tal ponto é corroborado pela

administração de Metilfenidato no modelo Knock-Out (DAT-KO), o que ocasionou a redução do comportamento hiperativo espontâneo (Leo & Gainetdinov, 2013). Quanto o *grooming*, sua participação no modelo animal de TDAH é controversa, visto que há estudos que apontam uma redução e outros que apenas não apresentam diferença entre os animais experimentais e controles, o que evidencia uma menor ansiedade (Abdulla et al., 2020; Negishi et al., 2005).

Estudos recentes do nosso grupo têm sugerido que os ratos Cariocas com baixo congelamento (CBC) são um modelo de TDAH (Lages et al., 2021; Landeira-Fernandez, 2019; Macêdo-Souza et al., 2020). Lages e colaboradores (2021) demonstraram o CBC apresentou um aumento do congelamento no Teste do Medo Contextual, ao receber doses de Metilfenidato antes da sessão de treino. Além disso, estudos recentes demonstraram que ratos CBC apresentam um comportamento de hiperativo e um prejuízo na memória, devido a uma extinção mais rápida (Goulart et al., 2021; Macêdo-Souza et al., 2020). Os ratos CBC são uma das linhagens provenientes do cruzamento seletivo de animais baseado nas respostas do medo condicionado ao contexto, que ao longo da última década deu origem aos ratos cariocas com alto congelamento (CAC) e os CBCs (de Castro Gomes & Landeira-Fernandez, 2008). Ao passo que existem evidências comportamentais, bioquímicas, farmacológicas e fisiológicas dando suporte aos CACs como modelo animal de ansiedade generalizada, o número de estudos caracterizando os ratos CBC como um modelo animal de TDAH é reduzido (Lages et al., 2022). Portanto, com o intuito de reforçar a validade do uso dos CBCs como um modelo animal de TDAH e, levando-se em conta a importância das medidas de *grooming* e *rearing* na caracterização de modelos animais deste fenótipo, o presente trabalho tem como objetivo avaliar estes comportamentos em ratos CBC, CAC e controles (CTL).

1.1

Modelo dos Ratos Cariocas

De acordo com o trabalho iniciado por De Castro-Gomes e Landeira-Fernandez (2008), o modelo dos ratos Carioca surge de uma manipulação com base no comportamento que provoca a criação de linhagens extremas, devido a manutenção do genótipo desejado. A partir disso, muitos estudos foram feitos em nosso laboratório, o que permitiu a descoberta de diversos aspectos a respeito do Transtorno de Ansiedade Generalizada.

1.1.1

Papel da Pesquisa Animal

A pesquisa animal tem sido adotada desde a Antiguidade Clássica, uma vez que permite a realização de um estudo experimental a partir de uma análise comportamental, neurobiológica e fisiológica. Alemaeon, Erasistratus e Aristóteles são alguns dos nomes que realizavam pesquisa comparativa com animais. Segundo Raimundo e Goldim (2002), acreditava-se que era uma forma de compreender os órgãos internos, observar estruturas e formular hipóteses.

Nessa lógica, o uso do modelo animal permite uma compreensão da anatomia e fisiologia humana, visto que o animal apresenta similaridades com o organismo do homem; porém, suas estruturas são mais simples, tornando possível estudar desde fenômenos simples até complexos. Estas pesquisas podem usar diferentes tipos de animais, como primatas, peixes, cães; no entanto, os mais usados no último século são os ratos e camundongos (Pereira, 2013). Segundo Hassan et al. (2013), “Modelos animais são extremamente relevantes para estudar os mecanismos neuroendócrinos, neuroquímicos e neurogenéticos de comportamentos complexos, como a Ansiedade.”

A escolha desse animal ocorre em detrimento da possibilidade de simular sintomas e comportamentos complexos compatíveis com patologias humanas, podendo-se criar um modelo genético, que torna possível investigar como os genes influenciam os traços de personalidade e, possivelmente, os transtornos psicológicos (Cryan & Holmes, 2005; Wegener et al., 2011). Não obstante, os mamíferos apresentam uma neurobiologia parecida com a dos humanos, sendo muito mais simples de compreender e estudar a atividade de novas drogas e possíveis diferenças neuroanatômicas. De fato, o modelo animal permite uma maior compreensão da fisiologia da psicopatologia, uma vez que possibilita o estudo comportamental, farmacologia e uma compatibilidade teórica; ou seja, para ser validado, o modelo animal precisa apresentar validação de face, validação preditiva e validação de constructo.

1.1.2

Tipos de Validade

A validade de face é a capacidade do modelo animal simular, ainda que de forma simples, as características comportamentais do transtorno em questão (Willner, 1986). Ela refere-se às semelhanças fenomenológicas do comportamento animal e da sintomatologia humana (Graeff & Zangrossi, 2002). Nesse sentido, essa validação tem o mesmo peso que no diagnóstico humano, no qual é por meio do comportamento que os pais, professores e profissionais da saúde identificam que algo está atípico, sendo este um dos primeiros aspectos a ser validado para assegurar que o modelo animal realmente é compatível com os sintomas e sinais que os humanos apresentam.

A validade preditiva, por sua vez, é a capacidade de prever aspectos comportamentais, genéticos e neurobiológicos, a partir do modelo, que podem ser desconhecidos anteriormente (Puumala et al., 1996; Willner, 1986). Tal validação contempla a efetividade ou não do tratamento (Graeff & Zangrossi, 2002). Conforme dito *a priori*, há muitas incertezas acerca da etiologia de alguns transtornos mentais. Sendo assim, o objetivo desse critério é verificar a potencial eficácia que os efeitos dos possíveis tratamentos terapêuticos possam ter (Portella, 2020). Segundo o mesmo autor, nem sempre a parte medicamentosa entrega resultado, uma vez que pode ser consequência de um marcador de heterogeneidade diagnóstica ou farmacológica. Considerando tal possibilidade, não será invalidado o modelo que não der resultados medicamentosos, pois poderia indicar um instrumento rudimentar, caracterizando como a eliminação de uma resposta “falso-positiva.”

Por fim, a validade de constructo baseia-se na similaridade teórica e etiológica (Graeff & Zangrossi, 2002). O modelo precisa seguir a lógica teórica por trás do transtorno para explicá-lo (Willner, 1986). Segundo Nestler & Hyman, (2010):

“Na situação ideal, os pesquisadores alcançariam validade de construção recriando em um animal os processos etiológicos que causam uma doença em humanos e, assim, replicam características neurais e comportamentais da doença.”

Esse critério acaba por ser mais importante que a validade de face, pois evidencia as conexões dos sintomas com a doença (Portella, 2019). Com isso, a demonstração do modelo requer o estabelecimento de constructos homólogos entre pessoas e animais e o destaque de que uma mudança no constructo será responsável pela desordem do modelo (Willner, 1991).

1.1.3

Linhagem dos Ratos Cariocas

O Transtorno de Ansiedade, segundo De Castro Gomes & Landeira-Fernandez (2008) “(...) apresenta categorias heterogêneas, devido à associação do medo excessivo e irracional somado ao medo intenso com excitação fisiológica.” Tal psicopatologia é um dos transtornos que mais acomete a população mundial, sendo o Brasil um dos principais países com maiores índices de incidência (WHO, 2017). Contudo, o comportamento ansioso está presente nos seres vivos desde o início da evolução humana. Foi em decorrência de situações de medo e antecipações que muitas espécies conservaram sua sobrevivência, uma vez que os mamíferos - humanos ou não - possuem as mesmas estratégias defensivas devido a uma ativação neural similar (De Castro Gomes et al., 2011). Desse modo, é comprovado que a ansiedade e o medo são características adaptativas e evolutivas da vida, tendo como exemplo as situações de medo que evitam possíveis acidentes, como nadar num mar agitado ou numa ponte com alta ressaca.

Sob essa ótica, o Transtorno de Ansiedade diferencia-se da adaptação evolutiva desenvolvida ao longo das décadas. O medo e a ansiedade são traços selecionados através da evolução humana, pois protegia nossos ancestrais dos perigos do ambiente (Cosmides & Tooby, 2000), mas o quadro diagnóstico representa uma resposta patológica ou disfuncional desse comportamento natural ao medo (Dias et al., 2009). Segundo Castro-Gomes e seus colaboradores (2011), medo e ansiedade são conceitos complexos, ambos usados para descrever um conjunto de eventos neurais altamente orquestrados que envolvem o processamento sensorial e respostas motoras provocadas por situações ameaçadoras. Nesse sentido, em casos nos quais a adaptação torna-se incapacitante, como na vivência excessiva ou na ausência de estímulos, surge a condição patológica citada. Considerando o exposto, torna-se necessário que os modelos animais utilizados no estudo do

Transtorno de Ansiedade contemplem suas características, isto é, que avalie o processo complexo, multidimensional e dinâmico que ela é (Castro-Gomes et al., 2011).

Na literatura, é possível encontrar diversos modelos animais para ansiedade e cada um deles têm sua existência gerada por diferentes paradigmas, vide a comparação feita por Castro-Gomes e seus colaboradores (2011), na qual se ressalta que as diferentes respostas defensivas nos testes (defecagem, evitação dos braços abertos, por exemplo) demonstra as diferentes formas da ansiedade se apresentar. Em um primeiro momento, consideravam que a ansiedade era “mediada por um constructo único e geral” (Broadhurst, 1975; Gray, 1979; Hall, 1934). Contudo, essa concepção foi provada errada com novos estudos que afirmavam que o “comportamento defensivo dos animais é mediado por um constructo complexo e multidimensional” (Aguilar et al., 2002), assemelhando-se ao caráter multidimensional da ansiedade apresentado *a priori*. Um dos critérios para a validação do modelo animal envolve uma similaridade do comportamento animal com o apresentado por pacientes em contextos clínicos. Dentro desse cenário, torna-se possível “entender os mecanismos fisiopatológicos e projetar terapias mais eficazes” (Castro-Gomes et al., 2011). Um comportamento que possibilita essa compreensão a respeito da ansiedade é a ansiedade antecipatória, presente em quadros de Transtorno de Ansiedade Generalizada (TAG) e Transtorno do Pânico, o que gera um intenso debate, conforme apresentado por Castro-Gomes e seus colaboradores (2011). Baseado nisso, é necessário destacar que a crise de pânico é uma das marcas do Transtorno do Pânico, Transtorno de Ansiedade crônico definido por constantes e persistentes experiências de crise ou preocupação exacerbada sem perigo ou razão evidente. Desse modo, a ansiedade antecipatória é um comportamento inibidor que ocorre em crises de pânico (Galvão et al., 2011).

A diversidade das dimensões apresentadas pelos modelos animais de ansiedade mostra uma dificuldade de determinar apenas um único tipo de modelo animal. Apesar dessa dificuldade, o condicionamento do medo é uma das principais causas de ansiedade (Pavlov, 1928; Watson & Rayner, 1920). Pautado nesses fundamentos, foi desenvolvido, no Laboratório de Neurociência Comportamental, um modelo animal de ansiedade: a Linhagem dos Cariocas. Formada por Wistar Albino, oriundos da FioCruz (1995), a linhagem foi mantida em colônia na Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro (PUC Rio). Em 2006, iniciou-

se a reprodução seletiva, através da seleção bidirecional. Tal técnica é usada em laboratórios desde meados do séc. XX (Ramos & Mormède, 2006), e permite a modificação genética, aumentando a frequência de determinados genes para ativar um fenótipo (Landeira-Fernandez, 2019), correlacionando os traços comportamentais e os genes. Além disso, tal técnica permite um maior entendimento da relação das predisposições genéticas e da aprendizagem aversiva (Sartori et al., 2011; Steckler et al., 2008). Essa escolha é tomada baseada nas características apresentadas que se deseja modificar, seja aumentando, seja diminuindo. Assim, os animais com o mesmo comportamento cruzam entre si para ampliar a expressão dessa ação, permitindo o surgimento de extremos opostos que, após algumas gerações, se apresentam em duas linhagens distintas de ansiedade, além do grupo controle (de Castro Gomes & Landeira-Fernandez, 2008). A distinção de animais é explorada, segundo Ramos & Mormède (2006), desde o séc. XX, com o surgimento de diferentes linhagens na literatura (de Castro Gomes & Landeira-Fernandez, 2008; Castro-Gomes, Silva & Landeira-Fernandez, 2011).

De acordo com essa lógica, ocorre a seleção de animais aptos para o cruzamento baseado em um dado comportamento, que neste caso seria o congelamento, ou seja, a inibição de qualquer movimentação corporal, com exceção da respiração e das vibrações. Como esse comportamento é hereditário, ele pode ser selecionado (Ponder et al., 2007; Radcliffe et al., 2000), permitindo o surgimento de duas linhagens, a partir da seleção reprodutiva: uma de alto congelamento e outra de baixo. Isso ocorre pelo fato de ser o congelamento um comportamento direto e mensurável do medo condicionado, que não se enquadra em uma resposta de aquisição operante; tal reação é uma defesa ao choque, cuja associação de estímulos condicionados ou não, podendo ser manipulado pela sua força associativa (Fanselow & Bolles, 1979; Landeira-Fernandez, 1996; Landeira-Fernandez et al., 1995). Desse modo, os animais que apresentavam alto congelamento cruzavam entre si e os de baixo entre o seu grupo também, dando origem às respectivas linhagens: Cariocas com Alto Congelamento (CAC) e Cariocas com Baixo Congelamento (CBC).

Os animais são submetidos à seleção bidirecional apenas na fase adulta, entre 90-120 dias de idade. Com 21 dias de nascimento, eles são separados por sexo em grupos de 5-6 animais por caixa, segundo cada linhagem, em caixas de

polycarbonato (18 x 31 x 38 cm) com comida e água *ad libitum*. A sala tem uma temperatura controlada (24+/- 1°C) e o ciclo dia/noite é mantido por 12h (7h-19h).

Para determinar quais animais apresentavam o comportamento de congelamento, os animais foram submetidos a uma experiência de aprendizagem do medo. Uma forma de condicionamento do medo é o emparelhamento de um estímulo neutro (Luz) com um estímulo aversivo (Choque) que, após algumas repetições, fazem o indivíduo associar a luz ao choque, tornando o estímulo luz condicionado. Outro modo de condicionar um sujeito é pela imprevisibilidade; ou seja, dar um choque leve, após o animal estar numa câmara nova, que não possui nenhum estímulo extra. Ao retornar para a câmara, ele revive o medo, ainda que não haja estímulo, devido às associações feitas da situação anterior. Cada um desses condicionamentos associa-se com uma patologia da ansiedade diferente: o primeiro remete-se a uma fobia específica, enquanto o segundo caracteriza um TAG (De Castro Gomes et al., 2011).

De Castro Gomes & Landeira-Fernandez (2008) optaram por seguir com o condicionamento não associativo, por meio da Caixa do Medo Contextual - exemplo da manifestação do comportamento defensivo de congelar, caracterizado pela imobilidade em situações ameaçadoras (Fanselow, 1984). Dessa forma, o congelamento - medida clássica de medo (Fanselow, 1980) - comportamento é avaliado em animais modelos de Transtorno de Ansiedade Generalizada, uma vez que demonstram traços de medo disfuncional. Nesse experimento, o rato é colocado num novo ambiente: uma caixa (25 x 30 x 20 cm), na qual terá alguns minutos de exploração até serem surpreendidos por choques nas patas. Após o choque, eles continuam congelando ao retornarem para a caixa, havendo ou não estímulo aversivo, segundo Gale e seus colaboradores (2004).

O condicionamento contextual dos Cariocas ocorreu numa câmara de observação (25 x 20 x 20 cm) com redução sonora - ventilação com barulho ambiente (78dB) durante a fase dia. Dentro dessa caixa, há uma luz (25W) e uma câmera de vídeo montada no fundo, para que o comportamento fosse observado por um monitor fora da caixa. O piso é composto por 15 hastes de aço inoxidável com 4mm de diâmetro e espaçadas de 1,5cm (centro a centro), ligadas a um gerador de choque conectado ao computador usado pelo experimentador, responsável por aplicar o choque. As caixas foram limpas com uma solução de hidróxido de amônio (5%) antes e depois de cada sujeito (De Castro Gomes et al., 2011; de Castro Gomes

& Landeira-Fernandez, 2008). Neste caso, o congelamento é uma consequência direta do choque (Sigmundi & Bolles, 1983) e depende da associação do contexto (caixa) e o choque, visto que é uma resposta ao medo contextual - choque nas patas - é um dos modelos animais mais confiáveis de TAG (Brandão et al., 2008; Landeira-Fernandez, 1996).

Alguns cuidados são tomados a fim de evitar variáveis que possam atrapalhar os resultados. A manipulação dos animais uma vez por dia durante dois minutos, no decorrer de 5 dias, por exemplo, descarta o fator ansiolítico do contato com a mão humana. Esse protocolo foi aprovado pelo comitê de ética da Sociedade Brasileira de Neurociência e Comportamento (De Castro Gomes et al., 2011; de Castro Gomes & Landeira-Fernandez, 2008). Ao fim desses dias de manipulação, os animais passam 8 minutos, antes do choque, dentro da caixa. Após este tempo, ele recebe três choques (1mA inicialmente, mas que foi reduzido para 0.6mA após a S8, de acordo com De Castro Gomes et al., (2011) com duração de 1s e intervalo de 20s entre cada um. Ao término dessa parte, ele permanece 2min na caixa. Após 24h, o animal retorna e fica 8 min na caixa, sem receber nenhum tipo de estímulo durante este período; o que proporcionou a avaliação do medo. O experimentador observa e registra o congelamento - ausência total de movimento do corpo, exceto respiração (de Castro Gomes & Landeira-Fernandez, 2008); o congelamento pós choque e o congelamento após 24h são medidos como aprendizagem associativa (Landeira-Fernandez, 1996), permitindo que seja ativado o genótipo “ansioso”.

O processo é replicado com todas as gerações, a fim de fenotipá-los, ou seja, ativar as características comportamentais herdadas por esses. O cruzamento ocorre entre animais da mesma linhagem, sendo evitados entre irmãos para reduzir a consanguinidade, que “poderia provocar uma redução de fertilidade e mudanças aleatórias no desenvolvimento das linhagens devido à deriva genética (Falconer & Mackay, 1996). Nessa lógica, os CAC cruzam entre si, assim como os CBC. Além dessas duas linhagens, foi desenvolvida uma terceira, cuja seleção é feita de modo randômico, gerando uma resposta bastante variável que definirá o comportamento da Linhagem Controle (De Castro Gomes et al., 2011; de Castro Gomes & Landeira-Fernandez, 2008; Dias et al., 2009). Esse acasalamento de dois animais, que possuem as mesmas características comportamentais, ao longo de muitas gerações, resulta no surgimento de duas linhagens extremamente opostas (De Castro Gomes et al., 2011), de forma que o nascimento da linhagem dos Cariocas

com Alto e Baixo Congelamento e do Controle é resultado da reprodução seletiva baseada nas respostas ao Experimento de medo contextual, uma vez que vários estudos indicam que é uma forma simples de investigar a ansiedade antecipatória (Brandão et al., 2008; Galvão et al., 2011). Progressivamente, a divergência de comportamentos entre as linhagens foi aumentando, criando três linhagens totalmente diferentes após três gerações, o que indica uma forte hereditariedade comportamental, observada por Castro Gomes & Landeira-Fernandez (2008), sendo possível considerar o CAC com propensão para as respostas de medo, ou seja, o congelamento após a S3 Castro-Gomes e seus colaboradores (2011). Surge, assim, três comportamentos: uma amostragem randômica e duas extremas, sendo uma em cada ponta dos traços de ansiedade.

Foi possível, portanto, identificar que as linhagens apresentavam parâmetros opostos de comportamentos classificados como ansiosos, sendo um alto e outro baixo. Pode-se afirmar, a partir de estudos prévios (Magierek et al., 2003), que ratos expostos à Caixa de Medo Contextual apresentaram um congelamento, como resposta defensiva, muito mais robusto que os animais não expostos (Galvão et al., 2011), sendo esse um dos comportamentos mais confiáveis no condicionamento do medo (Fanselow, 1984), obtendo a validação de face. Outros aspectos multidimensionais foram avaliados e confirmados, como os estudos farmacológicos, nos quais se observa os diferentes impactos da droga no sistema nervoso do animal. Em alguns casos produz um efeito ansiolítico (Maki et al., 2000), mas em outros o animal possui uma resistência à benzodiazepina (Graeff & Zangrossi, 2002).

1.1.4

Hipótese do TDAH

Nos últimos anos, nosso grupo identificou evidências que desencadearam a hipótese de o CBC ser um modelo animal para o TDAH. Galvão e seus colaboradores (2011) pontuaram que o CBC poderia congelar menos, pois estariam mais “assustados” e por isso estariam buscando fugas de uma forma ativa. Contudo tal ideia é refutada por diversas evidências: uma delas é a comprovação farmacológica do congelamento decorrente do choque nas patas como um modelo animal de ansiedade antecipatória (Morris & Bouton, 2006); outro ponto levantado

foi que o CBC apresentaria uma menor atividade Fos no PVN associado ao núcleo basolateral da amígdala (BLA) e PL e um aumento no giro cingulado anterior (CG1) e córtex perirrinal.

Uma explicação seria a baixa projeção e excitatória do BLA e PL - estruturas envolvidas no contexto do medo. Outra opção seria o aumento de CG1 inibir BLA e PVN (Landeira-Fernandez, 2019). Além disso, segundo o mesmo estudo, o CBC apresenta uma alta atividade do PR, que poderia indicar uma sobrecarga de processamento de informações multissensoriais características do TDAH. Por fim, outra evidência apresentada foi por Macêdo-Souza e seus colaboradores (2020), ao afirmar que a rápida extinção do CBC seria consequente de um comportamento mais hiperativo, contrastando com a alta ansiedade e apresentando um comportamento mais ativo. Essa linhagem também mostra uma impulsividade motora e controle inibitório pobre sobre respostas previamente condicionadas (Bari & Robbins, 2013; Cabin et al., 2002), podendo-se, então, estimar que o rápido declínio do congelamento do CBC é decorrente de um fenótipo de TDAH. Dessarte, torna-se necessário compreender as similaridades do CBC com o Transtorno do Déficit de Atenção e Hiperatividade, para que evidências sejam confirmadas e o modelo animal validado.

Segundo o trabalho de Lages e seus colaboradores (2021), a administração de Metilfenidato nos ratos Cariocas fez com que não houvesse alteração comportamental no CAC e CTL; porém, o CBC passou a exibir um comportamento oposto do comum: houve um aumento significativo desse congelamento. Com isso, evidenciando que há um envolvimento do circuito dopaminérgico na hiperatividade e falha na aquisição de memória dessa linhagem. Além disso, foi evidenciado nesse mesmo estudo que, diferentemente do comum, ao receber Haloperidol, os CBCs apresentaram uma catatonia ainda maior do que o esperado. Desse modo, concluindo que realmente há o envolvimento do sistema de dopamina no impacto comportamento desses animais, por meio de uma evidência farmacológica que é coesa com a validade preditiva deste quadro psicopatológico; visto que, ao receber o metilfenidato, o comportamento hiperativo foi reduzido, possibilitando a aquisição de aprendizagem, devido à amenização do déficit atencional proporcionado por esse fármaco.

Portanto, é evidente, que com o passar dos anos, foram surgindo mais e mais pontos que sinalizam a possibilidade de que, com o cruzamento sucessivo dos

Cariocas, tenha sido selecionado uma característica além do congelamento, como ocorreu com os ratos romanos (Para conhecer mais, confira Escorihuela et al., 1999). Embora não seja o desejado, tal fato pode ocorrer, uma vez que a seleção ocorre com base no comportamento, logo, com os cruzamentos consecutivos pode ter sido acidentalmente selecionado características inesperadas: o perfil de um possível modelo animal de TDAH (Morris & Bouton, 2006). Vale ressaltar que para haver um modelo animal, como descrito *a priori*, é preciso cumprir com três tipos de validade. Até o presente momento, há hipóteses neurobiológicas e comportamentais, respectivamente (León et al., 2020; Macêdo-Souza et al., 2020). A primeira evidência que corrobora essa hipótese é a farmacológica descrita por Lages e seus colaboradores (2021), cuja amplitude abarca a hiperatividade e déficit atencional. Sendo assim, há a necessidade de investigar outros aspectos, como a impulsividade em suas três dimensões de validade e mais evidências acerca dos outros sintomas da tríade sintomatológica.

1.2

Comportamento Patológico

A diferença entre patologia e normalidade é tênue, como evidenciado por diversas pessoas em nossa sociedade, como psicólogos, sociólogos e escritores (Myers, 2016). No conto “O Alienista” (de Assis, 2014), fica evidente como esse tema importante é abordado no meio acadêmico (Pais et al., 2016), assim como é satirizado pelas artes. Ou seja, é fundamental que haja uma diferenciação sensível e não apenas categórica. Desse modo, é imprescindível compreender o parâmetro utilizado para tal distinção.

1.2.1

Normal vs. Patológico

Os transtornos psicológicos são estudados em muitas culturas diferentes ao redor do mundo. Outrora generalizadas como loucura, as “doenças mentais” provocam grande estigma em seus portadores, gerando inúmeras consequências negativas para eles, como a exclusão. A cultura é um dos pontos determinantes para uma visão patológica ou não acerca de determinados comportamentos (Myers,

2016): enquanto uma cultura pode condenar certas ações e atitudes, outra pode considerá-las dentro do padrão normal. Um exemplo disso é apresentado por Myers em sua obra (2016), na qual ele traz a tribo Wodaabe da África Ocidental, cujos homens usam maquiagem e vestimenta elaborada como uma forma de atrair mulheres. Tal comportamento seria visto como atípico no Ocidente, podendo indicar uma certa excentricidade patológica que despertaria a atenção de psiquiatras e psicólogos que buscariam compreender o porquê de tais escolhas. A lógica das patologias de grau psicológico é, dessa forma, influenciada diretamente pela cultura e os valores que moldam a sociedade. Sob essa ótica, é preciso compreender o contexto sociocultural que ambienta os estudos e pesquisas acerca dessa temática para, então, identificar como são vistos os comportamentos humanos, sejam eles considerados normais ou não (Myers, 2016).

O ser humano tem um interesse pelo excepcional, pelo atípico (Myers, 2016). Tal ponto fica evidente quando observamos os sucessos que os circos modernos fizeram no século XVIII (Bolognesi, 2002). Phillip Astley, um suboficial da cavalaria inglesa, uniu as performances equestres apresentadas pelo serviço militar com os saltimbancos errantes, dando origem aos espetáculos circenses modernos que viriam a encantar e entreter muitas cidades. O fascínio pelo diferente, então, foi um dos principais elementos que alavancou o sucesso desse novo modelo de diversão. Essa curiosidade é um dos motivadores que levam ao estudo dos transtornos psicológicos. William James afirmou que “estudar o anormal é a melhor maneira de se compreender o normal” (apud Myers, 2016). Uma vez que todos sentem-se deprimidos, ansiosos e abandonados em algum momento, o ato de estudar esses comportamentos, segundo Myers, tem um senso de autorreconhecimento. Ou seja, o indivíduo olha para o atípico reconhecendo partes de seu comportamento. Contudo isso não é declarado. A sociedade, por muitos anos, preferia excluir aqueles que desviavam da norma, a fim de manter uma imagem de perfeição, de beleza e normalidade.

Na obra *História da Loucura na Idade Média*, de autoria de Foucault (1978), é possível compreender a lógica da loucura. Em um primeiro momento, o “louco” poderia viver em sociedade, tendo um lugar, durante um período. Um grande exemplo disso são os bobos da corte que tinham um papel importante na Idade Média, garantindo o divertimento do rei e de sua corte. Todavia, a partir do momento que eles se tornassem insuportáveis, eram expulsos, surgindo, assim, a

mente da exclusão do diferente, a fim de manter a ordem social e reafirmar a piedade cristã, uma vez que ajudavam a manter os excluídos nos arredores da cidade desde que não estivessem “contaminando” o meio social. Em seguida, o autor traz um segundo momento, no qual ele usa a pintura “Stultifera Navis” para outro possível destino dos desviantes da norma. Segundo ele, ao serem expulsos, esses poderiam ser colocados em navios e enviados ao mar, demonstrando a violência do tratamento com o “louco” desde os primórdios dessa relação. Ao enviá-los ao mar, a ideia era tirar de perto, do campo de visual, aquele ser que poluía a sociedade com seu jeito errante de ser; ele deveria ser purificado e afastado para não trazer prejuízos para os sãos. Num terceiro momento, Foucault resgata as ideias góticas, que abordavam muito sobre a loucura e a morte. As gárgulas representavam o medo da morte, como também o da loucura, relacionando os dois conceitos, como se o diferente fosse uma lembrança do demônio. Em contrapartida, surge um discurso não excludente para com esse público, pois há uma ideia de que a razão e a loucura são relativas, estando entrelaçadas naturalmente. Tal ideia fica nítida no seguinte fragmento de Azizi, D. (2019):

“No século XVI, a loucura possuía um estatuto diferente em relação ao do século XVII. Um exemplo é a filosofia de Montaigne, onde o ser louco e o ser não louco eram tidos como certeza. Não havia a certeza sólida de loucura e da desrazão do homem, todos poderiam ser loucos e sensatos. Não existe cisão definitiva.”

Dessa forma, evidenciava-se uma reversibilidade, já que haveria loucura na razão, assim como razão na loucura. Entretanto, esse passo rumo à não exclusão foi desfeito no quarto momento da obra de Foucault (1961). A Grande Internação surgiu como consequência do aumento das cidades, o desenvolvimento da industrialização e a mudança do padrão econômico, gerando uma nova visão de mundo. Nesse novo modelo que nascia, a ordem era um dos principais elementos. Com isso, como o louco não trabalhava, ele não gerava dinheiro, de forma que deveria ser afastado para não causar danos ao regime dominante, sendo um peso para a sua família e para o Estado. Nesse contexto, inaugura-se a lógica violenta por trás do Hospícios e Manicômios que passam a servir de depósito dos indesejados e loucos. Desse modo, fica evidente o caráter excludente inerente às doenças relacionadas à saúde mental, conforme explicitado por Foucault (1961),

destacando, assim, o porquê elas foram tabus por tantos anos e porque a relutância em identificar a Psicologia como uma ciência que trata doenças reais, de cunho psicológico e neurobiológico.

Segundo Myers (2016), os profissionais da saúde mental compreendem os transtornos psicológicos como padrões contínuos de comportamentos, sentimentos e pensamentos desviantes e/ou disfuncionais; isto é, comportamentos que trazem algum tipo de prejuízo para o indivíduo que o possui. Nesse sentido, Portella (2019) traz uma concepção de que, para os analistas do comportamento - profissionais que optam por seguir uma visão comportamental do ser humano, não há comportamento errado, uma vez que todo o tipo de comportamento seria fruto da adaptação do indivíduo em um determinado ambiente. Com isso, as respostas dadas pelo ambiente contribuiriam para a manutenção ou não deles, assim reforçando ou não a ideia de “doença mental.” Seguindo essa lógica, o transtorno psicológico possuiria um fator determinante social e cultural, conforme afirmado por Foucault (1961), concepção essa resgatada por Myers (2016), ao afirmar que há comportamentos em certas comunidades tribais que seriam classificados como anormais pela sociedade ocidental, conforme apresentado *a priori*. Portanto, a compreensão de transtornos mentais como um sinônimo de exclusão apenas retroalimentaria a condição clínica, culminando na busca da Psicologia em entender o funcionamento por trás de cada um dos tipos de patologias para oferecer um melhor atendimento e serviço empático e eficaz.

Segundo Dalgalarrrondo (2008), os quadros psicopatológicos são relatados através de sinais e sintomas. Esse primeiro é de fácil percepção e mensuração, uma vez que se trata de um comportamento, como taquilalia e rigidez afetiva. Contudo, o segundo é um elemento mais subjetivo sendo o relato do paciente e seus familiares; ou seja, é a parte subjetiva da equação. Nessa lógica, como defendido desde o início da Psicologia como área da Ciência, os comportamentos observáveis são fundamentais para um diagnóstico tanto sindrômico quanto nosológico. Pautado nessa fundamentação, muitos estudos e pesquisas foram e continuam sendo desenvolvidos ao longo dos anos, a fim de compreender através da análise do comportamento a psicopatologia estudada e suas consequências sociais, cognitivas e neurobiológicas. Desse modo, fica evidente, como observado no livro de Myers (2016), que o comportamento é uma variável vital para uma diagnóstica, visto que, desde os primórdios da humanidade, é devido a ele que uma pessoa é considerada

“louca” ou não. E será esse o foco do trabalho em questão: como utilizar a análise do comportamento para validar um modelo animal para determinada psicopatologia.

1.2.2

Grooming

Há comportamentos que são inatos entre diversas espécies, com diferentes funções e significados etológicos, como o *grooming*, cujas atividades heterogêneas evidenciam claramente as distintas finalidades (Sachs, 1988). Tal comportamento apresenta uma hierarquia bem-organizada e pontuada pela progressão cefalocaudal (pata dianteira e boca até a pata traseira e genitália do animal), que estrutura quatro fases previsíveis com uma média de 25 movimentos; ou seja, é um padrão complexo com múltiplos componentes. A primeira fase, denominada *elliptical stroke* (em português curso elíptico), é rápida e possui entre 5 e 10 movimentos com ambas as patas simultânea e assimetricamente, com movimentos elípticos. A fase seguinte (*unilateral stroke*, em português curso unilateral) é mais curta (em média 0,25s) e é composta por 1-4 movimentos unilaterais e altamente assimétricos, que podem ser de baixa ou média amplitude na altura dos olhos, podendo haver alternância de lados. A fase três (*bilateral stroke*, em português curso bilateral) distingue-se visualmente das demais por ser composta entre 1 e 5 movimentos grandes com o uso de duas patas bilateralmente e ser extremamente estereotipado. A última fase (*body licking*, em português mordidas no corpo) é caracterizada pela postura virada para o lado ou para trás seguido de mordiscadas nas partes traseiras do corpo. Com isso, fica evidente que o comportamento de *grooming* é definido pela fricção das patas dianteiras no corpo do animal, começando pelo rosto e seguindo pelo corpo até a parte posterior do corpo (Berridge, 1989; Berridge et al., 2005; Berridge & Aldridge, 2000; Berridge & Whishaw, 1992; Berridge & Whishaw, 1992; Kalueff et al., 2016).

A partir disso, surge a possibilidade de dividir em dois tipos de *grooming*, o rostral e o corporal: o primeiro seria caracterizado pelas três primeiras fases, devido o seu foco ser a região cefálica, enquanto o corporal é marcado pela ruptura da fase quatro que é destinada a região caudal. Há autores que distinguem esses subtipos em suas análises comportamentais (Casarrubea et al., 2019; Estanislau et al.,

2019a), mas há aqueles que não fazem a separação (Ahmad & Merali, 1988; Figueiredo, 2010; Linthorst et al., 1992; Parra, 1999). Desse modo, o *grooming* é um comportamento único que se divide em quatro fases, mas que pode ser executado seguindo a ordem prevista ou não a depender do contexto como será apresentado a seguir.

O *grooming* apresenta diferentes funções e significados a depender do contexto, como afirmado por Sachs (1988). O cuidado com a superfície corporal, a fim de limpá-lo de detritos e parasitas, isto é, a compreensão desse comportamento como autolimpeza é bem difundida, porém esta não é a única atribuição deste comportamento tão complexo, como pontuado no trabalho de Sachs. O *grooming* também desempenha o papel de manutenção corporal, por meio da termorregulação, manutenção de status social, aumento e diminuição da excitação comportamental e até conotação sexual (Bury & Schmidt, 1987; Spruijt et al., 1988, 1992). O papel desse comportamento é tão importante que pode regular e controlar os fatores relacionais, pois podem ser direcionados para o corpo do animal, denominado de *autogrooming*, ou para seus pares – *allogrooming*. Além disso, há outra função importante que seria o *displacement*, em português comportamento de deslocamento. Seria a versão do *grooming* que pode aparentar ser irrelevante, mas está ligada a liberação de energia acumulada quando o animal não há nenhuma atividade por fazer (Sachs, 1988; Spruijt et al., 1992).

Há diversas evidências que afirmam que a neurobiologia do *grooming* coincide com os mecanismos do estresse, devido ao seu papel na redução da excitação, isto é, compreende-se o retorno a homeostase após investir em uma atividade (Kalueff et al., 2016; Spruijt et al., 1992). Além disso, sabe-se que esse comportamento envolve a circuitaria dopaminérgica, os núcleos da base (estriato, globo pálido, substância nigra, núcleo accumbens e núcleo subtalâmico), amígdala, hipotálamo e a região neocortical, por se tratar de elementos ativados no controle motor de comportamentos complexos e estereotipados, como afirmado por Kalueff e seus colaboradores (2016). Nesse sentido, o estriado, o trato nigroestriado e o circuito corticoestriado, circuitos dopaminérgicos, controlam a expressão do *grooming*, o que é confirmado em pesquisas que evidenciam o impacto de alterações nesse trato impacta o comportamento em questão (Berridge et al., 2005; Berridge & Whishaw, 1992; Ferhat et al., 2023; Kalueff et al., 2007, 2016). Mais especificamente, o cerebelo atua como responsável pela modulação do

comportamento motor, enquanto o tronco encefálico controla a geração de padrões característicos da estereotipia. O estriato implementa a sequência dos movimentos. A amígdala responde pela modulação do comportamento específica a cada momento, destacando o porquê de existir uma diferenciação dos tipos de *grooming* a depender do contexto (Estanislau et al., 2019a; Kozler et al., 2017); enquanto isso o hipotálamo regula a atividade neuroendócrina, como a influência do hormônio adrenocorticotrófico (ACTH) que atua como um indutor de *grooming* (Spruijt et al., 1988, 1992). O neocórtex, por sua vez, irá reger a modulação geral desse comportamento. Por fim, explicitando a complexa neurobiologia desse comportamento (Para mais informações, ver revisão de Kalueff et al., 2016).

Uma vez apresentada a neurobiologia do *grooming*, torna-se possível compreender como certas lesões e alterações neurobiológicas podem impactar no comportamento do animal. Como demonstrado por Spruijt e seus colaboradores (1992), uma lesão no estriato acarreta na diminuição da sequência de *groomings*, mas não no número de comportamento. Por outro lado, a lesão do núcleo accumbens gera a supressão do comportamento, o que confirma o envolvimento da dopamina na facilitação do *grooming*. O estudo de Berridge e Wishaw (1992) aponta para os efeitos em diferentes níveis e tipos de lesão em regiões envolvidas na neurobiologia do *Grooming*. A lesão do córtex motor primário e o suplementar combinado impactam na completude da ação, enquanto uma lesão no motor secundário provoca o aumento de *grooming*. A retirada total do córtex (neocórtex e córtex cingulado anterior) reduz significativamente o *grooming* feito por ratos. Por sua vez, a retirada do córtex somada a uma ablação do estriato fez com que os animais não se recuperassem e mantem-se uma proporção menor de *groomings*, assim como um aumento do tempo gasto na fase um. A lesão cerebelar provoca um aumento de duas vezes na quantidade de *groomings* feitos e o tempo investido. Desse modo, evidenciando a complexidade e integração das regiões responsáveis por esse comportamento.

Devido ao papel de redução da excitação do *grooming*, esse comportamento é responsável por ser suscetível ao estresse e a ansiedade; isto é, o estresse e a ansiedade aumentam a sua expressão (Aguilar et al., 2002; Díaz-Morán et al., 2014; Estanislau et al., 2019a; Kalueff & Tuohimaa, 2005; Spruijt et al., 1992; Vuralli et al., 2019) Seguindo essa lógica, um ambiente novo gera estresse, assim acionando a produção de ACTH que induz o *grooming*. Em alguns casos, o estresse pode ser

tão grande que se torna uma patologia, como em quadros de Transtorno de Ansiedade (TA) e Transtorno Obsessivo Compulsivo (TOC) (Berridge & Whishaw, 1992; Graybiel & Saka, 2002). Kalueff e seus colaboradores (2016) demonstraram em sua revisão que o TA é caracterizado por um tipo de *grooming* excessivo, mas flexível; enquanto o TOC é marcado pelo *grooming* excessivo, mas rígido acerca da hierarquia do comportamento. Desse modo, justificando a ideia proposta por estudos sobre a diferença do *grooming* provocado pelo estresse e o *grooming* baseado na função de deslocamento (Estanislau et al., 2019a; Kozler et al., 2017).

Estanislau e seus colaboradores (2019), em seu estudo, pontuou como o modelo animal de ansiedade pode ter seu *grooming* modificado, justamente pela função de “acalmar” o animal, reduzindo a excitação e o desconforto. Ou seja, os animais podem apresentar alterações por terem que reduzir a ansiedade em situações ansiogênicas, visto que essas acionam a amígdala, que, por sua vez, ativa todo o circuito do medo e, por consequência, o eixo hipotálamo-pituitária-adrenal (HPA). Tal evidência é apresentada no modelo dos ratos romanos, na qual o rato Romano de Baixa Evitação (RBE) é mais reativo ao estresse, o que faz seu eixo HPA ser mais reativo, vinculando a Ansiedade (Escorihuela et al., 1995, 1999; Fernández-Teruel et al., 1997). Além disso, há dados que indicam que o RBE faz mais *groomings* do que o grupo controle (Aguilar et al., 2003).

Há modelos animais de TOC que confirma uma disfunção no sistema dopaminérgico nigroestriatal, o que provocaria um excesso de *grooming* (K. C. Berridge et al., 2005; Korff & Harvey, 2006). Tal ideia é comprovado com o modelo dos camundongos mutantes hiperdopaminérgicos de Berridge e seus colaboradores (2005), cujas sequências de *grooming* eram completas, considerando as quatro fases, enquanto os animais selvagens (grupo controle) completam a sequência apenas metade das vezes. Além disso, os mutantes apresentam uma maior porcentagem de inserção, reversão e omissão de fases; e foram melhores que o grupo controle na resistência e interrupção, retornando com mais frequência ao padrão completo, após a distração. Ou seja, os ratos mutantes apresentam padrões sequenciais mais rígidos, com o intuito de chegar a fase quatro, mesmo que tenha pequenas imperfeições durante o processo. O grupo controle, por sua vez, introduz imperfeições em seu padrão, sendo difícil retornar para a sequência completa. Portanto, os mutantes hiperdopaminérgicos foram mais propensos do que os ratos selvagens a executar sequências de cadeia sintática mais rígidas e fortemente

estereotipadas, caracterizando um modelo animal de TOC. Este mesmo modelo destaca que o *grooming* seria fruto da interrupção da neurotransmissão de dopamina, devido ao aumento da ativação de receptores D1 – responsável por características compulsivas relacionadas à perseveração e à rigidez sequencial, o que provoca um excesso de dopamina extracelular. Vale destacar que não há comprometimento motor do grupo selvagem, o que sugere que a diferença entre os grupos é oriunda de uma verdadeira rigidez por parte dos camundongos mutantes hiperdopaminérgicos.

O *grooming* excessivo, como demonstrado por Graybiel e Saga (2002), pode levar a lesões na pele do animal, assim sendo análogo ao comportamento de lavagem excessiva das mãos feita por pacientes com TOC. Tal ideia é descrita por Greer e Cappecchi (2002) no modelo *Hoxb8*, um mutante que apresenta *grooming* excessivo a ponto de remover a pelagem do rosto do animal e levar a automutilação, assim provocando anormalidade no Sistema Nervoso Periférico – mais especificamente uma alteração nos nervos. Com isso, esses animais possuem uma alteração na reação ao toque, pressão e nocicepção.

A neurobiologia do TDAH não é bem compreendida, mas apresenta um circuito fronto-estriatal rico em catecolaminas (Diaz Heijtz & Castellanos, 2006). A hipótese do TDAH, segundo tais autores, tem como base a ação da eficácia indireta dos agonistas dopaminérgicos, como o metilfenidato. Nesse sentido, cérebro seria mediado pela ativação de duas famílias distintas D1 e D2. Os receptores pertencem a uma “superfamília” de sete receptores transmembranas, cujo efeito é via proteína G acoplada a sinalização intracelular. Os receptores de D1 expressam altamente no estriato e no Córtex Pré Frontal - áreas relevantes para o TDAH. O modelo usado foi o *SHR* (*Spontaneous Hypertensive Rat*, em português, rato espontaneamente hipertenso) comumente usado como modelo animal de TDAH, como estabelecido por Sagvolden e seus colaboradores (Sagvolden, 2000; Sagvolden et al., 1993, 2005, 2008). O *grooming*, como demonstrado no modelo Knock-Out congênito de receptores D1 (D1R), estaria associado à ativação de receptores da classe D1 no cérebro, assim demonstrando um menor número de *groomings* (Waddington et al., 2005). Desse modo, assumindo que o D1R desempenha um papel na regulação desse comportamento, como consequência de o impacto de sua alteração no circuito frontal-estriado ser envolvido no controle motor nos animais *SHR*.

1.2.3

Rearing

O *rearing*, assim como o *grooming*, é um comportamento inato de animais de diversas espécies, sendo abordado como um comportamento exploratório e motor, pela maioria dos autores (Figueiredo, 2010; Sahakian et al., 1977; Vuralli et al., 2019), sendo uma exploração passiva (Arakawa, 2005) e locomoção vertical (Figueiredo, 2010). Considerado um determinante para o comportamento adulto e cerebral (Rosenzweig, 1971; Valzelli, 1973), pode-se afirmar que está presente em todos os roedores, visto que a exploração é um traço evolutivo. Nesse sentido, o *rearing* ocorre quando o animal fica sobre duas patas: um comportamento complexo e mais difícil, pois exige que ele se equilibre contra a gravidade (Wultz, 1990), tanto sendo apoiado em algo superfície ou sem apoio algum (Sturman, Germain & Bohacek, 2018; Figueiredo, 2010). Desse modo, é evidente que o *rearing*, diferentemente do *grooming* que é voltado para o corpo, é físico e sensorial (Ducottet et al., 2004).

A neurobiologia do *rearing* não é comumente estudada isoladamente. Por se tratar de um comportamento locomotor que caracteriza a hiperatividade, costuma-se compreendê-la pela visão dos transtornos em que são avaliados esse comportamento. No caso da ansiedade, é demonstrado, em um estudo sobre o impacto do estresse em ratos jovens e seu efeito nos traços de ansiedade, no qual é apontado que os animais expostos ao estresse e propensos ao TA possuem uma correlação negativa com a quantidade de *rearings*, ou seja, há uma maior concentração de dopamina no córtex pré-frontal medial, em um animal com menor expressão desse comportamento (Luo et al., 2014).

A relação da dopamina com a neurobiologia do *rearing* é vista no TDAH também, visto que os modelos animais desse quadro expõem uma disfunção dopaminérgica (para mais informações, ver a revisão de Russell, 2011), em especial no circuito fronto-estriatal que é rico em catecolaminas. O cérebro TDAH seria mediado pela ativação de duas famílias distintas D1 e D2. Os receptores pertencem a uma “superfamília” de sete receptores transmembranas, cujo efeito é via proteína G acoplada a sinalização intracelular. Os receptores de D1 expressam altamente no estriato e no Córtex Pré-Frontal (CPF) - áreas relevantes para o TDAH (Diaz Heijtz

& Castellanos, 2006). Segundo Russell e seus colaboradores (2005), o transtorno estudado estaria ligado aos genes D1, D4 e D5 (DRD1, DRD4, DRD5. Além disso, o gene receptor 4 (DRD4) mapeado no cromossomo 11p15.5 e variações desse são transportados pela dopamina da membrana plasmática - DAT (Sagvolden et al., 2005). Portanto, deixando evidente que uma hipofunção dopaminérgica estaria vinculado ao aumento do *rearing* (Russell, 2003; Viggiano et al., 2003), como demonstrado nos modelos animais Knock Out transportador de dopamina (DAT-KO) e camundongos transgênicos TR β 1 (Sontag et al., 2010). Portanto, a neurobiologia do TDAH envolve receptores dopaminérgicos, transportadores de neurotransmissores e sua liberação no Sistema Nervoso (Couto et al., 2010), mas uma vez destacando a influência da dopamina na expressão do *rearing*.

2

OBJETIVOS

2.1

Objetivo Geral

Avaliar o comportamento de *rearing* e *grooming* entre as linhagens dos ratos Cariocas.

2.2

Objetivos Específicos

- Analisar a frequência e a duração do comportamento de *rearing* e *grooming* em cada grupo da linhagem dos Cariocas;
- Comparar o comportamento de *rearing* e *grooming* entre as linhagens dos Cariocas;
- Identificar a discrepância dos comportamentos de *rearing* e *grooming* ao longo do tempo.

3

METODOLOGIA

A metodologia deste estudo foi de natureza analítica e descritiva e teve como base de dados as imagens obtidas no acervo do Laboratório de Neurociência Comportamental da Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro (PUC-Rio).

As gravações foram realizadas para a observação do comportamento dos animais durante os minutos que antecedem o choque no experimento da Caixa do Medo Contextual, segundo o protocolo estabelecido por de Castro Gomes & Landeira-Fernandez (2008). Nesse sentido, aplicou-se o conceito de redução dos 3R's propostos por Russel e Burch em 1959 (Goldberg & Hartung, 2006), uma vez que não foi utilizado nenhum animal, pois foram usadas gravações de experimentos anteriores, garantindo, assim, um maior cuidado relacionado com a bioética da pesquisa animal.

3.1

Animais

Para nortear a identificação dos Cariocas com Baixo Congelamento (CBC), que estariam relacionados a uma maior incidência motora antes de receberem o choque, assim como ocorre após e no dia de contexto, foram avaliados dois comportamentos, o *rearing* e o *grooming*. O número total de ratos Wistar Albino machos adultos (90 a 120 dias) foi de 108 animais, dividindo-se entre as três linhagens (CAC n = 34; CTL n = 36; CBC n = 38), considerando três gerações diferentes (S34 a S36); estabelecendo uma média de 36 animais por geração, 12 de cada linhagem.

3.2

Procedimento

Considera-se que a definição de *grooming* adotada segue a compreensão de que o comportamento é complexo e possui uma hierarquia representada pela progressão cefalocaudal, como evidenciado *a priori*. Nesse sentido,

compreendendo as quatro fases como um único comportamento; ou seja, compreende-se qualquer manifestação das quatro fases como *grooming*, independente de seguirem a sequência ou não, visto que seriam fases diferentes de um mesmo comportamento, como demonstrado pelos trabalhos de Berridge e seus colaboradores ao longo dos anos. Assim, considerou-se a definição do comportamento movimento de fricção das patas dianteiras na cabeça, nariz e orelha, podendo ser seguido ou não pela limpeza do corpo/tronco, da região genitália, cauda e patas, excluindo a ação de coçar (Ahmad & Merali, 1988; Kalueff & Tuohimaa, 2005). O *rearing*, por sua vez, é, segundo Parra (1999), o “comportamento de levantar-se consiste na postura bípede do rato, apoiando-se nas patas posteriores, estando ereto ou semi-arqueado”. Assim como Parra, outros autores classificam a ação de explorar quando o animal se alonga para cheirar e conhecer objetos e/ou o ambiente (Sahakian et al., 1977), assim erguendo-se sob as patas traseiras com ou sem apoio das dianteiras (Kozler et al., 2017; Wultz et al., 1990). Pautado nisso, para este trabalho, considerou-se *rearing* todas as vezes que os ratos ficavam de pé apoiados apenas nas patas dianteiras, podendo haver apoio na caixa ou não.

Para que não houvesse nenhum viés no estudo, todos os animais receberam um número de identificação, para que a autora não soubesse quem era CAC, CBC nem CTL, preservando os dados da influência de expectativas. Além disso, visando a replicabilidade, elemento importante para pesquisas experimentais, outro experimentador analisou os vídeos nos primeiros momentos, para garantir que os resultados aqui apresentados fossem igualmente encontrados por outra pessoa. Dessa forma, a metodologia foi pensada para contemplar os fundamentos da pesquisa comparativa e experimental.

Os vídeos analisados são compostos pelos oito minutos que antecedem o choque da Caixa de Medo Contextual da Linhagem dos Cariocas; isto é, o primeiro dia do teste (8 minutos de habituação – 3 choques – 3 minutos), no qual, após o tempo analisado, o animal recebe 3 choques (0.6mA), com intervalo de 10s cada. Foi escolhido esse recorte temporal, pois já possuímos evidências do tempo pós choque, como apresentado nos trabalhos de nosso grupo. Entretanto não foi aprofundado o estudo sobre o comportamento anterior ao choque. Como medidas foram avaliadas a frequência e tempo de duração de cada comportamento indicado. A mensuração foi feita por meio do *software* X-PloRat, “que permite o registro da

localização, deslocamento e outras propriedades do comportamento animal em espaços confinados” (Tejada et al., 2018).

3.3

Análise Estatística

As análises estatísticas foram realizadas com o *software* IBM SPSS 23 e o pacote de dados estatísticos do Microsoft Excel. A avaliação da reprodutibilidade das contagens dos comportamentos de *rearing* e de *grooming* foram feitas por correlação entre medidas obtidas por dois experimentadores independentes “cegos” com relação a identidade do grupo experimental de cada animal. Análises de variância repetição (rANOVAs) foram usadas para analisar a frequência e o tempo total de *rearing* e *grooming*, com linhagem (CAC, CBC e CTL) e intervalo como cofatores. Quando efeitos significativos de linhagem reprodutiva e droga, ou interações entre eles foram detectadas, ANOVAs de ordem inferior apropriados foram realizadas, seguido por testes post hoc de *Fisher Protected Least Significant Difference* (FPLSD). Para todos os testes estatísticos, a significância foi estabelecida em $p < 0,05$ (bicaudal).

4

RESULTADOS

A figura 1 ilustra que existe uma boa correlação entre as contagens de *grooming* e de *rearing* de 33 animais obtidas por dois experimentadores “cegos” com relação a identidade do grupo experimental de cada animal (i.e., CAC, CBC e CTL), indicando que o método de avaliação destas mediadas é reprodutível e independente do experimentador.

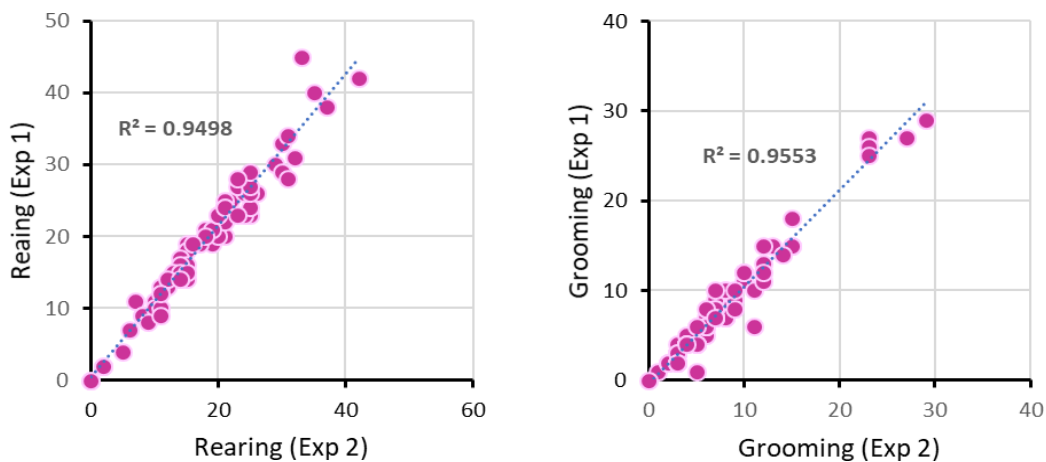


Figura 1 - Coeficientes de correlação: O R de Person dos comportamentos deixa claro que, a partir da teoria e definição neste trabalho apresentadas, é possível a reprodutibilidade.

A rANOVA do comportamento de *rearing* revelou um efeito principal da linhagem tanto para a frequência [$F(2,00) = 13,16$, $p < 0,0001$], como para o tempo total [$F(2,00) = 9,86$, $p < 0,0001$]. Conforme ilustrado na figura 2, foram observadas diferenças significativas entre as medidas de frequência (A) e tempo total (B) de *rearing* entre os grupos experimentais. Os ratos CBC apresentam significativamente uma maior frequência e duração do comportamento de *rearing* quando comparados aos grupos CAC e CTL.

Acerca da medida de *rearing*, também foi identificado, através rANOVA do comportamento, um efeito significativo do intervalo para a frequência [$F(3,60) = 45,94$, $p < 0,0001$] e tempo total [$F(3,43) = 21,51$, $p < 0,0001$]. A figura 3 mostra que para todos os grupos houve uma queda da frequência (A) e do tempo (B) de *rearing* ao longo do tempo.

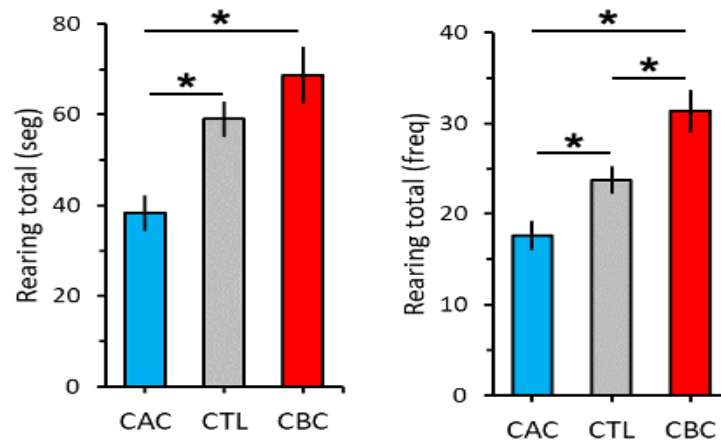


Figura 2 - Os gráficos ilustram as médias \pm EPM da frequência (A) e do tempo total (B) de rearing dos grupos CAC, CBC e CTL. * $P < 0.05$, LSD post hoc test.

Não foram observadas interações entre *linhagem e intervalo* tanto para a frequência [$F(7,19) = 1,63$, $p = 0,109$], como para o tempo de rearing [$F(6,87) = 1,29$, $p = 0,256$], como visto na Figura 3 (A e B).

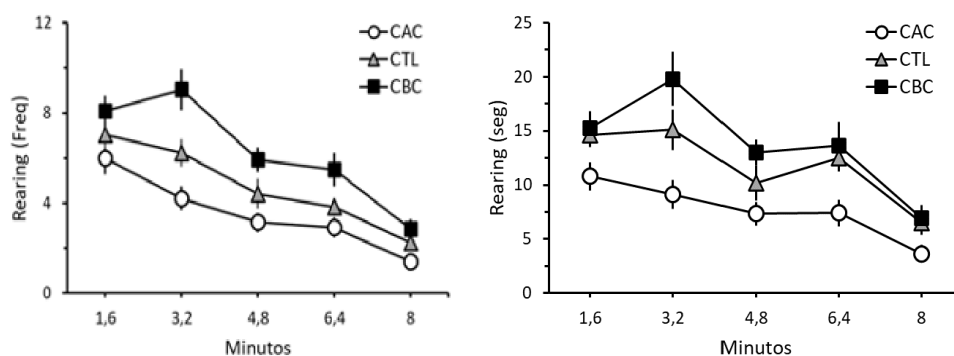


Figura 3 - Os gráficos ilustram as médias \pm EPM da frequência (A) e do tempo total (B) de rearing ao longo dos diferentes intervalos de tempo para os grupos CAC, CBC e CTL. O tempo total da sessão de teste (8 minutos) foi subdividido em 5 intervalos iguais de 1,6

A rANOVA do comportamento de *grooming* revelou um efeito principal da linhagem para o tempo total [$F(2,00) = 6,35$, $p < 0,01$] e não para a frequência [$F(2,00) = 1,87$, $p = 0,159$]. Desta forma, diferenças significativas entre os grupos foram apenas observadas para a variável tempo total (figura 4B). Ratos CBC apresentaram uma diminuição significativa no tempo total de *grooming* em comparação aos grupos CAC e CTL.

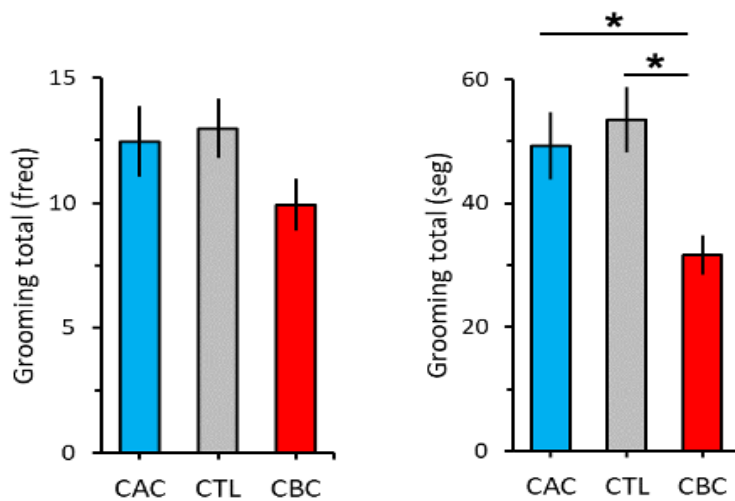


Figura 4 - Os gráficos ilustram as médias \pm EPM da frequência (A) e do tempo total (B) de grooming dos grupos CAC, CBC e CTL. * $P < 0.05$, LSD post hoc test.

A rANOVA do comportamento de *grooming* também indicou um efeito significativo do intervalo apenas para a frequência [$F(3,76) = 5,46$, $p < 0,0001$] e não para o tempo total [$F(3,34) = 0,74$, $p = 0,543$]. Conforme ilustrado na figura 5, uma queda do comportamento ao longo dos intervalos de tempo só foi observada para a frequência de *grooming* (A).

De maneira similar ao que foi observado para a variável de *rearing*, não foram observadas interações entre *linhagem e intervalo* tanto para a frequência [$F(7,45) = 1,32$, $p = 0,232$], como para o tempo de *grooming* [$F(6,67) = 1,06$, $p = 0,387$].

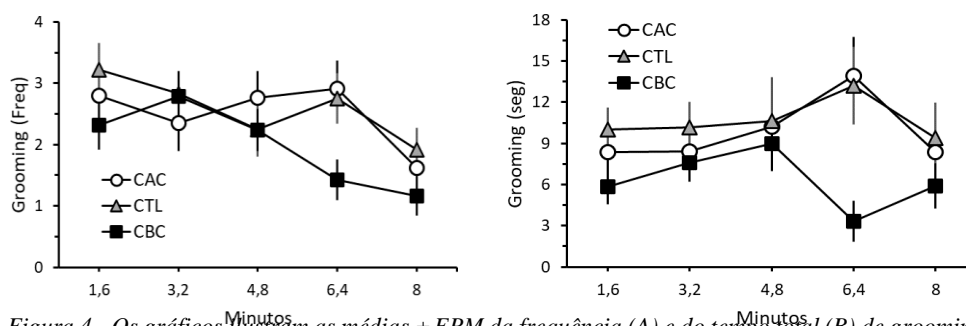


Figura 4 - Os gráficos ilustram as médias \pm EPM da frequência (A) e do tempo total (B) de grooming ao longo dos diferentes intervalos de tempo para os grupos CAC, CBC e CTL. O tempo total da sessão de teste (8 minutos) foi subdividido em 5 intervalos iguais de 1.

5

DISCUSSÃO

O presente estudo mensurou os comportamentos de *rearing* e *grooming* nas linhagens dos Cariocas. Os animais CBC demonstraram um comportamento exploratório, analisado pelo *rearing*, significativamente maior em frequência e duração. A respeito do *grooming*, os CBC apresentaram uma menor duração na execução. Tais evidências são compatíveis com estudos que usam esses comportamentos para validar modelos animais de hiperatividade e TDAH (Lalonde & Strazielle, 2009; Ohno et al., 2012; Ruocco, Carnevale, et al., 2009). Nesse sentido, nossos achados corroboram a hipótese de ser o CBC um modelo animal de TDAH, como pontuado por (Lages et al., 2021; Landeira-Fernandez, 2019; Macêdo-Souza et al., 2020).

O *grooming* é uma atividade que pode ter vários significados etiológicos, como apresentado *a priori*; devido a isso, o aumento de sua expressão pode significar diferentes quadros a depender do contexto, como comportamento inato de perseveração, ansiedade e volta a homeostase (*desarousal*). Há estudos evidenciando que o aumento de *grooming* em diferentes testes pode variar sua significância (Estanislau et al., 2019; Kozler et al., 2017), demonstrando uma ausência de diferença significativa na frequência desse comportamento justificado pelo fato de ser um comportamento natural dos animais. Por outro lado, há também a compreensão do *grooming* como uma evidência de ansiedade, o que se aproxima da classificação “*desarousal*”, visto que esse tem como objetivo acalmar o animal e ajudá-lo a voltar para o estado de homeostase. Uma vez que há uma variedade nos significados, torna-se possível compreender como os dois extremos da linhagem dos Cariocas apresentam diferentes funções.

Estudos anteriores confirmam que o CAC pode ser considerado um robusto modelo animal de TAG (De Castro Gomes et al., 2011; Lages et al., 2021; 2022). Com isso, é um animal cuja primeira reação sempre é o congelamento expressão comportamental de seu medo patológico (de Castro Gomes & Landeira-Fernandez,

2008), o que justificaria a ausência de comportamento nesses animais em testes comportamentais.

Outro modelo consolidado é o dos ratos Romanos, que são oriundos de um cruzamento bidirecional, assim como os ratos Cariocas, e possuem uma vasta caracterização na literatura. Os ratos Romanos de Baixa Evitação (RBE) assemelham-se ao CAC, visto que possuem uma alta resposta emocional demonstrada pelo congelamento, que reduz sua performance, além de ter um aumento da ativação do eixo HPA (Aguilar et al., 2002; Escorihuela et al., 1995; Fernández-Teruel et al., 1997; Ferré et al., 1995; Guenaire et al., 1986). Da mesma forma, o CAC torna-se mais reativo ao estresse, o que provoca todo o acionamento dos mecanismos neurobiológicos da ansiedade e estresse. Tal cascata irá envolver diversas regiões corticais e subcorticais, como o neocortex, amígdala, hipotálamo, núcleos da base e tronco encefálico (Kalueff et al., 2016) e terá como evidência o aumento de *grooming* e *freezing*, assim corroborando com a concepção de que uma das funções do *grooming* é aliviar o estresse, desconforto e ansiedade, como demonstrado em diversos estudos (Bury & Schmidt, 1987; Estanislau et al., 2019; Kalueff & Tuohimaa, 2005; Vuralli et al., 2019). Outro estudo que corrobora essa visão é o feito por Estanislau et al. (2019), no qual a análise do *grooming* no teste do medo condicionado ao contexto foi positiva para o congelamento, considerando o teste de extinção como positivamente correlacionado com o congelamento do teste do medo contextual; explicando, então, por que não haveria diferença significativa no dado dessa linhagem. Ademais, foi evidenciado o aumento de *grooming* em ambientes novos, explicitando o *desarousal* (Díaz-Morán et al., 2014; Estanislau et al., 2019). Por isso, quando a frequência desse comportamento aumenta significativamente, deixa de ser algo típico e passa a ser patológico, podendo caracterizar um quadro repetitivo típico de Transtorno Obsessivo Compulsivo ou Transtorno do Espectro Autista (Para saber mais, veja a revisão de Korff & Harvey, 2006). Ou seja, para o CAC, um modelo de ansiedade, é evidente que o *grooming* tem uma função de destacar os traços ansiogênicos e o papel ansiolítico, sem demonstrar nenhum indício patológico devido a expressão de tempo dentro do esperado desse comportamento inato de perseveração, o que é expresso por uma falta de significância estatística.

O *grooming* feito pelos CBCs, por sua vez, seria caracterizado como uma atividade inata, de manutenção, conhecida também como *displacement*. Como

esses animais apresentam uma maior hiperatividade, sua energia é liberada através do comportamento exploratório exacerbado, o que também é demonstrado pela linhagem dos ratos romanos, em especial os ratos Romanos de Alta Evitação (RAE). Esse grupo demonstra maior impulsividade e hiperatividade (Coppens et al., 2012; Estanislau et al., 2019; Moreno et al., 2010), justificando a razão desse grupo possuir uma menor duração desse comportamento. Além disso, há evidências da influência da circuitaria dopaminérgica na redução da expressão dessa ação (Berridge et al., 2005; Berridge & Aldridge, 2000b; Bury & Schmidt, 1987; Coppens et al., 2012; Fernández-Teruel et al., 1997; Kalueff & Tuohimaa, 2005).

Um ponto importante a destacar acerca do *grooming* é que, independente da função que esse comportamento tenha, ocorre uma ativação dopaminérgica, principalmente devido a circuitaria envolvida e o papel crítico que o estriato possui (Berridge et al., 2005; Berridge & Whishaw, 1992; Ferhat et al., 2023; Kalueff et al., 2007, 2016). Nesse aspecto, como apresentado no subcapítulo sobre *grooming*, quaisquer alterações nessa intensidade dessa ação é consequência de uma disfunção dopaminérgica ou uma possível lesão em alguma das áreas envolvidas – dada a complexidade do comportamento em questão (Diaz Heijtzt & Castellanos, 2006).

O *rearing*, por sua vez, é um comportamento exploratório clássico, como afirmado por Sturman et al. (2018). Sua mensuração é constantemente utilizada para medir hiperatividade, visto que essa, em modelos animais, é classificada como uma exploração excessiva (Linthorst et al., 1992; Vuralli et al., 2019). Há indícios, assim como o *grooming*, esse comportamento também tenha influência dopaminérgica (Coppens et al., 2012). No entanto, devido a falta de estudos focados unicamente na neurobiologia desse comportamento, a compreensão sobre o *rearing* é oriunda do estudo dessa ação dentro de algum quadro patológico, como problemas motores, psicológicas e neurológicos (Diaz Heijtzt & Castellanos, 2006; Huang et al., 2013; Olmedo-Córdoba et al., 2023).

Assim como o CAC, o rato Romano de Baixa Evitação (RBE) apresenta uma baixa frequência e duração deste comportamento, o que se justifica pela ansiedade expressa distintamente pelo congelamento, como dito *a priori*. Além disso, segundo o experimento feito por Estanislau et al. (2019a), o *rearing*, assim como os crossings (comportamento de cruzar os quadrantes do ambiente), possuem uma correlação negativa com o congelamento, visto que destacam os traços exploratórios do animal – ausentes em modelos animais de ansiedade.

A hiperatividade, medida por *rearings*, é usada como uma avaliação para um possível modelo animal de TDAH, tal qual apresentado no modelo animal de Ratos Espontaneamente Hipertensos (*SHR*, sigla do inglês), cujos resultados apontam que os animais apresentam um maior comportamento motor, dentre suas características o *crossing* e o *rearing*, como formas de caracterizar o comportamento hiperativo (Huang et al., 2013; Sagvolden, 2000; Sagvolden et al., 2005, 2008). Os ratos Romanos de Alta Evitação (RAE) assemelham-se ao CBC, devido a alta evitação emocional e uma maior incidência de comportamentos exploratórios, como o *rearing*, e um menor tempo gasto em *grooming*; ademais, observa-se nos RAE uma alteração dopaminérgica no Córtex Pré Frontal, que poderia gerar a impulsividade (Coppens et al., 2012; Fernández-Teruel et al., 1997; Luo et al., 2014; Olmedo-Córdoba et al., 2023). Observa-se que os modelos animais de hiperatividade e TDAH apresentam uma maior frequência e duração na exploração do ambiente, como destacada na revisão de Sontag e seus colaboradores ((Sontag et al., 2010). Outros estudos apontam que o aumento de *rearing* é uma resposta natural a novidade, mas, quando aumentado, caracteriza uma patologia (Calzavara et al., 2011; Muneoka et al., 2006; Rizzo et al., 2017; Vitalo et al., 2009). Nesse sentido, embora haja autores, como Sagvolden e seus colaboradores (2000; 2005, 2008; 2012), que afirmem que a locomoção e exploração excessiva, em momentos de novidade, não sejam consideradas hiperatividade, os animais desse grupo na volta para a Caixa do Medo Contextual continuam apresentando o mesmo comportamento explorador, como apresentado em toda a literatura de nosso grupo (De Castro Gomes et al., 2011; Lages et al., 2021; León et al., 2017). Ou seja, a maior frequência e duração, quando comparado com o CAC e o grupo CTL, evidenciam que o CBC é um modelo hiperativo; visto que ele inicia mais movimentos de busca e investe mais tempo nisso. Tal evidência é mais um passo em direção a confirmação da hipótese do TDAH. Pode-se compreender, portanto, que, em concordância com diversos estudos, um aumento significativo de *rearing* e uma diminuição ou não significância de *grooming* são esperados em modelos animais de Hiperatividade e TDAH (Abdulla et al., 2020; Lalonde & Strazielle, 2009; Negishi et al., 2005).

Há estudos que utilizam modelos animais de TDAH e buscaram estudar a relação entre o *rearing* e o *grooming* e a psicopatologia em questão. Algo pontuado é que, independente do tipo de modelo animal usado, há uma hiperlocomoção que

gera uma hiperatividade, geralmente composta pelo excesso de *rearings* (Besson et al., 2008; Hewitt et al., 2009; Kiguchi et al., 2008; Muneoka et al., 2006; Ohno et al., 2012). Contudo, muitos dos estudos não encontram resultado significativo acerca do *grooming*, como Abdulla e seus colaboradores (2020). Outros apontam que há uma redução do *grooming* (Besson et al., 2008). Apesar dessa falta de coesão acerca do comportamento de *grooming* no TDAH, sabe-se que a presença desse comportamento teria uma função diferente da manifestada em quadros compulsivos, como o TOC (Berridge et al., 2005; Berridge & Aldridge, 2000a; Kalueff et al., 2007, 2016; Kalueff & Tuohimaa, 2005; Korff & Harvey, 2006; Matell et al., 2006; Sachs, 1988; Spruijt et al., 1988, 1992). Nesse quadro, o *grooming* teria o papel de atividade deslocada, visto que não haveria nenhuma concepção de desconforto e ansiedade nas situações estudadas; isto é, descartando qualquer possibilidade de um comportamento compulsivo.

Sabe-se que, ao se utilizar uma técnica de seleção bidirecional voltada para a escolha de um comportamento, outros comportamentos podem ser selecionados por consequência (Ponder et al., 2007; Wegener et al., 2011). Tal fato decorre do compartilhamento genético e, por efeito, de seus fenótipos, como mencionado no artigo de Wickelgren (2024). Ou seja, ao selecionar o comportamento ansioso, pode ter ocorrido mais de uma escolha fenotípica, uma vez que existem sintomas que são comuns a diversos quadros psicopatológicos, como a hiperatividade ou sua ausência. No artigo supracitado, é feita uma exemplificação que utiliza a febre, visto que é um sintoma genérico que aparece em diversos quadros diagnósticos. Nesse sentido, a presença de certos sintomas justifica-se pelo fato da maioria dos transtornos psicopatológicos terem genes compartilhados, o que, por sua vez, aumenta as chances de futuras gerações terem o mesmo quadro ou outro quadro cujo genética é partilhada. Observa-se assim a existência de comportamentos psicopatológicos que podem estar presentes em mais de uma condição clínica, o que é visto no caso do *grooming* em animais. Desse modo, é evidente que a Linhagem CAC é robusta para o TAG e a CBC é um possível modelo de TDAH. Destaca-se que essa segunda seleção não ocorreu de forma proposital e sim como uma consequência dos múltiplos cruzamentos feitos ao longo dos anos, que perpetuaram suas características, possivelmente gerando um novo modelo animal, ao considerar os novos dados de sobreposição genética na psicopatologia.

Na vivência clínica, é inquestionável que os pacientes com TDAH apresentam uma hiperatividade que acarreta prejuízos em diversos âmbitos de sua vida (Maia & Confortin, 2015). Desse modo, pode-se evidenciar que o comportamento hiperativo, caracterizado pelo aumento significativo de *rearing* no CBC, e a baixa expressão de *grooming*, comportamento de manutenção, são evidências comportamentais para a corroboração da hipótese desse grupo ser um modelo animal de TDAH; aproximando mais uma vez a linhagem dos Cariocas dos Romanos, visto que o RAE apresenta a mesma tendência que o CBC (Escorihuela et al., 1999).

O presente estudo confirma as impressões e observações apresentadas por estudos anteriores de nosso grupo (Lages, Maisonnnette, Rosseti, Galvão, et al., 2021; León et al., 2020; Macêdo-Souza et al., 2020), nos quais fica evidente o impacto do circuito dopaminérgico nesses animais e como sua menor aquisição poderia ser oriunda de uma hiperatividade, respectivamente. O estudo de Lages e seus colaboradores (2021) apresenta dados sobre o impacto da circuitaria dopaminérgica, por meio da administração de Metilfenidato (Ritalina, Novartis) e do Haloperidol, no comportamento do CBC. O animal, habitualmente hiperativo, após a administração do primeiro fármaco, apresentou um comportamento de medo, o congelamento. A mudança disso seria proveniente da redução da hiperatividade e do aumento do foco atencional proporcionado pelo remédio, permitindo, então, a aprendizagem aversiva que gera o congelamento. O mesmo resultado pode ser apresentado pela revisão feita por de la Peña e seus colaboradores (2018). Por outro lado, ao receber Haloperidol, o CBC teve um efeito catatônico ainda maior do que já esperado pela droga usada. Nesse sentido, evidenciando que essa substância possui um efeito modulador no sistema dopaminérgico (Bury & Schmidt, 1987; Spruijt et al., 1988, 1992). E, corroborando o papel, então o papel fundamental da dopamina na compreensão do comportamento do CBC.

O trabalho de León e seus colaboradores (2020) baseia a possibilidade do CBC ser um modelo de TDAH, devido a diminuição da atividade Fos no PVN associado ao núcleo basolateral da amígdala (BLA), região associada a aprendizagem aversiva provocada pela Caixa do Medo Contextual. Ou seja, há uma hipoativação do circuito do medo e, conseqüentemente, uma menor ativação dos neurônios do Lobo Límbico. Além disso, o mesmo estudo pontuou que o PR - área associativa que combina, integra e representa modalidades sensoriais diferentes a

partir de informações poligonais - desempenha um papel importante no processamento das pistas contextuais (Corodimas & LeDoux, 1995). Dias Heijtz e Castellanos (2006) apresentam o papel do c-fos no TDAH e confirmam a influência do receptor D1 nesse circuito.

Segundo Macêdo-Souza (2020), a rápida extinção da aprendizagem do CBC seria devido a sua natureza hiperativa. Vale ressaltar que não há nenhum comprometimento motor e biológico entre as linhagens (Dias et al., 2009; Hassan et al., 2013). Portanto, fica evidente que o estudo a respeito do *grooming* e do *rearing* confirmam as evidências preditiva, de constructo e face encontradas por nosso grupo, respectivamente (Lages et al., 2021; León et al., 2020; Macêdo-Souza et al., 2020). Com isso, corroborando o papel dopaminérgico dos comportamentos avaliados nesse trabalho e a influência dessa circuitaria em indivíduos com TDAH (Ugarte et al., 2023).

6

CONCLUSÃO

Com base nos resultados obtidos neste trabalho, foi possível concluir que a frequência e a duração do CBC se destacaram como significativamente maior e menor a respeito do *rearing* e *grooming*, respectivamente. As outras linhagens (CAC e CTL) demonstraram significância, diferenciando-se entre si, nas medidas do *rearing*; porém não apresentaram resultado significativo no *grooming*. A discrepância entre as linhagens ao longo do tempo, por sua vez, não pontuou nenhum dado significativo. Portanto, pode-se afirmar de que o aumento de *rearing* e a diminuição de *grooming* do CBC corroboram com a hipótese dessa linhagem ser um modelo animal de TDAH.

Cabe destacar que esse estudo é oriundo de vídeos pré-existent, estando de acordo com os 3 Rs da Bioética Animal e com as boas práticas de pesquisa. Tal decisão vai de acordo com as propostas feitas pela sociedade científica nos últimos anos, a fim de diminuir o uso de animais, sem diminuir a qualidade dos trabalhos produzidos e o impacto provocado (Gorzalczany & Rodriguez Basso, 2021; Passantino, 2008).

7

REFERÊNCIAS

- Abdulla, Z. I., Pahlevani, B., Lundgren, K. H., Pennington, J. L., Udobi, K. C., Seroogy, K. B., & Skelton, M. R. (2020). Deletion of the Creatine Transporter (Slc6a8) in Dopaminergic Neurons Leads to Hyperactivity in Mice. *Journal of Molecular Neuroscience*, 70, 102–111. <https://doi.org/10.1007/s12031-019-01405-w>
- Aguilar, R., Gil, L., Flint, J., Gray, J. A., Dawson, G. R., Driscoll, P., Giménez-Llort, L., Escorihuela, R. M., Fernández-Teruel, A., & Tobeá, A. (2002). Learned fear, emotional reactivity and fear of heights: a factor analytic map from a large F2 intercross of Roman rat strains. *Brain Research Bulletin*, 57(1), 17–26. [https://doi.org/10.1016/S0361-9230\(01\)00632-3](https://doi.org/10.1016/S0361-9230(01)00632-3)
- Aguilar, R., Gil, L., Gray, J. A., Driscoll, P., Flint, J., Dawson, G. R., Giménez-Llort, L., Escorihuela, R. M., Fernández-Teruel, A., & Tobeña, A. (2003). Fearfulness and sex in F2 Roman rats: males display more fear though both sexes share the same fearfulness traits. *Physiology & Behavior*, 78(4–5), 723–732. [https://doi.org/10.1016/S0031-9384\(03\)00043-X](https://doi.org/10.1016/S0031-9384(03)00043-X)
- Ahmad, Q., & Merali, Z. (1988). The spontaneously diabetic wistar-bb rat manifests altered grooming and catalepsy responses: Implications of impaired dopamine function. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 12(2–3), 291–298. [https://doi.org/10.1016/0278-5846\(88\)90047-4](https://doi.org/10.1016/0278-5846(88)90047-4)
- American Psychiatric Association. (2023). *Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais: DSM-5-TR* (5th ed.). Artmed.
- Arakawa, H. (2005). Interaction between isolation rearing and social development on exploratory behavior in male rats. *Behavioural Processes*, 70(3), 223–234. <https://doi.org/10.1016/j.beproc.2005.07.002>
- Azizi, D. (2019, March 9). *Entre a loucura e sua história – Descartes e Montaigne na História da Loucura*. <https://projeto-phronesis.wordpress.com/2010/03/09/entre-a-loucura-e-sua-historia-descartes-e-montaigne-na-historia-da-loucura/>

- Bari, A., & Robbins, T. W. (2013). Noradrenergic versus dopaminergic modulation of impulsivity, attention and monitoring behaviour in rats performing the stop-signal task. *Psychopharmacology*, 230(1), 89–111. <https://doi.org/10.1007/s00213-013-3141-6>
- Berridge, K. C. (1989). Progressive degradation of serial grooming chains by descending decerebration. *Behavioural Brain Research*, 33(3), 241–253. [https://doi.org/10.1016/S0166-4328\(89\)80119-6](https://doi.org/10.1016/S0166-4328(89)80119-6)
- Berridge, K. C., & Aldridge, J. W. (2000a). Super-Stereotypy I: Enhancement of a Complex Movement Sequence by Systemic Dopamine D1 Agonists. In *Synapse* (Vol. 37).
- Berridge, K. C., & Aldridge, J. W. (2000b). Super-Stereotypy I: Enhancement of a Complex Movement Sequence by Systemic Dopamine D1 Agonists. In *Synapse* (Vol. 37).
- Berridge, K. C., Aldridge, J. W., Houchard, K. R., & Zhuang, X. (2005). Sequential super-stereotypy of an instinctive fixed action pattern in hyper-dopaminergic mutant mice: A model of obsessive compulsive disorder and Tourette's. *BMC Biology*, 3. <https://doi.org/10.1186/1741-7007-3-4>
- Berridge, K. C., & Whishaw, I. Q. (1992). Experimental Brain Research Cortex, striatum and cerebellum: control of serial order in a grooming sequence. In *Exp Brain Res* (Vol. 90).
- Berridge, Kent C., & Whishaw, Ian Q. (1992). Cortex, striatum and cerebellum: control of serial order in a grooming sequence. *Experimental Brain Research*, 90(2). <https://doi.org/10.1007/BF00227239>
- Besson, M., Sandra, A. E., Ae, S., Cormier, A., Jean-Pierre, A. E., Ae, C., & Granon, S. (2008). Chronic Nicotine Exposure has Dissociable Behavioural Effects on Control and Beta2-/-Mice. *Behav Genet*, 38, 503–514. <https://doi.org/10.1007/s10519-008-9216-1>
- Bisognin, K. M., & Barros, H. M. T. (2014). *Autoadministração oral de cocaína em ratos machos e fêmeas com transtorno de déficit de atenção e hiperatividade (TDAH) induzido por 6hidroxidopamina*. Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre.
- Bolles, R. C. (1960). GROOMING BEHAVIOR IN THE RAT. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 53(3), 306–310.

- Bolognesi, M. F. (2002). O circo “civilizado.” *Sixth International Congress of the Brazilian Studies Association (BRASA)*.
- Brandão, M. L., Zanoveli, J. M., Ruiz-Martinez, R. C., 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), 1–13. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2007.10.018>
- Broadhurst, P. L. (1975). The Maudsley Reactive and Nonreactive strains of rats: A survey. *Behavior Genetics*, 5(4), 299–319. <https://doi.org/10.1007/BF01073201>
- Bury, D., & Schmidt, W. J. (1987). Effects of systemically and intrastrially injected haloperidol and apomorphine on grooming, feeding and locomotion in the rat. *Behavioural Processes*, 15(2–3), 269–283. [https://doi.org/10.1016/0376-6357\(87\)90012-X](https://doi.org/10.1016/0376-6357(87)90012-X)
- Cabin, D. E., Shimazu, K., Murphy, D., Cole, N. B., Gottschalk, W., McIlwain, K. L., Orrison, B., Chen, A., Ellis, C. E., Paylor, R., Lu, B., & Nussbaum, R. L. (2002). Synaptic Vesicle Depletion Correlates with Attenuated Synaptic Responses to Prolonged Repetitive Stimulation in Mice Lacking α -Synuclein. *The Journal of Neuroscience*, 22(20), 8797–8807. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.22-20-08797.2002>
- Calzavara, M. B., Levin, R., Medrano, W. A., Almeida, V., Sampaio, A. P. F., Barone, L. C., Frussa-Filho, R., & Abílio, V. C. (2011). Effects of antipsychotics and amphetamine on social behaviors in spontaneously hypertensive rats. *Behavioural Brain Research*, 225(1), 15–22. <https://doi.org/10.1016/J.BBR.2011.06.026>
- Casarrubea, M., Aiello, S., Di Giovanni, G., Santangelo, A., Palacino, M., & Crescimanno, G. (2019). Combining quantitative and qualitative data in the study of feeding behavior in male Wistar rats. *Frontiers in Psychology*, 10(APR). <https://doi.org/10.3389/fpsyg.2019.00881>
- Coppens, C. M., de Boer, S. F., Steimer, T., & Koolhaas, J. M. (2012). Impulsivity and aggressive behavior in Roman high and low avoidance rats: Baseline differences and adolescent social stress induced changes. *Physiology & Behavior*, 105(5), 1156–1160. <https://doi.org/10.1016/J.PHYSBEH.2011.12.013>

- Corodimas, K. P., & LeDoux, J. E. (1995). Disruptive effects of posttraining perirhinal cortex lesions on conditioned fear: Contributions of contextual cues. *Behavioral Neuroscience*, 109(4), 613–619. <https://doi.org/10.1037/0735-7044.109.4.613>
- Cortese, S., Song, M., Farhat, L. C., Yon, D. K., Lee, S. W., Kim, M. S., Park, S., Oh, J. W., Lee, S., Cheon, K.-A., Smith, L., Gosling, C. J., Polanczyk, G. V., Larsson, H., Rohde, L. A., Faraone, S. V., Koyanagi, A., Dragioti, E., Radua, J., ... Solmi, M. (2023). Incidence, prevalence, and global burden of ADHD from 1990 to 2019 across 204 countries: data, with critical re-analysis, from the Global Burden of Disease study. *Molecular Psychiatry*. <https://doi.org/10.1038/s41380-023-02228-3>
- Cosmides, L., & Tooby, J. (2000). Evolutionary psychology and the emotions. *Handbook of Emotions*, 2(2), 91–115.
- Couto, T. S., Melo-Junior, M. R., & Gomes, C. R. A. (2010). Aspectos neurobiológicos do transtorno do déficit de atenção e hiperatividade (TDAH): uma revisão. *Ciências & Cognição*, 15(1), 241–251.
- Cryan, J. F., & Holmes, A. (2005). The ascent of mouse: advances in modelling human depression and anxiety. *Nature Reviews Drug Discovery*, 4(9), 775–790. <https://doi.org/10.1038/nrd1825>
- Dalgalarrodo, P. (2008). *Psicopatologia e semiologia dos transtornos mentais*. Artmed.
- de Assis, M. (2014). *O Alienista* (Companhia das Letras).
- de Castro Gomes, V., & Landeira-Fernandez, J. (2008). Amygdaloid lesions produced similar contextual fear conditioning disruption in the Carioca high- and low-conditioned freezing rats. *Brain Research*, 1233, 137–145. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2008.07.044>
- De Castro Gomes, V., Silva, C. E. B., & Landeira-Fernandez, J. (2011). The Carioca High and Low Conditioned Freezing Lines: A New Animal Model of Generalized Anxiety Disorder. In *Anxiety Disorders* (pp. 121–134).
- de la Peña, J. B., dela Peña, I. J., Custodio, R. J., Botanas, C. J., Kim, H. J., & Cheong, J. H. (2018). Exploring the Validity of Proposed Transgenic Animal Models of Attention-Deficit Hyperactivity Disorder (ADHD). In

- Molecular Neurobiology* (Vol. 55, Issue 5, pp. 3739–3754). Humana Press Inc. <https://doi.org/10.1007/s12035-017-0608-1>
- Dias, G. P., Bevilaqua, M. C. do N., Silveira, A. C. D., Landeira-Fernandez, J., & Gardino, P. F. (2009). Behavioral profile and dorsal hippocampal cells in carioca high-conditioned freezing rats. *Behavioural Brain Research*, 205(2), 342–348. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2009.06.038>
- Diaz Heijtz, R., & Castellanos, F. X. (2006). Differential effects of a selective dopamine D1-like receptor agonist on motor activity and c-fos expression in the frontal-striatal circuitry of SHR and Wistar-Kyoto rats. *Behavioral and Brain Functions*, 2. <https://doi.org/10.1186/1744-9081-2-18>
- Díaz-Morán, S., Estanislau, C., Cañete, T., Blázquez, G., Ráez, A., Tobeña, A., & Fernández-Teruel, A. (2014). Relationships of open-field behaviour with anxiety in the elevated zero-maze test: Focus on freezing and grooming. *World Journal of Neuroscience*, 04(01), 1–11. <https://doi.org/10.4236/wjns.2014.41001>
- Dreher, J. K., & Jackson, D. M. (1989). Role of D1 and D2 dopamine receptors in mediating locomotor activity elicited from the nucleus accumbens of rats. *Brain Research*, 487(2), 267–277. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(89\)90831-7](https://doi.org/10.1016/0006-8993(89)90831-7)
- Drolet, G., Proulx, K., Pearson, D., Rochford, J., & Deschepper, C. F. (2002). Comparisons of Behavioral and Neurochemical Characteristics between WKY, WKHA, and Wistar Rat Strains. In *Neuropsychopharmacology* (Vol. 27, Issue 3). www.acnp.org/citations/
- Ducottet, C., Aubert, A., & Belzung, C. (2004). Susceptibility to subchronic unpredictable stress is related to individual reactivity to threat stimuli in mice. *Behavioural Brain Research*, 155(2), 291–299. <https://doi.org/10.1016/J.BBR.2004.04.020>
- Ennaceur, A. (2014). Tests of unconditioned anxiety - Pitfalls and disappointments. In *Physiology and Behavior* (Vol. 135, pp. 55–71). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2014.05.032>
- Escorihuela, R. M., Fernández-Teruel, A., Gil, L., Aguilar, R., Tobeña, A., & Driscoll, P. (1999). Inbred Roman High- and Low-Avoidance Rats: Differences in Anxiety, Novelty-Seeking, and Shuttlebox Behaviors.

- Physiology & Behavior*, 67(1), 19–26. [https://doi.org/10.1016/S0031-9384\(99\)00064-5](https://doi.org/10.1016/S0031-9384(99)00064-5)
- Escorihuela, R. M., Tobeña, A., & Fernández-Teruel, A. (1995). Environmental enrichment and postnatal handling prevent spatial learning deficits in aged hypoemotional (Roman high-avoidance) and hyperemotional (Roman low-avoidance) rats. *Learning & Memory*, 2(1), 40–48. <https://doi.org/10.1101/lm.2.1.40>
- Estanislau, C., Veloso, A. W. N., Filgueiras, G. B., Maio, T. P., Dal-Cól, M. L. C., Cunha, D. C., Klein, R., Carmona, L. F., & Fernández-Teruel, A. (2019a). Rat self-grooming and its relationships with anxiety, dearousal and perseveration: Evidence for a self-grooming trait. *Physiology & Behavior*, 209, 112585. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2019.112585>
- Estanislau, C., Veloso, A. W. N., Filgueiras, G. B., Maio, T. P., Dal-Cól, M. L. C., Cunha, D. C., Klein, R., Carmona, L. F., & Fernández-Teruel, A. (2019b). Rat self-grooming and its relationships with anxiety, dearousal and perseveration: Evidence for a self-grooming trait. *Physiology & Behavior*, 209, 112585. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2019.112585>
- Falconer, D. S., & Mackay, T. F. (1996). *Introduction to Quantitative Genetics* (4th ed.). Longman Scientific & Technical.
- Fanselow, M. S. (1980). Conditional and unconditional components of post-shock freezing. *The Pavlovian Journal of Biological Science*, 15(4), 177–182. <https://doi.org/10.1007/BF03001163>
- Fanselow, M. S. (1984). Opiate modulation of the active and inactive components of the postshock reaction: Parallels between naloxone pretreatment and shock intensity. *Behavioral Neuroscience*, 98(2), 269–277. <https://doi.org/10.1037/0735-7044.98.2.269>
- Fanselow, M. S., & Bolles, R. C. (1979). Naloxone and shock-elicited freezing in the rat. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 93(4), 736–744. <https://doi.org/10.1037/h0077609>
- Ferhat, A. T., Verpy, E., Biton, A., Forget, B., De Chaumont, F., Mueller, F., Le Sourd, A. M., Coqueran, S., Schmitt, J., Rochefort, C., Rondi-Reig, L., Leboucher, A., Boland, A., Fin, B., Deleuze, J. F., Boeckers, T. M., Ey, E., & Bourgeron, T. (2023). Excessive self-grooming, gene dysregulation and imbalance between the striosome and matrix

- compartments in the striatum of Shank3 mutant mice. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, 16, <https://doi.org/10.3389/fnmol.2023.1139118>
- Fernández-Teruel, A., Escorihuela, R. M., Castellano, B., González, B., & Tobeña, A. (1997). Neonatal Handling and Environmental Enrichment Effects on Emotionality, Novelty/Reward Seeking, and Age-Related Cognitive and Hippocampal Impairments: Focus on the Roman Rat Lines. *Behavior Genetics*, 27(6), 513–526. <https://doi.org/10.1023/A:1021400830503>
- Ferré, P., Fernández-Teruel, A., Escorihuela, R. M., Driscoll, P., Corda, M. G., Giorgi, O., & Tobeña, A. (1995). Behavior of the Roman/Verh high- and low-avoidance rat lines in anxiety tests: relationship with defecation and self-grooming. *Physiology & Behavior*, 58(6), 1209–1213. [https://doi.org/10.1016/0031-9384\(95\)02068-3](https://doi.org/10.1016/0031-9384(95)02068-3)
- Figueiredo, J. V. (2010). *Efeito da separação maternal na memória dependente do hipocampo de rato*. Universidade de Lisboa.
- Foucault, M. (1978). *História da loucura na Idade Clássica*. Ed. Perspectiva.
- Friedman, L. A., & Rapoport, J. L. (2015). Brain development in ADHD. *Current Opinion in Neurobiology*, 30, 106–111. <https://doi.org/10.1016/j.conb.2014.11.007>
- Gale, N. W., Dominguez, M. G., Noguera, I., Pan, L., Hughes, V., Valenzuela, D. M., Murphy, A. J., Adams, N. C., Lin, H. C., Holash, J., Thurston, G., & Yancopoulos, G. D. (2004). Haploinsufficiency of delta-like 4 ligand results in embryonic lethality due to major defects in arterial and vascular development. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 101(45), 15949–15954. <https://doi.org/10.1073/pnas.0407290101>
- Galvão, B. de O., Gomes, V. de C., Maisonnète, S., & Landeira-Fernandez, J. (2011). Panic-like behaviors in carioca high- and low-conditioned freezing rats. *Psychology and Neuroscience*, 4(2), 205–210. <https://doi.org/10.3922/j.psns.2011.2.005>
- Goldberg, A., & Hartung, T. (2006). Protecting more than animals. *Scientific American*, 294(1), 84–91.

- Gorzalczany, S. B., & Rodriguez Basso, A. G. (2021). Strategies to apply 3Rs in preclinical testing. *Pharmacology Research & Perspectives*, 9(5). <https://doi.org/10.1002/prp2.863>
- Goulart, V. G., Rocha-Mendonça, H., Maisonnnette, S., Pandolfo, P., Landeira-Fernandez, J., & Campello-Costa, P. (2021). Differential expression of glutamatergic receptor subunits in the hippocampus in carioca high- and low-conditioned freezing rats. *Molecular and Cellular Neuroscience*, 116. <https://doi.org/10.1016/j.mcn.2021.103666>
- Graeff, F. G., & Zangrossi, H. (2002). Animal models of anxiety. In H. D'Haenen, J. A. den Boer, & P. Willner (Eds.), *GRAEFF, F. G., & ZANGROSSI, H. Animal models of anxiety disorders. In H. D'Haenen, J. A. den Boer, & P. Willner (Eds.), Biological psychiatry, p. 879-893, 2002* (pp. 879–893).
- Gray, J. A. (1979). Emotionality in male and female rodents: A reply to Archer. *British Journal of Psychology*, 70(3), 425–440. <https://doi.org/10.1111/j.2044-8295.1979.tb01713.x>
- Graybiel, A. M. 1, & Saka, E. (2002). A Genetic Basis for Obsessive Grooming. *Neuron*, 33, 1–8.
- Greer, J. M., & Capecchi, M. R. (2002). Hoxb8 Is Required for Normal Grooming Behavior in Mice. *Neuron*, 33(1), 23–34. [https://doi.org/10.1016/S0896-6273\(01\)00564-5](https://doi.org/10.1016/S0896-6273(01)00564-5)
- Guarraci, F. A., Frohardt, R. J., & Kapp, B. S. (1999). Amygdaloid D1 dopamine receptor involvement in Pavlovian fear conditioning. *Brain Research*, 827(1–2), 28–40. [https://doi.org/10.1016/S0006-8993\(99\)01291-3](https://doi.org/10.1016/S0006-8993(99)01291-3)
- Guenaire, C., Feghali, G., Senault, B., & Delacour, J. (1986). Psychophysiological profiles of the roman strains of rats. *Physiology & Behavior*, 37(3), 423–428. [https://doi.org/10.1016/0031-9384\(86\)90200-3](https://doi.org/10.1016/0031-9384(86)90200-3)
- Hall, C. S. (1934). Emotional behavior in the rat. I. Defecation and urination as measures of individual differences in emotionality. *Journal of Comparative Psychology*, 18(3), 385–403. <https://doi.org/10.1037/h0071444>

- Hassan, W., De Castro Gomes, V., Pinton, S., Batista Teixeira Da Rocha, J., & Landeira-Fernandez, J. (2013). Association between oxidative stress and contextual fear conditioning in Carioca high- and low-conditioned freezing rats. *Brain Research*, 1512, 60–67. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2013.03.039>
- Hewitt, K. N., Marsden, C. A., Hollis, C. P., & Fone, K. C. F. (2009). Behavioural characterisation of the effects of acute and repeated administration of GBR 12909 in rats: Further evaluation of a potential model of ADHD. *Neuropharmacology*, 57(7–8), 678–686. <https://doi.org/10.1016/J.NEUROPHARM.2009.08.006>
- Hoffman, D. C., & Beninger, R. J. (1985). The D1 dopamine receptor antagonist, SCH 23390 reduces locomotor activity and rearing in rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 22(2), 341–342. [https://doi.org/10.1016/0091-3057\(85\)90401-0](https://doi.org/10.1016/0091-3057(85)90401-0)
- Howells, F. M., & Russell, V. A. (2008). Glutamate-stimulated release of norepinephrine in hippocampal slices of animal models of attention-deficit/hyperactivity disorder (spontaneously hypertensive rat) and depression/anxiety-like behaviours (Wistar-Kyoto rat). *Brain Research*, 1200, 107–115. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2008.01.033>
- Huang, E., Ngo, M., Yee, S., Held, L., Norman, K., Erika Scremin, A. M., & Scremin, O. (2013). Repeated blast exposure alters open field behavior recorded under low illumination. *Brain Research*, 1529, 125–133. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2013.06.042>
- Jolles, J., Rompa-Barendregt, J., & Gispen, W. H. (1979). Novelty and grooming behavior in the rat. *Behavioral and Neural Biology*, 25(4), 563–572. [https://doi.org/10.1016/S0163-1047\(79\)90362-5](https://doi.org/10.1016/S0163-1047(79)90362-5)
- Kalueff, A. V., Aldridge, J. W., LaPorte, J. L., Murphy, D. L., & Tuohimaa, P. (2007). Analyzing grooming microstructure in neurobehavioral experiments. *Nature Protocols*, 2(10), 2538–2544. <https://doi.org/10.1038/nprot.2007.367>
- Kalueff, A. V., Stewart, A. M., Song, C., Berridge, K. C., Graybiel, A. M., & Fentress, J. C. (2016). Neurobiology of rodent self-grooming and its value for translational neuroscience. In *Nature Reviews Neuroscience*

- (Vol. 17, Issue 1, pp. 45–59). Nature Publishing Group.
<https://doi.org/10.1038/nrn.2015.8>
- Kalueff, A. V., & Tuohimaa, P. (2005). The grooming analysis algorithm discriminates between different levels of anxiety in rats: potential utility for neurobehavioural stress research. *Journal of Neuroscience Methods*, 143(2), 169–177. <https://doi.org/10.1016/J.JNEUMETH.2004.10.001>
- Kaplan, H. I., & Sadock, B. J. (1988). *Synopsis of psychiatry: Behavioral sciences clinical psychiatry*, (5th ed.). Williams & Wilkins Co.
- Kiguchi, M., Satoshi, A. E., Ae, F., Oki, H., Noriyoshi, A. E., Ae, S., & Cools, A. R. (2008). Behavioural characterisation of rats exposed neonatally to bisphenol-A: responses to a novel environment and to methylphenidate challenge in a putative model of attention-deficit hyperactivity disorder. *J Neural Transm*, 115, 1079–1085. <https://doi.org/10.1007/s00702-008-0044-5>
- Kim, P., Choi, I., dela Pena, I. C., Kim, H. J., Kwon, K. J., Park, J. H., Han, S. H., Ryu, J. H., Cheong, J. H., & Shin, C. Y. (2012). A simple behavioral paradigm to measure impulsive behavior in an animal model of attention deficit hyperactivity disorder (ADHD) of the spontaneously hypertensive rats. *Biomolecules and Therapeutics*, 20(1), 125–131. <https://doi.org/10.4062/biomolther.2012.20.1.125>
- Korff, S., & Harvey, B. H. (2006). Animal Models of Obsessive-Compulsive Disorder: Rationale to Understanding Psychobiology and Pharmacology. In *Psychiatric Clinics of North America* (Vol. 29, Issue 2, pp. 371–390). <https://doi.org/10.1016/j.psc.2006.02.007>
- Kostrzewa, R. M., Brus, R., Kalbfleisch, J. H., Perry, K. W., Fullers, R. W., Brus, R., Kalbpleisch, J. H., Perry, K. W., & FULLER Proposedanimnlmodel, R. W. (1994). Proposed Animal Model of Attention Deficit Hyperactivity Disorder. In *Brain Research Bulletin* (Vol. 34, Issue 2).
- Kozler, P., Maresova, D., & Pokorny, J. (2017). Study of locomotion, rearing and grooming activity after single and/or concomitant lesions of central and peripheral nervous system in rats. *Neuro Endocrinology Letters*, 38(7), 495–501.

- Ladurelle, N., Sebret, A., Garbay, C., Roques, B. P., & Daugé, V. (1998). Opposite effects of CCK_B agonists in grooming behaviour in rats: further evidence for two CCK_B subsites. *British Journal of Pharmacology*, 124(6), 1091–1098. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0701933>
- Lages, Y. V., Balthazar, L., Krahe, Thomas. E., & Landeira-Fernandez, J. (2022). Pharmacological and Physiological Correlates of the Bidirectional Fear Phenotype of the Carioca Rats and Other Bidirectionally Selected Lines. *Current Neuropharmacology*, 21(9), 1864–1883. <https://doi.org/10.2174/1570159X20666221012121534>
- Lages, Y. V., Maisonnnette, S. S., Rosseti, F. P., Galvão, B. O., & Landeira-Fernandez, J. (2021). Haloperidol and methylphenidate alter motor behavior and responses to conditioned fear of Carioca Low-conditioned Freezing rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 211. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2021.173296>
- Lages, Y. V., Maisonnnette, S. S., Rosseti, F. P., & Landeira-Fernandez, J. (2021). Acquisition and extinction of contextual fear conditioning in Carioca high- and low-conditioned freezing rats. *Learning and Motivation*, 75. <https://doi.org/10.1016/j.lmot.2021.101744>
- Lalonde, R., & Strazielle, C. (2009). The relation between open-field and emergence tests in a hyperactive mouse model. *Neuropharmacology*, 57(7–8), 722–724. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2009.07.010>
- Landeira-Fernandez, J. (1996). Context and Pavlovian conditioning. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 29, 149–173.
- Landeira-Fernandez, J. (2019). On Becoming a Brazilian Full Professor in Psychology. In S. H. Koller (Ed.), *Psychology in Brazil* (pp. 257–281). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-030-11336-0_15
- Landeira-Fernandez, J., Fanselow, M. S., Decola, J. P., & Kim, J. J. (1995). Effects of handling and context preexposure on the immediate shock deficit. *Animal Learning & Behavior*, 23(3), 335–339. <https://doi.org/10.3758/BF03198930>
- Leo, D., & Gainetdinov, R. R. (2013). Transgenic mouse models for ADHD. *Cell and Tissue Research*, 354(1), 259–271. <https://doi.org/10.1007/s00441-013-1639-1>

- León, L. A., Brandão, M. L., Cardenas, F. P., Parra, D., Krahe, T. E., Cruz, A. P. M., & Landeira-Fernandez, J. (2020). Distinct patterns of brain Fos expression in Carioca High- and Low-conditioned Freezing Rats. *PLOS ONE*, *15*(7), e0236039. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0236039>
- León, L. A., Castro-Gomes, V., Zárate-Guerrero, S., Corredor, K., Mello Cruz, A. P., Brandão, M. L., Cardenas, F. P., & Landeira-Fernandez, J. (2017). Behavioral effects of systemic, infralimbic and prelimbic injections of a serotonin 5-HT_{2A} antagonist in carioca high- and low-conditioned freezing rats. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, *11*. <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2017.00117>
- Linthorst, A. C. E., Broekhoven, M. H., De Jong, W., Van Wimersma Greidanus, T. B., & Versteeg, D. H. G. (1992). Effect of SCH 23390 and quinpirole on novelty-induced grooming behaviour in spontaneously hypertensive rats and Wistar-Kyoto rats. *European Journal of Pharmacology*, *219*(1), 23–28. [https://doi.org/10.1016/0014-2999\(92\)90575-O](https://doi.org/10.1016/0014-2999(92)90575-O)
- Luo, X.-M., Yuan, S.-N., Guan, X.-T., Xie, X., Shao, F., & Wang, W.-W. (2014). Juvenile stress affects anxiety-like behavior and limbic monoamines in adult rats. *Physiology & Behavior*, *135*, 7–16. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2014.05.035>
- Macêdo-Souza, C., Maisonnète, S. S., Filgueiras, C. C., Landeira-Fernandez, J., & Krahe, T. E. (2020). Cued Fear Conditioning in Carioca High- and Low-Conditioned Freezing Rats. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, *13*. <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2019.00285>
- Magierek, V., Ramos, P. L., da Silveira-Filho, N. G., Nogueira, R. L., & Landeira-Fernandez, J. (2003). Context fear conditioning inhibits panic-like behavior elicited by electrical stimulation of dorsal periaqueductal gray. *14*(12), 1641–1644.
- Maia, M. I. R., & Confortin, H. (2015). TDAH E APRENDIZAGEM: UM DESAFIO PARA A EDUCAÇÃO. *Perspectiva*, *39*(148), 73–84.
- Maki, Y., Inoue, T., Izumi, T., Muraki, I., Ito, K., Kitaichi, Y., Li, X., & Koyama, T. (2000). Monoamine oxidase inhibitors reduce conditioned fear stress-induced freezing behavior in rats. *European Journal of*

- Pharmacology*, 406(3), 411–418. [https://doi.org/10.1016/S0014-2999\(00\)00706-8](https://doi.org/10.1016/S0014-2999(00)00706-8)
- Matell, M. S., Berridge, K. C., & Wayne Aldridge, J. (2006). Dopamine D1 activation shortens the duration of phases in stereotyped grooming sequences. *Behavioural Processes*, 71(2–3), 241–249. <https://doi.org/10.1016/j.beproc.2005.09.008>
- Miguel, P. M. (2014). *Hipóxia-isquemia neonatal e o desenvolvimento de características relacionadas ao transtorno de déficit de atenção/hiperatividade em ratos wistar machos : análises comportamentais e dano tecidual cerebral*. Universidade Federal do Rio Grande do Sul.
- Moisan, M.-P., Llamas, B., Cook, M. N., & Mormède, P. (2003). Further dissection of a genomic locus associated with behavioral activity in the Wistar–Kyoto hyperactive rat, an animal model of hyperkinesis. *Molecular Psychiatry*, 8(3), 348–352. <https://doi.org/10.1038/sj.mp.4001234>
- Montgomery, K. C. (1955). The relation between fear induced by novel stimulation and exploratory drive. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 48(4), 254–260. <https://doi.org/10.1037/h0043788>
- Moreno, M., Cardona, D., Gómez, M. J., Sánchez-Santed, F., Tobeña, A., Fernández-Teruel, A., Campa, L., Suñol, C., Escarabajal, M. D., Torres, C., & Flores, P. (2010). Impulsivity Characterization in the Roman High- and Low-Avoidance Rat Strains: Behavioral and Neurochemical Differences. *Neuropsychopharmacology*, 35(5), 1198–1208. <https://doi.org/10.1038/npp.2009.224>
- Morris, R. W., & Bouton, M. E. (2006). Effect of unconditioned stimulus magnitude on the emergence of conditioned responding. *Journal of Experimental Psychology: Animal Behavior Processes*, 32(4).
- Muneoka, K., Kuwagata, M., Iwata, M., Shirayama, Y., Ogawa, T., & Takigawa, M. (2006). Dopamine transporter density and behavioral response to methylphenidate in a hyperlocomotor rat model. *Congenital Anomalies*, 46, 155–159. <https://doi.org/10.1111/j.1741-4520.2006.00119.x>

- Myers, D. G. (2016). *Psicologia* (9th ed.). LTC.
- Negishi, T., Kawasaki, K., Sekiguchi, S., Ishii, Y., Kyuwa, S., Kuroda, Y., & Yoshikawa, Y. (2005). Attention-deficit and hyperactive neurobehavioural characteristics induced by perinatal hypothyroidism in rats. *Behavioural Brain Research*, 159(2), 323–331. <https://doi.org/10.1016/J.BBR.2004.11.012>
- Nestler, E. J., & Hyman, S. E. (2010). Animal models of neuropsychiatric disorders. *Nature Neuroscience*, 13(10), 1161–1169. <https://doi.org/10.1038/nn.2647>
- Ohno, Y., Okano, M., Masui, A., Imaki, J., Egawa, M., Yoshihara, C., Tatara, A., Mizuguchi, Y., Sasa, M., & Shimizu, S. (2012). Region-specific elevation of D1 receptor-mediated neurotransmission in the nucleus accumbens of SHR, a rat model of attention deficit/hyperactivity disorder. *Neuropharmacology*, 63(4), 547–554. <https://doi.org/10.1016/J.NEUROPHARM.2012.04.031>
- O’Leary, K. (2021). Treatment dilemmas in childhood ADHD. *Nature Medicine*. <https://doi.org/10.1038/d41591-021-00032-6>
- Olmedo-Córdoba, M., Moreno-Montoya, M., Mora, S., Prados-Pardo, Á., & Martín-González, E. (2023). Avoidance and inhibitory control are possible transdiagnostic traits? A systematic review in animal models. *Behavioural Brain Research*, 451, 114500. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2023.114500>
- Pais, S. C., Menezes, I., & Nunes, J. A. (2016). Saúde e escola: reflexões em torno da medicalização da educação. *Cadernos de Saúde Pública*, 32(9). <https://doi.org/10.1590/0102-311X00166215>
- Parra, L. F. C. (1999). *Efeito da remoção das vibrissas mistaciais sobre o comportamento exploratório do rato no labirinto em cruz elevado sob condições de claridade e obscuridade*. [Universidade de São Paulo]. <https://doi.org/10.11606/D.59.1999.tde-08032002-161055>
- Passantino, A. (2008). Application of the 3Rs Principles for Animals Used for Experiments at the Beginning of the 21st Century. *Annual Review of Biomedical Sciences*, 10(0). <https://doi.org/10.5016/1806-8774.2008.v10pT27>

- Pavlov, I. P. (1928). *Conditioned reflexes: An investigation of the physiological activity of the cerebral cortex*. Oxford University Press: Humphrey Milford.
- Pereira, A. dos S. (2013). *O efeito da aprendizagem na mediação das respostas emocionais de ansiedade no rato wistar*. Universidade federal do Amazonas.
- Ponder, C. A., Kliethermes, C. L., Drew, M. R., Muller, J., Das, K., Risbrough, V. B., Crabbe, J. C., Gilliam, T. C., & Palmer, A. A. (2007). Selection for contextual fear conditioning affects anxiety-like behaviors and gene expression. *Genes, Brain and Behavior*, 6(8), 736–749. <https://doi.org/10.1111/j.1601-183X.2007.00306.x>
- Portella, G. A. A. (2019). *Revisão bibliográfica de artigos com ratos espontaneamente hipertensivos (SHR) em pesquisas de modelo animal de TDAH*. Pontifícia Universidade Católica de São Paulo.
- Posner, J., Polanczyk, G. V., & Sonuga-Barke, E. (2020). Attention-deficit hyperactivity disorder. *The Lancet*, 395(10222), 450–462. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(19\)33004-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(19)33004-1)
- Puumala, T., Ruotsalainen, S., Jäkälä, P., Koivisto, E., Riekkinen, P., & Sirviö, J. (1996). Behavioral and Pharmacological Studies on the Validation of a New Animal Model for Attention Deficit Hyperactivity Disorder. *Neurobiology of Learning and Memory*, 66, 198–211.
- Radcliffe, R. A., Lowe, M. V., & Wehner, J. M. (2000). Confirmation of Contextual Fear Conditioning QYs by Short-Term Selection. *Behavior Genetics*, 30(3), 183–191. <https://doi.org/10.1023/A:1001910107167>
- Rahi, V., & Kumar, P. (2021). Animal models of attention-deficit hyperactivity disorder (ADHD). In *International Journal of Developmental Neuroscience* (Vol. 81, Issue 2, pp. 107–124). John Wiley and Sons Inc. <https://doi.org/10.1002/jdn.10089>
- Ramos, A., & Mormède, P. (2006). Genetic Analysis of Emotional Behaviors Using Animal Models. In B. C. Jones & P. Mormède (Eds.), *Neurobehavioral Genetics* (2nd ed.). CRC Press.
- Raymundo, M. M., & Goldim, J. R. (2002). Ética da pesquisa em modelos animais. *Bioética*, 10(1), 31–44.

- Rizzo, F., Abaei, A., Nespoli, E., Fegert, J. M., Hengerer, B., Rasche, V., & Boeckers, T. M. (2017). Aripiprazole and Riluzole treatment alters behavior and neurometabolites in young ADHD rats: a longitudinal 1H-NMR spectroscopy study at 11.7T. *Translational Psychiatry*, 7. <https://doi.org/10.1038/tp.2017.167>
- Rucklidge, J. J. (2010). Gender Differences in Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder. *Psychiatric Clinics of North America*, 33(2), 357–373. <https://doi.org/10.1016/j.psc.2010.01.006>
- Ruocco, L. A., Carnevale, U. A. G., Sica, A., Arra, C., Topo, E., Di Giovanni, M., D’Aniello, A., & Sadile, A. G. (2009). Differential prepuberal handling modifies behaviour and excitatory amino acids in the forebrain of the Naples High-Excitability rats. *Behavioural Brain Research*, 198(1), 29–36. <https://doi.org/10.1016/J.BBR.2008.09.028>
- Ruocco, L. A., de Souza Silva, M. A., Topic, B., Mattern, C., Huston, J. P., & Sadile, A. G. (2009). Intranasal application of dopamine reduces activity and improves attention in Naples High Excitability rats that feature the mesocortical variant of ADHD. *European Neuropsychopharmacology*, 19(10), 693–701. <https://doi.org/10.1016/J.EURONEURO.2009.02.005>
- Ruocco, L. A., Treno, C., Gironi Carnevale, U. A., Arra, C., Boatto, G., Pagano, C., Tino, A., Nieddu, M., Michel, M., Prikulis, I., Carboni, E., de Souza Silva, M. A., Huston, J. P., Sadile, A. G., & Korth, C. (2015). Immunization with DISC1 protein in an animal model of ADHD influences behavior and excitatory amino acids in prefrontal cortex and striatum. *Amino Acids*, 47, 637–650. <https://doi.org/10.1007/s00726-014-1897-6>
- Russell, V. A. (2003). Dopamine hypofunction possibly results from a defect in glutamate-stimulated release of dopamine in the nucleus accumbens shell of a rat model for attention deficit hyperactivity disorder—the spontaneously hypertensive rat. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 27(7), 671–682. <https://doi.org/10.1016/J.NEUBIOREV.2003.08.010>
- Russell, V. A. (2011). Overview of animal models of attention deficit hyperactivity disorder (ADHD). *Current Protocols in Neuroscience*, SUPPL.54. <https://doi.org/10.1002/0471142301.ns0935s54>

- Russell, V. A., Sagvolden, T., & Johansen, E. B. (2005). Animal models of attention-deficit hyperactivity disorder. In *Behavioral and Brain Functions* (Vol. 1). <https://doi.org/10.1186/1744-9081-1-9>
- Sachs, B. D. (1988). The Development of Grooming and Its Expression in Adult Animals. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 525(1), 1–17. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1988.tb38591.x>
- Sagvolden, T. (2000). Behavioral validation of the spontaneously hypertensive rat (SHR) as an animal model of attention-deficit/hyperactivity disorder (AD/HD). *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 24, 31–39. www.elsevier.com/locate/neubiorev
- Sagvolden, T., DasBanerjee, T., Zhang-James, Y., Middleton, F. A., & Faraone, S. V. (2008). Behavioral and genetic evidence for a novel animal model of Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder Predominantly Inattentive Subtype. *Behavioral and Brain Functions*, 4. <https://doi.org/10.1186/1744-9081-4-56>
- Sagvolden, T., & Johansen, E. B. (2012). Rat models of ADHD. *Current Topics in Behavioral Neurosciences*, 9, 301–315. https://doi.org/10.1007/7854_2011_126
- Sagvolden, T., Pettersen, M. B., & Larsen, M. C. (1993). Spontaneously hypertensive rats (SHR) as a putative animal model of childhood hyperkinesis: SHR behavior compared to four other rat strains. *Physiology & Behavior*, 54(6), 1047–1055. [https://doi.org/10.1016/0031-9384\(93\)90323-8](https://doi.org/10.1016/0031-9384(93)90323-8)
- Sagvolden, T., Russell, V. A., Aase, H., Johansen, E. B., & Farshbaf, M. (2005). Rodent models of attention-deficit/hyperactivity disorder. In *Biological Psychiatry* (Vol. 57, Issue 11, pp. 1239–1247). <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2005.02.002>
- Sahakian, B. J., Robbins, T. W., & Iversen, S. D. (1977). The effects of isolation rearing on exploration in the rat. *Animal Learning & Behavior*, 5(2), 193–198. <https://doi.org/10.3758/BF03214077>
- Salari, N., Ghasemi, H., Abdoli, N., Rahmani, A., Shiri, M. H., Hashemian, A. H., Akbari, H., & Mohammadi, M. (2023). The global prevalence of ADHD in children and adolescents: a systematic review and meta-

- analysis. *Italian Journal of Pediatrics*, 49(1).
<https://doi.org/10.1186/s13052-023-01456-1>
- Sartori, S. B., Landgraf, R., & Singewald, N. (2011). The clinical implications of mouse models of enhanced anxiety. *Future Neurology*, 6(4), 531–571.
<https://doi.org/10.2217/fnl.11.34>
- Sigmundi, R. A., & Bolles, R. C. (1983). CS modality, context conditioning, and conditioned freezing. *Animal Learning & Behavior*, 11(2), 205–212.
<https://doi.org/10.3758/BF03199650>
- Solanto, M. V. (2000). Clinical psychopharmacology of AD/HD: Implications for animal models. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 24, 27–30.
www.elsevier.com/locate/neubiorev
- Sontag, T. A., Tucha, O., Walitza, S., & Lange, K. W. (2010). Animal models of attention deficit/hyperactivity disorder (ADHD): A critical review. In *ADHD Attention Deficit and Hyperactivity Disorders* (Vol. 2, Issue 1, pp. 1–20). <https://doi.org/10.1007/s12402-010-0019-x>
- Spruijt, B. M., van Hooff, J. A., & Gispen, W. H. (1992). Ethology and neurobiology of grooming behavior. *Physiological Reviews*, 72(3), 825–852. <https://doi.org/10.1152/physrev.1992.72.3.825>
- Spruijt, B. M., Welbergen, P., Brakkee, J., & Gispen, W. H. (1988). An Ethological Analysis of Excessive Grooming in Young and Aged Rats. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 525(1), 89–100.
- Steckler, T., Stein, M. B., & Holmes, A. (2008). Developing Novel Anxiolytics: Improving Preclinical Detection and Clinical Assessment. *Animal and Translational Models for CNS Drug Discovery*, 117–132.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-373861-5.00005-9>
- Sturman, O., Germain, P. L., & Bohacek, J. (2018). Exploratory rearing: a context- and stress-sensitive behavior recorded in the open-field test. *Stress*, 21(5), 443–452. <https://doi.org/10.1080/10253890.2018.1438405>
- Tejada, J., Chaim, K. T., & Morato, S. (2018). X-PloRat: A Software for Scoring Animal Behavior in Enclosed Spaces. *Psicologia: Teoria e Pesquisa*, 33(0). <https://doi.org/10.1590/0102.3772e3322>
- Ugarte, G., Piña, R., Contreras, D., Godoy, F., Rubio, D., Rozas, C., Zeise, M., Vidal, R., Escobar, J., & Morales, B. (2023). Attention Deficit-Hyperactivity Disorder (ADHD): From Abnormal Behavior to

- Impairment in Synaptic Plasticity. *Biology*, 12(9), 1241.
<https://doi.org/10.3390/biology12091241>
- Unis, A. S., Petracca, F., & Diaz, J. (1991). Somatic and behavioral ontogeny in three rat strains: Preliminary observations of dopamine-mediated behaviors and brain D-1 receptors. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 15(1), 129–138.
[https://doi.org/10.1016/0278-5846\(91\)90047-5](https://doi.org/10.1016/0278-5846(91)90047-5)
- Viggiano, D., Ruocco, L. A., Pignatelli, M., Grammatikopoulos, G., & Sadile, A. G. (2003). Prenatal elevation of endocannabinoids corrects the unbalance between dopamine systems and reduces activity in the Naples High Excitability rats. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 27(1–2), 129–139. [https://doi.org/10.1016/S0149-7634\(03\)00015-0](https://doi.org/10.1016/S0149-7634(03)00015-0)
- Vitalo, A., Fricchione, J., Casali, M., Berdichevsky, Y., Hoge, E. A., Rauch, S. L., Berthiaume, F., Yarmush, M. L., Benson, H., Fricchione, G. L., & Levine, J. B. (2009). Nest Making and Oxytocin Comparably Promote Wound Healing in Isolation Reared Rats. *PLoS ONE*, 4(5), e5523.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0005523>
- Volkow, N. D., Fowler, J. S., Wang, G.-J., Swanson, J. M., & Telang, F. (2007). Dopamine in Drug Abuse and Addiction. *Archives of Neurology*, 64(11), 1575. <https://doi.org/10.1001/archneur.64.11.1575>
- Vuralli, D., Wattiez, A. S., Russo, A. F., & Bolay, H. (2019). Behavioral and cognitive animal models in headache research Cenk Ayata. In *Journal of Headache and Pain* (Vol. 20, Issue 1). BioMed Central Ltd.
<https://doi.org/10.1186/s10194-019-0963-6>
- Waddington, J. L., O'Tuathaigh, C., O'Sullivan, G., Tomiyama, K., Koshikawa, N., & Croke, D. T. (2005). Phenotypic studies on dopamine receptor subtype and associated signal transduction mutants: insights and challenges from 10 years at the psychopharmacology–molecular biology interface. *Psychopharmacology*, 181(4), 611–638.
<https://doi.org/10.1007/s00213-005-0058-8>
- Watson, J. B., & Rayner, R. (1920). Conditioned emotional reactions. *Journal of Experimental Psychology*, 3(1), 1–14.
<https://doi.org/10.1037/h0069608>

- Wegener, G., Mathe, A. A., & Neumann, I. D. (2011). *Selectively Bred Rodents as Models of Depression and Anxiety* (pp. 139–187). https://doi.org/10.1007/7854_2011_192
- WHO. (2017). *Depression and other common mental disorders: Global Health Estimates*. 2017. www.who.int/mental_health/management/depression/prevalence_global_health_estimates/en
- Wickelgren, I. (2024, March 4). Why Do So Many Mental Illnesses Overlap? *Scientific American*.
- Wickens, J. R., Hyland, B. I., Tripp, G., & Wickens, J. (2011). Themed Issue: Translational Neuropharmacology-Using Appropriate Animal Models to Guide Clinical Drug Development Animal models to guide clinical drug development in ADHD: lost in translation? *British Journal of Pharmacology*, 164, 1107–1128. <https://doi.org/10.1111/bph.2011.164.issue-4>
- Willner, P. (1986). Validation criteria for animal models of human mental disorders: Learned helplessness as a paradigm case. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 10(6), 677–690. [https://doi.org/10.1016/0278-5846\(86\)90051-5](https://doi.org/10.1016/0278-5846(86)90051-5)
- Willner, P. (1991). Animal models as simulations of depression. *Trends in Pharmacological Sciences*, 12(C), 131–136. [https://doi.org/10.1016/0165-6147\(91\)90529-2](https://doi.org/10.1016/0165-6147(91)90529-2)
- Wultz, B., Sagvolden, T., Moser, E. I., & Moser, M.-B. (1990). The spontaneously hypertensive rat as an animal model of attention-deficit hyperactivity disorder: Effects of methylphenidate on exploratory behavior. *Behavioral and Neural Biology*, 53(1), 88–102. [https://doi.org/10.1016/0163-1047\(90\)90848-Z](https://doi.org/10.1016/0163-1047(90)90848-Z)
- Yuan, H., Ni, X., Zheng, M., Han, X., Song, Y., & Yu, M. (2019). Effect of catalpol on behavior and neurodevelopment in an ADHD rat model. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 118, 109033. <https://doi.org/10.1016/J.BIOPHA.2019.109033>

8

ANEXO I - ARTIGO**Behavioral characterization of Carioca low freezing rats: further evaluation of a potential model of ADHD**

Talita da Silva Clerc de Freitas, Silvia S. Maissonette, Jesus Landeira-Fernandez, Thomas Eichenberg Krahe*

Department of Psychology, Laboratory of Behavioral Neuroscience (LANEC), Pontifical Catholic University of Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil.

*Corresponding Author:

Thomas E. Krahe

Department of Psychology
Pontifical Catholic University of Rio de Janeiro
Rua Marquês de São Vicente 225
Gávea, Rio de Janeiro, RJ
CEP: 22451-900
Brazil.
e-mail: tekrahe@puc-rio.br

Abstract

Attention deficit hyperactivity disorder (ADHD) affects thousands of individuals worldwide. Research conducted in animal models plays a pivotal role in enhancing our understanding of the neurobehavioral mechanisms associated with neural disorders observed in humans. For this purpose, the study of the bidirectional lines of Carioca high- and low-conditioned freezing rats (CHF and CLF, respectively) has been employed over the years to comprehend the neurobiological underpinnings of generalized anxiety disorder (GAD). More recently, findings from our group suggest that CLF rats could serve as an animal model for attention deficit hyperactive disorder (ADHD). To further substantiate this evidence, the present study aimed to investigate common rodent behaviors linked to compulsivity and hyperactivity in CLF, CHF, and control rats (CTR). Specifically, we assessed the frequency and duration of grooming and rearing behaviors in CLF ($n = 36$), CHF ($n = 34$), and CTL ($n = 38$) rats. Behavioral analysis involved reviewing previously recorded images of contextual fear conditioning sessions during the habituation period—i.e., preceding the onset of footshocks. Our results revealed that CLF rats exhibit a higher frequency and duration of rearing behavior compared to CHF and CTL groups. Moreover, CLF rats displayed a significant decrease in total grooming compared to CHF and CTL animals. Overall, these findings reinforce the hypothesis of employing CLF rats as an animal model for ADHD.

Keywords: hyperactivity; impulsivity; animal model; ADHD.

Introduction

Attention deficit hyperactivity disorder (ADHD) is recognized as the most prevalent neuropsychological disorder in childhood, characterized by clinical and genetic heterogeneity (American Psychiatric Association, 2023). ADHD includes a combination of neurobehavioral problems, such as inattention, hyperactivity, and impulsivity (Ugarte et al., 2023). Typically diagnosed during school age, this condition can persist into adulthood, affecting approximately 7.2% of children and 2.5% of adults globally (American Psychiatric Association, 2023; Salari et al., 2023). Learning and self-esteem difficulties (Maia & Confortin, 2015; O’Leary, 2021), as well as disruptions in social behaviors, juvenile delinquency, criminality, and substance use, are among the common neurobehavioral manifestations of this disorder (American Psychiatric Association, 2023; Cortese et al., 2023). Furthermore, ADHD exhibits a prevalence 2.5 times higher in men than in women (American Psychiatric Association, 2023; Cortese et al., 2023) and data from comparative studies indicate that boys tend to manifest more externalized symptoms, such as impulsivity, whereas girls are more likely to present internalized symptoms, such as inattention (Rucklidge, 2010).

While significant progress has been made in elucidating the neural underpinnings associated with ADHD, numerous neurobiological aspects of this disorder remain elusive (Puumala et al., 1996; Sagvolden et al., 2005). In this sense, the utilization of animal models holds great value for gaining insight into the neurobiological and behavioral mechanisms linked to brain disorders, as it provides a simpler and controlled playing field for the exploration of complex systems and functions (Raymundo & Goldim, 2002; Wegener et al.,

2011). Accordingly, findings from studies on animal models of ADHD point to important genetic, neurochemical, structural, and behavioral factors linked to ADHD (de la Peña et al., 2018; Sagvolden, 2000; Sontag et al., 2010). Common to all such factors is the substantial body of literature that points to the role of the dopaminergic system in the development and manifestation of ADHD phenotypes (for reviews, please see Ugarte et al., 2023). Among the neurobehavioral aspects, we can cite studies showing that higher dopamine uptake and release may aid in the extinction of fear conditioning behavior, with the amygdala's dopamine transmission being essential for the preservation of unpleasant memories (Guarraci et al., 1999). Moreover, dopaminergic mediation of attention and locomotion is well described in animal models of ADHD (Ruocco, Carnevale, et al., 2009) and is thus strongly linked to impulsive, repetitive, and hyperactive behaviors (American Psychiatric Association, 2023). Among such neurobehavioral traits, rearing and grooming stand out as innate behaviors considered as hallmark indices of hyperactive and compulsive behaviors, respectively (Lalonde & Strazielle, 2009; Korff & Harvey, 2006). Forepaw licking, paw strokes over the face, head, eyes, behind the ears, and over the neck, as well as licking or biting the body, tail, and genital licks, are examples of grooming behavior (Kalueff et al., 2016; Vuralli et al., 2019). These stereotyped behaviors serve as self-maintenance and coping mechanisms and have been extensively studied to evaluate how they change in response to stress, social interactions, among other factors (Spruijt et al., 1992). For example, rats may become stressed in a new environment, leading to an increase in grooming (Díaz-Morán et al., 2014), while prolonged and severe stress has the opposite effect, resulting in a

reduction in the frequency and duration of this behavior over time (Ladurelle et al., 1998). Pharmacological studies indicate that selective dopamine receptor antagonists and agonists can modulate grooming behavior by suppressing and increasing it, respectively, in different experimental conditions (for a review, please see Kiguchi et al., 2008). Rearing, on the other hand, is considered a spontaneous exploratory behavior and is categorized by rodents standing on their hind legs, either supported or unsupported by a wall (Kozler et al., 2017; Sturman et al., 2018). Similar to grooming, pharmacological findings have also demonstrated the involvement of the dopaminergic system in the modulation of this behavior. For instance, D1 receptor blockade and activation can decrease and increase the frequency of rearing episodes, respectively (Dreher & Jackson, 1989; Hoffman & Beninger, 1985). Therefore, both grooming and rearing are influenced by dopaminergic transmission, which, in turn, has been shown to be disturbed in animal models of ADHD (Abdulla et al., 2020; Besson et al., 2008) and may account for ADHD pathogenesis (Volkow et al., 2007).

Over the past decade, our group has established two selective bidirectional breeding lines based on freezing behavior in response to contextual fear conditioning (de Castro Gomes & Landeira-Fernandez, 2008), named Carioca high- and low-conditioned freezing rats (CHF and CLF, respectively). While behavioral, biochemical, pharmacological, physiological, and morphological studies have solidified the CHF rats as an animal model of generalized anxiety (for a review, please see Lages et al., 2023), only recently have pieces of evidence suggested that the CLF rats could be used as an animal model of ADHD (Landeira-Fernandez, 2019; Macêdo-Souza et al., 2020). Lages and

colleagues (2021) recently examined the role of the dopaminergic system in learning and motor control of CLF rats treated with methylphenidate and haloperidol. Briefly, we found that CLF rats exhibited a delayed catatonic response to haloperidol compared to controls, while methylphenidate increased freezing responses to contextual fear-conditioned fear and reduced hyperactive motor effects in the open field. Thus, similar to other animal models of ADHD (de la Peña et al., 2018; Solanto, 2000; Spruijt et al., 1988, 1992), dopaminergic transmission seems to play an important role in the behavioral phenotype of CLF rats. With the aim of reinforcing the validity of using CLFs as an animal model of ADHD and considering the importance of grooming and rearing measures in characterizing animal models of this phenotype, the present work aims to evaluate these behaviors in CLF, CHF, and control rats (CTR).

Materials and Methods

All results in the current study were obtained from the analysis of video-recorded images of previous contextual fear conditioning experiments (de Castro Gomes & Landeira-Fernandez, 2008; Lages et al., 2022). Therefore, this approach is in accordance with and adheres to the principles of the 3R's model proposed by Russell and Burch in 1959 (Goldberg & Hartung, 2006) since no breeding or utilization of rats from our animal facility were needed for the execution of this work.

The analysis of grooming and rearing behaviors was restricted to the habituation phase of contextual fear conditioning – i.e., capturing the animals' behavior during the first 8 minutes of the testing session. Note that this period

precedes any footshock application and is the first time that the animals are exposed to the contextual fear conditioning chamber. As previously described (de Castro Gomes & Landeira-Fernandez, 2008) animals were bred and maintained in the animal facility of the Laboratory of Behavioral Neuroscience (LANEC) at the Pontifical Catholic University of Rio de Janeiro and kept on a 12:12 h light/dark cycle (lights on: 7:00 h, lights off: 19:00 h) at controlled temperatures ($24 \pm 1^\circ\text{C}$), with free access to food and water. Prior to the beginning of behavioral testing, the number of animals per cage was reduced to four, and each rat was handled once a day (2 min) for 5 days. Behavioral testing was performed during the light period of the light-dark cycle and carried out in compliance with the Animal Care and Use Committee (CEUA#036/2013 and #003/2019). Data and study materials are available upon request. This study was not preregistered.

Contextual fear conditioning chambers consisted of plexiglass boxes ($25 \times 20 \times 20$ cm, Insight; Ribeirão Preto) with metal grid floors and were illuminated by 25W red lights. Chambers were located inside sound-attenuating compartments, and animals' behaviors were continuously recorded by video cameras located inside such sound-attenuating compartments. Before and after each testing session, fear conditioning chambers were cleaned with a 5% ammonia solution.

The analysis of grooming and rearing was conducted on a total of 108 video recordings of contextual fear conditioning. These recordings included CLF ($n = 38$); CTL ($n = 36$) and CHF ($n = 34$) rats, spanning three different generations (S34 to S36), with an average of 36 animals per generation, comprising 12 from each lineage.

Grooming and Rearing

Grooming was defined as one or more of the following behaviors: paw strokes over the face, head, eyes, behind the ears, and over the neck (Kalueff et al., 2016). Licking or biting the body, as well as tail and genital licks, were also considered grooming (Estanislau et al., 2019a; Linthorst et al., 1992). Rearing was defined as the rat standing on the rear limbs with the forelimbs touching or not touching the walls of the chamber (Kozler et al., 2017; Sturman et al., 2018). A trained observer, blind to the experimental group of the animal, quantified the frequency and duration of grooming and rearing during the first 8 minutes of the testing session. In addition to the total frequency and duration of both grooming and rearing, these same parameters were evaluated over five equal 1.6-min intervals (Time interval).

Statistical analysis

All statistical analyses were conducted using IBM SPSS 23 software (SPSS Inc., Chicago, IL, USA). Comparisons were performed using repeated-measures analysis of variance (rANOVA). To minimize the risk of type 1 statistical errors resulting from repeated testing, the results were initially assessed through a global rANOVA, incorporating Lineage (CHF, CTL, and CLF) as between-subjects factor and Time interval as a within-subject factor. In cases where significant effects of Lineage, and Time interval, or interactions between these factors were identified, appropriate lower-order ANOVAs were executed. Subsequently, Fisher's Least Significant Difference (LSD) post hoc test was employed to evaluate specific group differences. In

instances where the sphericity assumption was violated, the Greenhouse-Geisser correction was applied to adjust the degrees of freedom, preventing Type I errors.

To assess interobserver reliability for grooming and rearing measurements, Pearson correlation coefficients were computed on ratings obtained independently by two observers, each blind to the other's measurements. Data is presented as mean and standard error of the mean (\pm SEM), unless otherwise specified. Significance for all statistical tests was set at $p < 0.05$ (two-tailed).

Results

There was a high interobserver agreement for both rearing and grooming ratings obtained by two experimenters, blind to the experimental groups (rearing: $df = 32$, $R = 0.97$, $p < 0.001$; grooming: $df = 32$, $R = 0.99$, $p < 0.001$). Thus, based on this data we can infer that rearing and grooming measurements were reproducible and independent of the observer.

As illustrated in Figure 1, CLF rats performed significantly more rearing events than CTL and CHF animals (rANOVA: *lineage*, $F = 11.24$, $p < 0.001$), whereas the rearing frequency of CLF rats was significantly smaller than that observed for all groups (Figure 1A). Moreover, rearing frequency significantly decreased over time for all groups (Figure 1B, rANOVA: *time interval*, $F = 128.95$, $p < 0.001$), however, no interaction between *lineage* vs. *time interval* was observed (rANOVA: $F = 0.28$, $p = 0.76$). Similarly, the time spent rearing also decreased within the testing session (Figure 1D, rANOVA: *time interval*, $F = 66.86$, $p < 0.001$), and no interactions between *time interval* and *lineage* were observed (rANOVA: *lineage* vs. *time interval*, $F = 0.29$, $p = 0.74$). In

addition, while no significant differences were observed between CLF and CTL rats regarding the total amount of time spent rearing, the average rearing time of the CLF group was significantly smaller than that for the CHF one (Figure 1C, rANOVA: *lineage*, $F = 9.32$, $p < 0.001$).

Similar to what observed for rearing, the duration and frequency of grooming behavior of CLF animals was in average smaller than both CHF and CTL rats (Figure 2). However, a main effect of *lineage* was only observed for the total time (Figure 2B; $F = 6.35$, $p < 0.01$) and not for frequency (Figure 2A; $F = 1.87$, $p = 0.159$). The rANOVA for grooming behavior also indicated a significant effect of *time interval*, but only for frequency ($F = 5.46$, $p < 0.0001$), but not for duration ($F = 0.74$, $p = 0.543$). As illustrated in figures 2B and D, a drop in behavior over time was only observed for grooming frequency (Figure 2B).

Discussion

The present study measured rearing and grooming behaviors in bi-directional Carioca lineages. The CLF animals demonstrated greater exploratory activity, indicated by the increased frequency and duration of rearing, along with a shorter grooming time compared to the CHF and CTL groups. Such findings are consistent with studies that employ these behaviors to validate animal models of ADHD (Lalonde & Strazielle, 2009; Ohno et al., 2012; Ruocco et al., 2009). Therefore, our results support the hypothesis of using CLF rats as an animal model of ADHD, as suggested by (Lages et al., 2021; Landeira-Fernandez, 2019; Macêdo-Souza et al., 2020). It is worth noting that this study utilizes pre-existing videos, thereby aligning with the

principles of the 3 Rs of animal bioethics and good research practices (Raymundo & Goldim, 2002), which aim to reduce the use of animals without compromising the quality of research output (Gorzalczany & Rodriguez Basso, 2021; Passantino, 2008).

Grooming is an innate behavior observed in rodents, among other animals, which can have various etiological interpretations. For instance, an increase in its expression may signify an inherent perseverative, anxious, and "desarousal" behavior (Estanislau et al., 2019a; Kozler et al., 2017). Relevant data stems from behavioral studies where grooming frequency varies based on the context, which could be linked to the animals' coping strategies in response to stress from exposure to a new environment (i.e., higher grooming frequency indicating a more aversive environment; (Bury & Schmidt, 1987). Other evidence suggests that an increase in grooming frequency might be associated with the animals' habituation to the novelty of the new environment (Díaz-Morán et al., 2014). The observed decline in grooming behavior frequency over time (main effect of *time interval*) supports the hypothesis of coping with environmental novelty (Kalueff et al., 2016). However, despite the expression of heightened contextual fear in CHF animals and the comprehensive behavioral, biochemical, and morphological evidence validating CHF rats as an animal model of GAD (for a recent review, please see Lages et al., 2022), the similarity in grooming frequency and duration between these animals and the control group contradicts the possibility of exaggerated grooming behavior associated with CHF's fear predisposition, such as exposure to a new environment (Bury & Schmidt, 1987; Estanislau et al., 2019; Kalueff & Tuohimaa, 2005; Vuralli et al., 2019). Our findings diverge from a previous

study utilizing strains of rats selected for their responses in the active avoidance task, high (RHA) and low avoidance (RLA) Roman rats, which showed that RHA rats exhibit lower grooming frequency and duration compared to RLA ones (Aguilar et al., 2003; Fernández-Teruel et al., 1997). One potential explanation for this inconsistency could be attributed to: i) the fact that in the Aguilar e colleagues (2003) study, the data were gathered in a different experimental setup - the open field test, and ii) grooming and rearing behaviors in our study were recorded before CHF rats were conditioned to contextual fear associated with footshocks. Future studies will explore this latter possibility.

Considering the results related to the grooming behavior in CLF animals, it was observed that they spent less time grooming compared to the other groups, which may simply indicate that, due to the hyperactivity of these animals, they engage in this behavior less frequently. Such a relationship has also been previously observed in RLA rats - the greater the impulsivity and hyperactivity, the shorter the duration of grooming behavior (Coppens et al., 2012; Estanislau et al., 2019). Furthermore, several studies suggest that increased activation of dopaminergic pathways is associated with a reduction in grooming behavior (K. C. Berridge & Aldridge, 2000a; Bury & Schmidt, 1987; Coppens et al., 2012; Fernández-Teruel et al., 1997; Kalueff & Tuohimaa, 2005)

Rearing is considered a classic exploratory behavior (Sturman et al., 2018) and here we observed a decline of such behavior over time (main effect of *time interval*), both in frequency and duration, supporting the notion that animals acclimate to exposure to a new environment (Besson et al., 2008; Linthorst et

al., 1992). The assessment of rearing behavior is frequently utilized as a measure of hyperactivity in preclinical studies involving animal models of ADHD (Kiguchi et al., 2008; Ohno et al., 2012). For instance, spontaneously hypertensive rats (SHR) exhibit motor hyperactivity, characterized by increased rearing behavior (Huang et al., 2013; Sagvolden, 2000; Sagvolden et al., 2005). Our findings indicate a significant increase in rearing behavior, both in frequency and duration, in CLF rats. Similarly, it was previously reported that RHA rats exhibit more rearing and less grooming in the open field test. Moreover, these animals demonstrate heightened dopaminergic activity in the prefrontal cortex, which in turn may be associated with this lineage's hyperactive behaviors (Coppens et al., 2012; Fernández-Teruel et al., 1997; Luo et al., 2014). Notably, increased exploratory behaviors (e.g., rearing) linked to heightened activation of dopaminergic pathways serve as a telltale in animal models of ADHD (for a review, please see Sontag et al., 2010). Furthermore, clinical studies illustrate that motor hyperactivity is a prevalent and debilitating trait in individuals with ADHD (Maia & Confortin, 2015). Thus, the observation of hyperactive behavior in CLF rats, characterized by a significant increase in rearing and reduced grooming, supports the hypothesis that this strain can serve as an animal model of ADHD.

Acknowledgments

We are thankful to Flávia P. Rosseti for animal care and technical assistance. We are also thankful to Ciro M. Leandro for helping with data collection used for interobserver reliability measurements.

Author Notes

TEK conceived the study. SSM ran the experiments. TSCF collected and analyzed data. TEK and TSCF wrote the manuscript. TEK supervised TSCF on the preparation and writing of the manuscript. JLF ran the statistical analysis and edited the text of the final version of the manuscript. TEK and JLF were responsible for funding acquisitions. Data and study materials are available upon request. This study was not preregistered.

Funding

This work was supported by grants from Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) and Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ).

References

- Abdulla, Z. I., Pahlevani, B., Lundgren, K. H., Pennington, J. L., Udobi, K. C., Seroogy, K. B., & Skelton, M. R. (2020). Deletion of the Creatine Transporter (Slc6a8) in Dopaminergic Neurons Leads to Hyperactivity in Mice. *Journal of Molecular Neuroscience*, 70, 102–111. <https://doi.org/10.1007/s12031-019-01405-w>
- Aguilar, R., Gil, L., Flint, J., Gray, J. A., Dawson, G. R., Driscoll, P., Giménez-Llort, L., Escorihuela, R. M., Fernández-Teruel, A., & Tobeá, A. (2002). Learned fear, emotional reactivity and fear of heights: a factor analytic map from a large F2 intercross of Roman rat strains. *Brain Research Bulletin*, 57(1), 17–26. [https://doi.org/10.1016/S0361-9230\(01\)00632-3](https://doi.org/10.1016/S0361-9230(01)00632-3)
- Aguilar, R., Gil, L., Gray, J. A., Driscoll, P., Flint, J., Dawson, G. R., Giménez-Llort, L., Escorihuela, R. M., Fernández-Teruel, A., & Tobeña, A. (2003). Fearfulness and sex in F2 Roman rats: males display more fear though

- both sexes share the same fearfulness traits. *Physiology & Behavior*, 78(4–5), 723–732. [https://doi.org/10.1016/S0031-9384\(03\)00043-X](https://doi.org/10.1016/S0031-9384(03)00043-X)
- Ahmad, Q., & Merali, Z. (1988). The spontaneously diabetic wistar-bb rat manifests altered grooming and catalepsy responses: Implications of impaired dopamine function. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 12(2–3), 291–298. [https://doi.org/10.1016/0278-5846\(88\)90047-4](https://doi.org/10.1016/0278-5846(88)90047-4)
- American Psychiatric Association. (2023). *Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais: DSM-5-TR* (5th ed.). Artmed.
- Arakawa, H. (2005). Interaction between isolation rearing and social development on exploratory behavior in male rats. *Behavioural Processes*, 70(3), 223–234. <https://doi.org/10.1016/j.beproc.2005.07.002>
- Azizi, D. (2019, March 9). *Entre a loucura e sua história – Descartes e Montaigne na História da Loucura*. <https://projetophronesis.wordpress.com/2010/03/09/entre-a-loucura-e-sua-historia-descartes-e-montaigne-na-historia-da-loucura/>
- Bari, A., & Robbins, T. W. (2013). Noradrenergic versus dopaminergic modulation of impulsivity, attention and monitoring behaviour in rats performing the stop-signal task. *Psychopharmacology*, 230(1), 89–111. <https://doi.org/10.1007/s00213-013-3141-6>
- Berridge, K. C. (1989). Progressive degradation of serial grooming chains by descending decerebration. *Behavioural Brain Research*, 33(3), 241–253. [https://doi.org/10.1016/S0166-4328\(89\)80119-6](https://doi.org/10.1016/S0166-4328(89)80119-6)
- Berridge, K. C., & Aldridge, J. W. (2000a). Super-Stereotypy I: Enhancement of a Complex Movement Sequence by Systemic Dopamine D1 Agonists. In *Synapse* (Vol. 37).
- Berridge, K. C., & Aldridge, J. W. (2000b). Super-Stereotypy I: Enhancement of a Complex Movement Sequence by Systemic Dopamine D1 Agonists. In *Synapse* (Vol. 37).
- Berridge, K. C., Aldridge, J. W., Houchard, K. R., & Zhuang, X. (2005). Sequential super-stereotypy of an instinctive fixed action pattern in hyper-dopaminergic mutant mice: A model of obsessive compulsive disorder and Tourette's. *BMC Biology*, 3. <https://doi.org/10.1186/1741-7007-3-4>

- Berridge, K. C., & Whishaw, I. Q. (1992). Experimental Brain Research Cortex, striatum and cerebellum: control of serial order in a grooming sequence. In *Exp Brain Res* (Vol. 90).
- Berridge, KentC., & Whishaw, IanQ. (1992). Cortex, striatum and cerebellum: control of serial order in a grooming sequence. *Experimental Brain Research*, 90(2). <https://doi.org/10.1007/BF00227239>
- Besson, M., Sandra, A. E., Ae, S., Cormier, A., Jean-Pierre, A. E., Ae, C., & Granon, S. (2008). Chronic Nicotine Exposure has Dissociable Behavioural Effects on Control and Beta2-/-Mice. *Behav Genet*, 38, 503–514. <https://doi.org/10.1007/s10519-008-9216-1>
- Bisognin, K. M., & Barros, H. M. T. (2014). *Autoadministração oral de cocaína em ratos machos e fêmeas com transtorno de déficit de atenção e hiperatividade (TDAH) induzido por 6hidroxidopamina*. Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre.
- Bolles, R. C. (1960). GROOMING BEHAVIOR IN THE RAT. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 53(3), 306–310.
- Bolognesi, M. F. (2002). O circo “civilizado.” *Sixth International Congress of the Brazilian Studies Association (BRASA)*.
- Brandão, M. L., Zanoveli, J. M., Ruiz-Martinez, R. C., 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), 1–13. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2007.10.018>
- Broadhurst, P. L. (1975). The Maudsley Reactive and Nonreactive strains of rats: A survey. *Behavior Genetics*, 5(4), 299–319. <https://doi.org/10.1007/BF01073201>
- Bury, D., & Schmidt, W. J. (1987). Effects of systemically and intrastrially injected haloperidol and apomorphine on grooming, feeding and locomotion in the rat. *Behavioural Processes*, 15(2–3), 269–283. [https://doi.org/10.1016/0376-6357\(87\)90012-X](https://doi.org/10.1016/0376-6357(87)90012-X)
- Cabin, D. E., Shimazu, K., Murphy, D., Cole, N. B., Gottschalk, W., McIlwain, K. L., Orrison, B., Chen, A., Ellis, C. E., Paylor, R., Lu, B., & Nussbaum, R. L. (2002). Synaptic Vesicle Depletion Correlates with Attenuated Synaptic Responses to Prolonged Repetitive Stimulation in

- Mice Lacking α -Synuclein. *The Journal of Neuroscience*, 22(20), 8797–8807. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.22-20-08797.2002>
- Calzavara, M. B., Levin, R., Medrano, W. A., Almeida, V., Sampaio, A. P. F., Barone, L. C., Frussa-Filho, R., & Abílio, V. C. (2011). Effects of antipsychotics and amphetamine on social behaviors in spontaneously hypertensive rats. *Behavioural Brain Research*, 225(1), 15–22. <https://doi.org/10.1016/J.BBR.2011.06.026>
- Casarrubea, M., Aiello, S., Di Giovanni, G., Santangelo, A., Palacino, M., & Crescimanno, G. (2019). Combining quantitative and qualitative data in the study of feeding behavior in male Wistar rats. *Frontiers in Psychology*, 10(APR). <https://doi.org/10.3389/fpsyg.2019.00881>
- Coppens, C. M., de Boer, S. F., Steimer, T., & Koolhaas, J. M. (2012). Impulsivity and aggressive behavior in Roman high and low avoidance rats: Baseline differences and adolescent social stress induced changes. *Physiology & Behavior*, 105(5), 1156–1160. <https://doi.org/10.1016/J.PHYSBEH.2011.12.013>
- Corodimas, K. P., & LeDoux, J. E. (1995). Disruptive effects of posttraining perirhinal cortex lesions on conditioned fear: Contributions of contextual cues. *Behavioral Neuroscience*, 109(4), 613–619. <https://doi.org/10.1037/0735-7044.109.4.613>
- Cortese, S., Song, M., Farhat, L. C., Yon, D. K., Lee, S. W., Kim, M. S., Park, S., Oh, J. W., Lee, S., Cheon, K.-A., Smith, L., Gosling, C. J., Polanczyk, G. V., Larsson, H., Rohde, L. A., Faraone, S. V., Koyanagi, A., Dragioti, E., Radua, J., ... Solmi, M. (2023). Incidence, prevalence, and global burden of ADHD from 1990 to 2019 across 204 countries: data, with critical re-analysis, from the Global Burden of Disease study. *Molecular Psychiatry*. <https://doi.org/10.1038/s41380-023-02228-3>
- Cosmides, L., & Tooby, J. (2000). Evolutionary psychology and the emotions. *Handbook of Emotions*, 2(2), 91–115.
- Couto, T. S., Melo-Junior, M. R., & Gomes, C. R. A. (2010). Aspectos neurobiológicos do transtorno do déficit de atenção e hiperatividade (TDAH): uma revisão. *Ciências & Cognição*, 15(1), 241–251.

- Cryan, J. F., & Holmes, A. (2005). The ascent of mouse: advances in modelling human depression and anxiety. *Nature Reviews Drug Discovery*, 4(9), 775–790. <https://doi.org/10.1038/nrd1825>
- Dalgalarrrondo, P. (2008). *Psicopatologia e semiologia dos transtornos mentais*. . Artmed.
- de Assis, M. (2014). *O Alienista* (Companhia das Letras).
- de Castro Gomes, V., & Landeira-Fernandez, J. (2008). Amygdaloid lesions produced similar contextual fear conditioning disruption in the Carioca high- and low-conditioned freezing rats. *Brain Research*, 1233, 137–145. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2008.07.044>
- De Castro Gomes, V., Silva, C. E. B., & Landeira-Fernandez, J. (2011). The Carioca High and Low Conditioned Freezing Lines: A New Animal Model of Generalized Anxiety Disorder. In *Anxiety Disorders* (pp. 121–134).
- de la Peña, J. B., dela Peña, I. J., Custodio, R. J., Botanas, C. J., Kim, H. J., & Cheong, J. H. (2018). Exploring the Validity of Proposed Transgenic Animal Models of Attention-Deficit Hyperactivity Disorder (ADHD). In *Molecular Neurobiology* (Vol. 55, Issue 5, pp. 3739–3754). Humana Press Inc. <https://doi.org/10.1007/s12035-017-0608-1>
- Dias, G. P., Bevilacqua, M. C. do N., Silveira, A. C. D., Landeira-Fernandez, J., & Gardino, P. F. (2009). Behavioral profile and dorsal hippocampal cells in carioca high-conditioned freezing rats. *Behavioural Brain Research*, 205(2), 342–348. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2009.06.038>
- Diaz Heijtz, R., & Castellanos, F. X. (2006). Differential effects of a selective dopamine D1-like receptor agonist on motor activity and c-fos expression in the frontal-striatal circuitry of SHR and Wistar-Kyoto rats. *Behavioral and Brain Functions*, 2. <https://doi.org/10.1186/1744-9081-2-18>
- Díaz-Morán, S., Estanislau, C., Cañete, T., Blázquez, G., Ráez, A., Tobeña, A., & Fernández-Teruel, A. (2014). Relationships of open-field behaviour with anxiety in the elevated zero-maze test: Focus on freezing and grooming. *World Journal of Neuroscience*, 04(01), 1–11. <https://doi.org/10.4236/wjns.2014.41001>
- Dreher, J. K., & Jackson, D. M. (1989). Role of D1 and D2 dopamine receptors in mediating locomotor activity elicited from the nucleus accumbens of

- rats. *Brain Research*, 487(2), 267–277. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(89\)90831-7](https://doi.org/10.1016/0006-8993(89)90831-7)
- Drolet, G., Proulx, K., Pearson, D., Rochford, J., & Deschepper, C. F. (2002). Comparisons of Behavioral and Neurochemical Characteristics between WKY, WKHA, and Wistar Rat Strains. In *Neuropsychopharmacology* (Vol. 27, Issue 3). www.acnp.org/citations/
- Ducottet, C., Aubert, A., & Belzung, C. (2004). Susceptibility to subchronic unpredictable stress is related to individual reactivity to threat stimuli in mice. *Behavioural Brain Research*, 155(2), 291–299. <https://doi.org/10.1016/J.BBR.2004.04.020>
- Ennaceur, A. (2014). Tests of unconditioned anxiety - Pitfalls and disappointments. In *Physiology and Behavior* (Vol. 135, pp. 55–71). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2014.05.032>
- Escorihuela, R. M., Fernández-Teruel, A., Gil, L., Aguilar, R., Tobeña, A., & Driscoll, P. (1999). Inbred Roman High- and Low-Avoidance Rats: Differences in Anxiety, Novelty-Seeking, and Shuttlebox Behaviors. *Physiology & Behavior*, 67(1), 19–26. [https://doi.org/10.1016/S0031-9384\(99\)00064-5](https://doi.org/10.1016/S0031-9384(99)00064-5)
- Escorihuela, R. M., Tobeña, A., & Fernández-Teruel, A. (1995). Environmental enrichment and postnatal handling prevent spatial learning deficits in aged hypoemotional (Roman high-avoidance) and hyperemotional (Roman low-avoidance) rats. *Learning & Memory*, 2(1), 40–48. <https://doi.org/10.1101/lm.2.1.40>
- Estanislau, C., Veloso, A. W. N., Filgueiras, G. B., Maio, T. P., Dal-Cól, M. L. C., Cunha, D. C., Klein, R., Carmona, L. F., & Fernández-Teruel, A. (2019a). Rat self-grooming and its relationships with anxiety, dearousal and perseveration: Evidence for a self-grooming trait. *Physiology & Behavior*, 209, 112585. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2019.112585>
- Estanislau, C., Veloso, A. W. N., Filgueiras, G. B., Maio, T. P., Dal-Cól, M. L. C., Cunha, D. C., Klein, R., Carmona, L. F., & Fernández-Teruel, A. (2019b). Rat self-grooming and its relationships with anxiety, dearousal and perseveration: Evidence for a self-grooming trait. *Physiology & Behavior*, 209, 112585. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2019.112585>

- Falconer, D. S., & Mackay, T. F. (1996). *Introduction to Quantitative Genetics* (4th ed.). Longman Scientific & Technical.
- Fanselow, M. S. (1980). Conditional and unconditional components of post-shock freezing. *The Pavlovian Journal of Biological Science*, 15(4), 177–182. <https://doi.org/10.1007/BF03001163>
- Fanselow, M. S. (1984). Opiate modulation of the active and inactive components of the postshock reaction: Parallels between naloxone pretreatment and shock intensity. *Behavioral Neuroscience*, 98(2), 269–277. <https://doi.org/10.1037/0735-7044.98.2.269>
- Fanselow, M. S., & Bolles, R. C. (1979). Naloxone and shock-elicited freezing in the rat. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 93(4), 736–744. <https://doi.org/10.1037/h0077609>
- Ferhat, A. T., Verpy, E., Biton, A., Forget, B., De Chaumont, F., Mueller, F., Le Sourd, A. M., Coqueran, S., Schmitt, J., Rochefort, C., Rondi-Reig, L., Leboucher, A., Boland, A., Fin, B., Deleuze, J. F., Boeckers, T. M., Ey, E., & Bourgeron, T. (2023). Excessive self-grooming, gene dysregulation and imbalance between the striosome and matrix compartments in the striatum of Shank3 mutant mice. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, 16. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2023.1139118>
- Fernández-Teruel, A., Escorihuela, R. M., Castellano, B., González, B., & Tobeña, A. (1997). Neonatal Handling and Environmental Enrichment Effects on Emotionality, Novelty/Reward Seeking, and Age-Related Cognitive and Hippocampal Impairments: Focus on the Roman Rat Lines. *Behavior Genetics*, 27(6), 513–526. <https://doi.org/10.1023/A:1021400830503>
- Ferré, P., Fernández-Teruel, A., Escorihuela, R. M., Driscoll, P., Corda, M. G., Giorgi, O., & Tobeña, A. (1995). Behavior of the Roman/Verh high- and low-avoidance rat lines in anxiety tests: relationship with defecation and self-grooming. *Physiology & Behavior*, 58(6), 1209–1213. [https://doi.org/10.1016/0031-9384\(95\)02068-3](https://doi.org/10.1016/0031-9384(95)02068-3)
- Figueiredo, J. V. (2010). *Efeito da separação maternal na memória dependente do hipocampo de rato*. Universidade de Lisboa.
- Foucault, M. (1978). *História da loucura na Idade Clássica*. Ed. Perspectiva.

- Friedman, L. A., & Rapoport, J. L. (2015). Brain development in ADHD. *Current Opinion in Neurobiology*, 30, 106–111. <https://doi.org/10.1016/j.conb.2014.11.007>
- Gale, N. W., Dominguez, M. G., Noguera, I., Pan, L., Hughes, V., Valenzuela, D. M., Murphy, A. J., Adams, N. C., Lin, H. C., Holash, J., Thurston, G., & Yancopoulos, G. D. (2004). Haploinsufficiency of delta-like 4 ligand results in embryonic lethality due to major defects in arterial and vascular development. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 101(45), 15949–15954. <https://doi.org/10.1073/pnas.0407290101>
- Galvão, B. de O., Gomes, V. de C., Maisonnnette, S., & Landeira-Fernandez, J. (2011). Panic-like behaviors in carioca high-and low-conditioned freezing rats. *Psychology and Neuroscience*, 4(2), 205–210. <https://doi.org/10.3922/j.psns.2011.2.005>
- Goldberg, A., & Hartung, T. (2006). Protecting more than animals. . *Scientific American*, 294(1), 84–91.
- Gorzalczany, S. B., & Rodriguez Basso, A. G. (2021). Strategies to apply 3Rs in preclinical testing. *Pharmacology Research & Perspectives*, 9(5). <https://doi.org/10.1002/prp2.863>
- Goulart, V. G., Rocha-Mendonça, H., Maisonnnette, S., Pandolfo, P., Landeira-Fernandez, J., & Campello-Costa, P. (2021). Differential expression of glutamatergic receptor subunits in the hippocampus in carioca high- and low-conditioned freezing rats. *Molecular and Cellular Neuroscience*, 116. <https://doi.org/10.1016/j.mcn.2021.103666>
- Graeff, F. G., & Zangrossi, H. (2002). Animal models of anxiety. In H. D’Haenen, J. A. den Boer, & P. Willner (Eds.), *GRAEFF, F. G., & ZANGROSSI, H. Animal models of anxiety disorders. In H. D’Haenen, J. A. den Boer, & P. Willner (Eds.), Biological psychiatry, p. 879-893, 2002* (pp. 879–893).
- Gray, J. A. (1979). Emotionality in male and female rodents: A reply to Archer. *British Journal of Psychology*, 70(3), 425–440. <https://doi.org/10.1111/j.2044-8295.1979.tb01713.x>
- Graybiel, A. M. 1, & Saka, E. (2002). A Genetic Basis for Obsessive Grooming. *Neuron*, 33, 1–8.

- Greer, J. M., & Capecchi, M. R. (2002). Hoxb8 Is Required for Normal Grooming Behavior in Mice. *Neuron*, 33(1), 23–34. [https://doi.org/10.1016/S0896-6273\(01\)00564-5](https://doi.org/10.1016/S0896-6273(01)00564-5)
- Guarraci, F. A., Frohardt, R. J., & Kapp, B. S. (1999). Amygdaloid D1 dopamine receptor involvement in Pavlovian fear conditioning. *Brain Research*, 827(1–2), 28–40. [https://doi.org/10.1016/S0006-8993\(99\)01291-3](https://doi.org/10.1016/S0006-8993(99)01291-3)
- Guenaire, C., Feghali, G., Senault, B., & Delacour, J. (1986). Psychophysiological profiles of the roman strains of rats. *Physiology & Behavior*, 37(3), 423–428. [https://doi.org/10.1016/0031-9384\(86\)90200-3](https://doi.org/10.1016/0031-9384(86)90200-3)
- Hall, C. S. (1934). Emotional behavior in the rat. I. Defecation and urination as measures of individual differences in emotionality. *Journal of Comparative Psychology*, 18(3), 385–403. <https://doi.org/10.1037/h0071444>
- Hassan, W., De Castro Gomes, V., Pinton, S., Batista Teixeira Da Rocha, J., & Landeira-Fernandez, J. (2013). Association between oxidative stress and contextual fear conditioning in Carioca high- and low-conditioned freezing rats. *Brain Research*, 1512, 60–67. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2013.03.039>
- Hewitt, K. N., Marsden, C. A., Hollis, C. P., & Fone, K. C. F. (2009). Behavioural characterisation of the effects of acute and repeated administration of GBR 12909 in rats: Further evaluation of a potential model of ADHD. *Neuropharmacology*, 57(7–8), 678–686. <https://doi.org/10.1016/J.NEUROPHARM.2009.08.006>
- Hoffman, D. C., & Beninger, R. J. (1985). The D1 dopamine receptor antagonist, SCH 23390 reduces locomotor activity and rearing in rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 22(2), 341–342. [https://doi.org/10.1016/0091-3057\(85\)90401-0](https://doi.org/10.1016/0091-3057(85)90401-0)
- Howells, F. M., & Russell, V. A. (2008). Glutamate-stimulated release of norepinephrine in hippocampal slices of animal models of attention-deficit/hyperactivity disorder (spontaneously hypertensive rat) and depression/anxiety-like behaviours (Wistar-Kyoto rat). *Brain Research*, 1200, 107–115. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2008.01.033>

- Huang, E., Ngo, M., Yee, S., Held, L., Norman, K., Erika Scremin, A. M., & Scremin, O. (2013). Repeated blast exposure alters open field behavior recorded under low illumination. *Brain Research*, 1529, 125–133. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2013.06.042>
- Jolles, J., Rompa-Barendregt, J., & Gispen, W. H. (1979). Novelty and grooming behavior in the rat. *Behavioral and Neural Biology*, 25(4), 563–572. [https://doi.org/10.1016/S0163-1047\(79\)90362-5](https://doi.org/10.1016/S0163-1047(79)90362-5)
- Kalueff, A. V., Aldridge, J. W., LaPorte, J. L., Murphy, D. L., & Tuohimaa, P. (2007). Analyzing grooming microstructure in neurobehavioral experiments. *Nature Protocols*, 2(10), 2538–2544. <https://doi.org/10.1038/nprot.2007.367>
- Kalueff, A. V., Stewart, A. M., Song, C., Berridge, K. C., Graybiel, A. M., & Fentress, J. C. (2016). Neurobiology of rodent self-grooming and its value for translational neuroscience. In *Nature Reviews Neuroscience* (Vol. 17, Issue 1, pp. 45–59). Nature Publishing Group. <https://doi.org/10.1038/nrn.2015.8>
- Kalueff, A. V., & Tuohimaa, P. (2005). The grooming analysis algorithm discriminates between different levels of anxiety in rats: potential utility for neurobehavioural stress research. *Journal of Neuroscience Methods*, 143(2), 169–177. <https://doi.org/10.1016/J.JNEUMETH.2004.10.001>
- Kaplan, H. I., & Sadock, B. J. (1988). *Synopsis of psychiatry: Behavioral sciences clinical psychiatry*, (5th ed.). Williams & Wilkins Co.
- Kiguchi, M., Satoshi, A. E., Ae, F., Oki, H., Noriyoshi, A. E., Ae, S., & Cools, A. R. (2008). Behavioural characterisation of rats exposed neonatally to bisphenol-A: responses to a novel environment and to methylphenidate challenge in a putative model of attention-deficit hyperactivity disorder. *J Neural Transm*, 115, 1079–1085. <https://doi.org/10.1007/s00702-008-0044-5>
- Kim, P., Choi, I., dela Pena, I. C., Kim, H. J., Kwon, K. J., Park, J. H., Han, S. H., Ryu, J. H., Cheong, J. H., & Shin, C. Y. (2012). A simple behavioral paradigm to measure impulsive behavior in an animal model of attention deficit hyperactivity disorder (ADHD) of the spontaneously hypertensive rats. *Biomolecules and Therapeutics*, 20(1), 125–131. <https://doi.org/10.4062/biomolther.2012.20.1.125>

- Korff, S., & Harvey, B. H. (2006). Animal Models of Obsessive-Compulsive Disorder: Rationale to Understanding Psychobiology and Pharmacology. In *Psychiatric Clinics of North America* (Vol. 29, Issue 2, pp. 371–390). <https://doi.org/10.1016/j.psc.2006.02.007>
- Kostrzewa, R. M., Brus, R., Kalbfleisch, J. H., Perry, K. W., Fullers, R. W., Brus, R., Kalbfleisch, J. H., Perry, K. W., & FULLER Proposed animal model, R. W. (1994). Proposed Animal Model of Attention Deficit Hyperactivity Disorder. In *Brain Research Bulletin* (Vol. 34, Issue 2).
- Kozler, P., Maresova, D., & Pokorny, J. (2017). Study of locomotion, rearing and grooming activity after single and/or concomitant lesions of central and peripheral nervous system in rats. *Neuro Endocrinology Letters*, 38(7), 495–501.
- Ladurelle, N., Sebret, A., Garbay, C., Roques, B. P., & Dauge, V. (1998). Opposite effects of CCK_B agonists in grooming behaviour in rats: further evidence for two CCK_B subsites. *British Journal of Pharmacology*, 124(6), 1091–1098. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0701933>
- Lages, Y. V., Balthazar, L., Krahe, Thomas. E., & Landeira-Fernandez, J. (2022). Pharmacological and Physiological Correlates of the Bidirectional Fear Phenotype of the Carioca Rats and Other Bidirectionally Selected Lines. *Current Neuropharmacology*, 21(9), 1864–1883. <https://doi.org/10.2174/1570159X20666221012121534>
- Lages, Y. V., Maisonnète, S. S., Rosseti, F. P., Galvão, B. O., & Landeira-Fernandez, J. (2021). Haloperidol and methylphenidate alter motor behavior and responses to conditioned fear of Carioca Low-conditioned Freezing rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 211. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2021.173296>
- Lages, Y. V., Maisonnète, S. S., Rosseti, F. P., & Landeira-Fernandez, J. (2021). Acquisition and extinction of contextual fear conditioning in Carioca high- and low-conditioned freezing rats. *Learning and Motivation*, 75. <https://doi.org/10.1016/j.lmot.2021.101744>
- Lalonde, R., & Strazielle, C. (2009). The relation between open-field and emergence tests in a hyperactive mouse model. *Neuropharmacology*, 57(7–8), 722–724. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2009.07.010>

- Landeira-Fernandez, J. (1996). Context and Pavlovian conditioning. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 29, 149–173.
- Landeira-Fernandez, J. (2019). On Becoming a Brazilian Full Professor in Psychology. In S. H. Koller (Ed.), *Psychology in Brazil* (pp. 257–281). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-030-11336-0_15
- Landeira-Fernandez, J., Fanselow, M. S., Decola, J. P., & Kim, J. J. (1995). Effects of handling and context preexposure on the immediate shock deficit. *Animal Learning & Behavior*, 23(3), 335–339. <https://doi.org/10.3758/BF03198930>
- Leo, D., & Gainetdinov, R. R. (2013). Transgenic mouse models for ADHD. *Cell and Tissue Research*, 354(1), 259–271. <https://doi.org/10.1007/s00441-013-1639-1>
- León, L. A., Brandão, M. L., Cardenas, F. P., Parra, D., Krahe, T. E., Cruz, A. P. M., & Landeira-Fernandez, J. (2020). Distinct patterns of brain Fos expression in Carioca High- and Low-conditioned Freezing Rats. *PLOS ONE*, 15(7), e0236039. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0236039>
- León, L. A., Castro-Gomes, V., Zárate-Guerrero, S., Corredor, K., Mello Cruz, A. P., Brandão, M. L., Cardenas, F. P., & Landeira-Fernandez, J. (2017). Behavioral effects of systemic, infralimbic and prelimbic injections of a serotonin 5-HT_{2A} antagonist in carioca high- and low-conditioned freezing rats. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 11. <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2017.00117>
- Linthorst, A. C. E., Broekhoven, M. H., De Jong, W., Van Wimersma Greidanus, T. B., & Versteeg, D. H. G. (1992). Effect of SCH 23390 and quinpirole on novelty-induced grooming behaviour in spontaneously hypertensive rats and Wistar-Kyoto rats. *European Journal of Pharmacology*, 219(1), 23–28. [https://doi.org/10.1016/0014-2999\(92\)90575-O](https://doi.org/10.1016/0014-2999(92)90575-O)
- Luo, X.-M., Yuan, S.-N., Guan, X.-T., Xie, X., Shao, F., & Wang, W.-W. (2014). Juvenile stress affects anxiety-like behavior and limbic monoamines in adult rats. *Physiology & Behavior*, 135, 7–16. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2014.05.035>

- Macêdo-Souza, C., Maissonette, S. S., Filgueiras, C. C., Landeira-Fernandez, J., & Krahe, T. E. (2020). Cued Fear Conditioning in Carioca High- and Low-Conditioned Freezing Rats. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 13. <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2019.00285>
- Magierek, V., Ramos, P. L., da Silveira-Filho, N. G., Nogueira, R. L., & Landeira-Fernandez, J. (2003). *Context fear conditioning inhibits panic-like behavior elicited by electrical stimulation of dorsal periaqueductal gray*. 14(12), 1641–1644.
- Maia, M. I. R., & Confortin, H. (2015). TDAH E APRENDIZAGEM: UM DESAFIO PARA A EDUCAÇÃO. *Perspectiva*, 39(148), 73–84.
- Maki, Y., Inoue, T., Izumi, T., Muraki, I., Ito, K., Kitaichi, Y., Li, X., & Koyama, T. (2000). Monoamine oxidase inhibitors reduce conditioned fear stress-induced freezing behavior in rats. *European Journal of Pharmacology*, 406(3), 411–418. [https://doi.org/10.1016/S0014-2999\(00\)00706-8](https://doi.org/10.1016/S0014-2999(00)00706-8)
- Matell, M. S., Berridge, K. C., & Wayne Aldridge, J. (2006). Dopamine D1 activation shortens the duration of phases in stereotyped grooming sequences. *Behavioural Processes*, 71(2–3), 241–249. <https://doi.org/10.1016/j.beproc.2005.09.008>
- Miguel, P. M. (2014). *Hipóxia-isquemia neonatal e o desenvolvimento de características relacionadas ao transtorno de déficit de atenção/hiperatividade em ratos wistar machos : análises comportamentais e dano tecidual cerebral*. Universidade Federal do Rio Grande do Sul.
- Moisan, M.-P., Llamas, B., Cook, M. N., & Mormède, P. (2003). Further dissection of a genomic locus associated with behavioral activity in the Wistar–Kyoto hyperactive rat, an animal model of hyperkinesis. *Molecular Psychiatry*, 8(3), 348–352. <https://doi.org/10.1038/sj.mp.4001234>
- Montgomery, K. C. (1955). The relation between fear induced by novel stimulation and exploratory drive. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 48(4), 254–260. <https://doi.org/10.1037/h0043788>

- Moreno, M., Cardona, D., Gómez, M. J., Sánchez-Santed, F., Tobeña, A., Fernández-Teruel, A., Campa, L., Suñol, C., Escarabajal, M. D., Torres, C., & Flores, P. (2010). Impulsivity Characterization in the Roman High- and Low-Avoidance Rat Strains: Behavioral and Neurochemical Differences. *Neuropsychopharmacology*, 35(5), 1198–1208. <https://doi.org/10.1038/npp.2009.224>
- Morris, R. W., & Bouton, M. E. (2006). Effect of unconditioned stimulus magnitude on the emergence of conditioned responding. *Journal of Experimental Psychology: Animal Behavior Processes*, 32(4).
- Muneoka, K., Kuwagata, M., Iwata, M., Shirayama, Y., Ogawa, T., & Takigawa, M. (2006). Dopamine transporter density and behavioral response to methylphenidate in a hyperlocomotor rat model. *Congenital Anomalies*, 46, 155–159. <https://doi.org/10.1111/j.1741-4520.2006.00119.x>
- Myers, D. G. (2016). *Psicologia* (9th ed.). LTC.
- Negishi, T., Kawasaki, K., Sekiguchi, S., Ishii, Y., Kyuwa, S., Kuroda, Y., & Yoshikawa, Y. (2005). Attention-deficit and hyperactive neurobehavioural characteristics induced by perinatal hypothyroidism in rats. *Behavioural Brain Research*, 159(2), 323–331. <https://doi.org/10.1016/J.BBR.2004.11.012>
- Nestler, E. J., & Hyman, S. E. (2010). Animal models of neuropsychiatric disorders. *Nature Neuroscience*, 13(10), 1161–1169. <https://doi.org/10.1038/nn.2647>
- Ohno, Y., Okano, M., Masui, A., Imaki, J., Egawa, M., Yoshihara, C., Tatara, A., Mizuguchi, Y., Sasa, M., & Shimizu, S. (2012). Region-specific elevation of D1 receptor-mediated neurotransmission in the nucleus accumbens of SHR, a rat model of attention deficit/hyperactivity disorder. *Neuropharmacology*, 63(4), 547–554. <https://doi.org/10.1016/J.NEUROPHARM.2012.04.031>
- O’Leary, K. (2021). Treatment dilemmas in childhood ADHD. *Nature Medicine*. <https://doi.org/10.1038/d41591-021-00032-6>
- Olmedo-Córdoba, M., Moreno-Montoya, M., Mora, S., Prados-Pardo, Á., & Martín-González, E. (2023). Avoidance and inhibitory control are possible transdiagnostic traits? A systematic review in animal models.

- Behavioural Brain Research*, 451, 114500.
<https://doi.org/10.1016/j.bbr.2023.114500>
- Pais, S. C., Menezes, I., & Nunes, J. A. (2016). Saúde e escola: reflexões em torno da medicalização da educação. *Cadernos de Saúde Pública*, 32(9).
<https://doi.org/10.1590/0102-311X00166215>
- Parra, L. F. C. (1999). *Efeito da remoção das vibrissas mistaciais sobre o comportamento exploratório do rato no labirinto em cruz elevado sob condições de claridade e obscuridade*. [Universidade de São Paulo].
<https://doi.org/10.11606/D.59.1999.tde-08032002-161055>
- Passantino, A. (2008). Application of the 3Rs Principles for Animals Used for Experiments at the Beginning of the 21st Century; *Annual Review of Biomedical Sciences*, 10(0).
<https://doi.org/10.5016/1806-8774.2008.v10pT27>
- Pavlov, I. P. (1928). *Conditioned reflexes: An investigation of the physiological activity of the cerebral cortex*. Oxford University Press: Humphrey Milford.
- Pereira, A. dos S. (2013). *O efeito da aprendizagem na mediação das respostas emocionais de ansiedade no rato wistar*. Universidade federal do Amazonas.
- Ponder, C. A., Kliethermes, C. L., Drew, M. R., Muller, J., Das, K., Risbrough, V. B., Crabbe, J. C., Gilliam, T. C., & Palmer, A. A. (2007). Selection for contextual fear conditioning affects anxiety-like behaviors and gene expression. *Genes, Brain and Behavior*, 6(8), 736–749.
<https://doi.org/10.1111/j.1601-183X.2007.00306.x>
- Portella, G. A. A. (2019). *Revisão bibliográfica de artigos com ratos espontaneamente hipertensivos (SHR) em pesquisas de modelo animal de TDAH*. Pontifícia Universidade Católica de São Paulo.
- Posner, J., Polanczyk, G. V., & Sonuga-Barke, E. (2020). Attention-deficit hyperactivity disorder. *The Lancet*, 395(10222), 450–462.
[https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(19\)33004-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(19)33004-1)
- Puumala, T., Ruotsalainen, S., Jäkälä, P., Koivisto, E., Riekkinen, P., & Sirviö, J. (1996). Behavioral and Pharmacological Studies on the Validation of a New Animal Model for Attention Deficit Hyperactivity Disorder. *Neurobiology of Learning and Memory*, 66, 198–211.

- Radcliffe, R. A., Lowe, M. V., & Wehner, J. M. (2000). Confirmation of Contextual Fear Conditioning QYs by Short-Term Selection. *Behavior Genetics*, 30(3), 183–191. <https://doi.org/10.1023/A:1001910107167>
- Rahi, V., & Kumar, P. (2021). Animal models of attention-deficit hyperactivity disorder (ADHD). In *International Journal of Developmental Neuroscience* (Vol. 81, Issue 2, pp. 107–124). John Wiley and Sons Inc. <https://doi.org/10.1002/jdn.10089>
- Ramos, A., & Mormède, P. (2006). Genetic Analysis of Emotional Behaviors Using Animal Models. In B. C. Jones & P. Mormède (Eds.), *Neurobehavioral Genetics* (2nd ed.). CRC Press.
- Raymundo, M. M., & Goldim, J. R. (2002). Ética da pesquisa em modelos animais. *Bioética*, 10(1), 31–44.
- Rizzo, F., Abaei, A., Nespoli, E., Fegert, J. M., Hengerer, B., Rasche, V., & Boeckers, T. M. (2017). Aripiprazole and Riluzole treatment alters behavior and neurometabolites in young ADHD rats: a longitudinal 1H-NMR spectroscopy study at 11.7T. *Translational Psychiatry*, 7. <https://doi.org/10.1038/tp.2017.167>
- Rucklidge, J. J. (2010). Gender Differences in Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder. *Psychiatric Clinics of North America*, 33(2), 357–373. <https://doi.org/10.1016/j.psc.2010.01.006>
- Ruocco, L. A., Carnevale, U. A. G., Sica, A., Arra, C., Topo, E., Di Giovanni, M., D’Aniello, A., & Sadile, A. G. (2009). Differential prepuberal handling modifies behaviour and excitatory amino acids in the forebrain of the Naples High-Excitability rats. *Behavioural Brain Research*, 198(1), 29–36. <https://doi.org/10.1016/J.BBR.2008.09.028>
- Ruocco, L. A., de Souza Silva, M. A., Topic, B., Mattern, C., Huston, J. P., & Sadile, A. G. (2009). Intranasal application of dopamine reduces activity and improves attention in Naples High Excitability rats that feature the mesocortical variant of ADHD. *European Neuropsychopharmacology*, 19(10), 693–701. <https://doi.org/10.1016/J.EURONEURO.2009.02.005>
- Ruocco, L. A., Treno, C., Gironi Carnevale, U. A., Arra, C., Boatto, G., Pagano, C., Tino, A., Nieddu, M., Michel, M., Priekulis, I., Carboni, E., de Souza Silva, M. A., Huston, J. P., Sadile, A. G., & Korth, C. (2015). Immunization with DISC1 protein in an animal model of ADHD

- influences behavior and excitatory amino acids in prefrontal cortex and striatum. *Amino Acids*, 47, 637–650. <https://doi.org/10.1007/s00726-014-1897-6>
- Russell, V. A. (2003). Dopamine hypofunction possibly results from a defect in glutamate-stimulated release of dopamine in the nucleus accumbens shell of a rat model for attention deficit hyperactivity disorder—the spontaneously hypertensive rat. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 27(7), 671–682. <https://doi.org/10.1016/J.NEUBIOREV.2003.08.010>
- Russell, V. A. (2011). Overview of animal models of attention deficit hyperactivity disorder (ADHD). *Current Protocols in Neuroscience*, SUPPL.54. <https://doi.org/10.1002/0471142301.ns0935s54>
- Russell, V. A., Sagvolden, T., & Johansen, E. B. (2005). Animal models of attention-deficit hyperactivity disorder. In *Behavioral and Brain Functions* (Vol. 1). <https://doi.org/10.1186/1744-9081-1-9>
- Sachs, B. D. (1988). The Development of Grooming and Its Expression in Adult Animals. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 525(1), 1–17. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1988.tb38591.x>
- Sagvolden, T. (2000). Behavioral validation of the spontaneously hypertensive rat (SHR) as an animal model of attention-deficit/hyperactivity disorder (AD/HD). *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 24, 31–39. www.elsevier.com/locate/neubiorev
- Sagvolden, T., DasBanerjee, T., Zhang-James, Y., Middleton, F. A., & Faraone, S. V. (2008). Behavioral and genetic evidence for a novel animal model of Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder Predominantly Inattentive Subtype. *Behavioral and Brain Functions*, 4. <https://doi.org/10.1186/1744-9081-4-56>
- Sagvolden, T., & Johansen, E. B. (2012). Rat models of ADHD. *Current Topics in Behavioral Neurosciences*, 9, 301–315. https://doi.org/10.1007/7854_2011_126
- Sagvolden, T., Pettersen, M. B., & Larsen, M. C. (1993). Spontaneously hypertensive rats (SHR) as a putative animal model of childhood hyperkinesis: SHR behavior compared to four other rat strains. *Physiology & Behavior*, 54(6), 1047–1055. [https://doi.org/10.1016/0031-9384\(93\)90323-8](https://doi.org/10.1016/0031-9384(93)90323-8)

- Sagvolden, T., Russell, V. A., Aase, H., Johansen, E. B., & Farshbaf, M. (2005). Rodent models of attention-deficit/hyperactivity disorder. In *Biological Psychiatry* (Vol. 57, Issue 11, pp. 1239–1247). <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2005.02.002>
- Sahakian, B. J., Robbins, T. W., & Iversen, S. D. (1977). The effects of isolation rearing on exploration in the rat. *Animal Learning & Behavior*, 5(2), 193–198. <https://doi.org/10.3758/BF03214077>
- Salari, N., Ghasemi, H., Abdoli, N., Rahmani, A., Shiri, M. H., Hashemian, A. H., Akbari, H., & Mohammadi, M. (2023). The global prevalence of ADHD in children and adolescents: a systematic review and meta-analysis. *Italian Journal of Pediatrics*, 49(1). <https://doi.org/10.1186/s13052-023-01456-1>
- Sartori, S. B., Landgraf, R., & Singewald, N. (2011). The clinical implications of mouse models of enhanced anxiety. *Future Neurology*, 6(4), 531–571. <https://doi.org/10.2217/fnl.11.34>
- Sigmundi, R. A., & Bolles, R. C. (1983). CS modality, context conditioning, and conditioned freezing. *Animal Learning & Behavior*, 11(2), 205–212. <https://doi.org/10.3758/BF03199650>
- Solanto, M. V. (2000). Clinical psychopharmacology of AD/HD: Implications for animal models. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 24, 27–30. www.elsevier.com/locate/neubiorev
- Sontag, T. A., Tucha, O., Walitza, S., & Lange, K. W. (2010). Animal models of attention deficit/hyperactivity disorder (ADHD): A critical review. In *ADHD Attention Deficit and Hyperactivity Disorders* (Vol. 2, Issue 1, pp. 1–20). <https://doi.org/10.1007/s12402-010-0019-x>
- Spruijt, B. M., van Hooff, J. A., & Gispen, W. H. (1992). Ethology and neurobiology of grooming behavior. *Physiological Reviews*, 72(3), 825–852. <https://doi.org/10.1152/physrev.1992.72.3.825>
- Spruijt, B. M., Welbergen, P., Brakkee, J., & Gispen, W. H. (1988). An Ethological Analysis of Excessive Grooming in Young and Aged Rats. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 525(1), 89–100.
- Steckler, T., Stein, M. B., & Holmes, A. (2008). Developing Novel Anxiolytics: Improving Preclinical Detection and Clinical Assessment.

- Animal and Translational Models for CNS Drug Discovery*, 117–132.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-373861-5.00005-9>
- Sturman, O., Germain, P. L., & Bohacek, J. (2018). Exploratory rearing: a context- and stress-sensitive behavior recorded in the open-field test. *Stress*, 21(5), 443–452. <https://doi.org/10.1080/10253890.2018.1438405>
- Tejada, J., Chaim, K. T., & Morato, S. (2018). X-PloRat: A Software for Scoring Animal Behavior in Enclosed Spaces. *Psicologia: Teoria e Pesquisa*, 33(0). <https://doi.org/10.1590/0102.3772e3322>
- Ugarte, G., Piña, R., Contreras, D., Godoy, F., Rubio, D., Rozas, C., Zeise, M., Vidal, R., Escobar, J., & Morales, B. (2023). Attention Deficit-Hyperactivity Disorder (ADHD): From Abnormal Behavior to Impairment in Synaptic Plasticity. *Biology*, 12(9), 1241. <https://doi.org/10.3390/biology12091241>
- Unis, A. S., Petracca, F., & Diaz, J. (1991). Somatic and behavioral ontogeny in three rat strains: Preliminary observations of dopamine-mediated behaviors and brain D-1 receptors. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 15(1), 129–138. [https://doi.org/10.1016/0278-5846\(91\)90047-5](https://doi.org/10.1016/0278-5846(91)90047-5)
- Viggiano, D., Ruocco, L. A., Pignatelli, M., Grammatikopoulos, G., & Sadile, A. G. (2003). Prenatal elevation of endocannabinoids corrects the unbalance between dopamine systems and reduces activity in the Naples High Excitability rats. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 27(1–2), 129–139. [https://doi.org/10.1016/S0149-7634\(03\)00015-0](https://doi.org/10.1016/S0149-7634(03)00015-0)
- Vitalo, A., Fricchione, J., Casali, M., Berdichevsky, Y., Hoge, E. A., Rauch, S. L., Berthiaume, F., Yarmush, M. L., Benson, H., Fricchione, G. L., & Levine, J. B. (2009). Nest Making and Oxytocin Comparably Promote Wound Healing in Isolation Reared Rats. *PLoS ONE*, 4(5), e5523. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0005523>
- Volkow, N. D., Fowler, J. S., Wang, G.-J., Swanson, J. M., & Telang, F. (2007). Dopamine in Drug Abuse and Addiction. *Archives of Neurology*, 64(11), 1575. <https://doi.org/10.1001/archneur.64.11.1575>
- Vuralli, D., Wattiez, A. S., Russo, A. F., & Bolay, H. (2019). Behavioral and cognitive animal models in headache research Cenk Ayata. In *Journal of*

- Headache and Pain* (Vol. 20, Issue 1). BioMed Central Ltd.
<https://doi.org/10.1186/s10194-019-0963-6>
- Waddington, J. L., O'Tuathaigh, C., O'Sullivan, G., Tomiyama, K., Koshikawa, N., & Croke, D. T. (2005). Phenotypic studies on dopamine receptor subtype and associated signal transduction mutants: insights and challenges from 10 years at the psychopharmacology–molecular biology interface. *Psychopharmacology*, *181*(4), 611–638.
<https://doi.org/10.1007/s00213-005-0058-8>
- Watson, J. B., & Rayner, R. (1920). Conditioned emotional reactions. *Journal of Experimental Psychology*, *3*(1), 1–14.
<https://doi.org/10.1037/h0069608>
- Wegener, G., Mathe, A. A., & Neumann, I. D. (2011). *Selectively Bred Rodents as Models of Depression and Anxiety* (pp. 139–187).
https://doi.org/10.1007/7854_2011_192
- WHO. (2017). *Depression and other common mental disorders: Global Health Estimates*. 2017.
www.who.int/mental_health/management/depression/prevalence_global_health_estimates/en
- Wickelgren, I. (2024, March 4). Why Do So Many Mental Illnesses Overlap? *Scientific American*.
- Wickens, J. R., Hyland, B. I., Tripp, G., & Wickens, J. (2011). Themed Issue: Translational Neuropharmacology-Using Appropriate Animal Models to Guide Clinical Drug Development Animal models to guide clinical drug development in ADHD: lost in translation? *British Journal of Pharmacology*, *164*, 1107–1128.
<https://doi.org/10.1111/bph.2011.164.issue-4>
- Willner, P. (1986). Validation criteria for animal models of human mental disorders: Learned helplessness as a paradigm case. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, *10*(6), 677–690.
[https://doi.org/10.1016/0278-5846\(86\)90051-5](https://doi.org/10.1016/0278-5846(86)90051-5)
- Willner, P. (1991). Animal models as simulations of depression. *Trends in Pharmacological Sciences*, *12*(C), 131–136.
[https://doi.org/10.1016/0165-6147\(91\)90529-2](https://doi.org/10.1016/0165-6147(91)90529-2)

- Wultz, B., Sagvolden, T., Moser, E. I., & Moser, M.-B. (1990). The spontaneously hypertensive rat as an animal model of attention-deficit hyperactivity disorder: Effects of methylphenidate on exploratory behavior. *Behavioral and Neural Biology*, 53(1), 88–102. [https://doi.org/10.1016/0163-1047\(90\)90848-Z](https://doi.org/10.1016/0163-1047(90)90848-Z)
- Yuan, H., Ni, X., Zheng, M., Han, X., Song, Y., & Yu, M. (2019). Effect of catalpol on behavior and neurodevelopment in an ADHD rat model. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 118, 109033. <https://doi.org/10.1016/J.BIOPHA.2019.109033>

Figure legends

Figure 1. Frequency and duration of rearing in CLF, CHF and CTL rats. A, total frequency of rearing. CLF animals show more rearing events compared to both CHF and CTL groups. B, frequency of rearing events within the testing session. Note that, for all groups, there was a decrease in the rearing frequency over time. C, CLF animals show more rearing events compared to both CLF and CTL groups. D, time spent in a rearing posture within the testing session. Note that, similar to (B), all groups show a decrease in the time spent rearing. CLF, n = 38; CHF, n = 34; CTL, n = 36. Symbols and Bars are means \pm SEM. *p < 0.05, LSD post-hot test.

Figure 2. Frequency and duration of grooming in CLF, CHF and CTL rats. A, total frequency of grooming. CLF and CHF rats show fewer grooming events compared to the CTL group. B, frequency of grooming events within the testing session. Note that, similar to rearing, there was a tendency for decrease in the frequency of grooming over time. C, CLF animals show less total time spent grooming compared to CHF and CTL rats. D, time spent grooming within the testing session. CLF, n = 38; CHF, n = 34; CTL, n = 36. Symbols and Bars are means \pm SEM. *p < 0.05, LSD post-hot test.

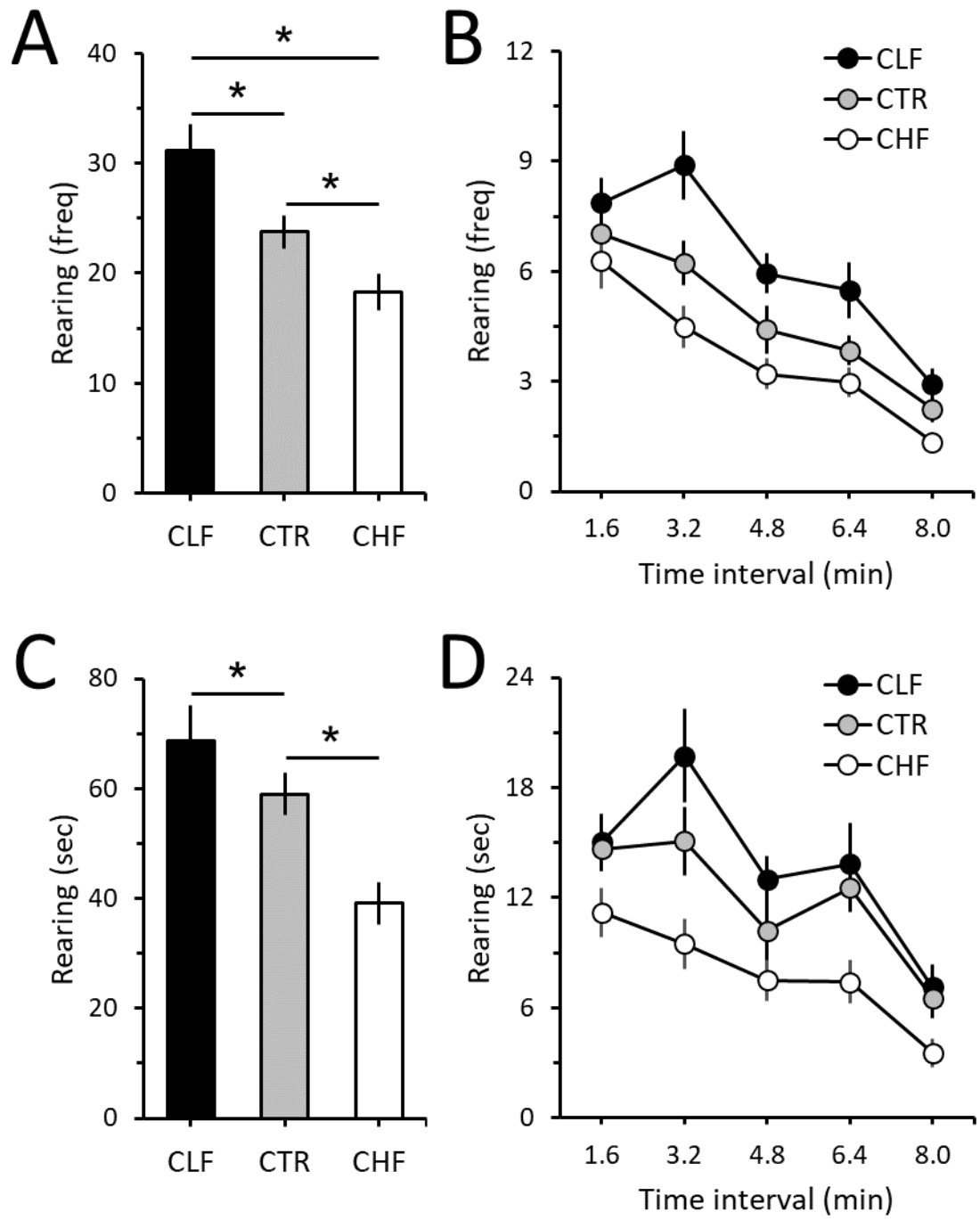
Figure 1

Figure 2

