



Bruna Soares de Souza Silveira

Comportamentos defensivos sob ameaça proximal em ratos das linhagens Carioca de alto e baixo índice de congelamento condicionado

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: Thomas Eichenberg Krahe

Rio de Janeiro,
Setembro de 2025.



Bruna Soares de Souza Silveira

Comportamentos defensivos sob ameaça proximal em ratos das linhagens Carioca de alto e baixo índice de congelamento condicionado

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. Rita de Cássia Soares Alves
Departamento de Psicologia – PUC-Rio

Prof. Alex Christian Manhães
Universidade Estadual do Rio de Janeiro - UERJ

Rio de Janeiro, 11 de setembro de 2025.

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

Bruna Soares de Souza Silveira

Graduou-se em Psicologia na PUC-Rio (Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro) em 2022. Cursou a especialização em Terapia Cognitivo-Comportamental na PUC-Rio. É psicóloga clínica em consultório particular.

Ficha Catalográfica

Silveira, Bruna Soares de Souza

Comportamentos defensivos sob ameaça proximal em ratos das linhagens Carioca de alto e baixo índice de congelamento condicionado / Bruna Soares de Souza Silveira; orientador: Thomas Eichenberg Krahe. – 2025.

70 f.: il. color.; 30 cm

Dissertação (mestrado) – Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro, Departamento de Psicologia, 2025.

Inclui bibliografia

1. Psicologia – Teses. 2. Comportamento defensivo.
3. Luta defensiva. 4. Ameaça proximal. 5. Modelos animais. 6. Ansiedade. I. Krahe, Thomas Eichenberg.
- II. Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro. Departamento de Psicologia. III. Título.

CDD: 150

Aos meus pais, que mesmo sem saber o
caminho me trouxeram tão longe.

Agradecimentos

Há dois meses, perdi o último representante do amor incondicional que só avôs e avós sabem dar. Finalizar o mestrado não foi uma tarefa fácil, e tudo se tornou ainda mais difícil com a perda do meu avô. Entretanto, com a Vó Tereza aprendi a alegria; com a Vó Lúcia, a coragem; e com o Vô Baica, a ser forte até o fim. Foi com essa força, coragem e alegria que consegui chegar até aqui. Portanto, agradeço primeiramente a eles, os primeiros desbravadores da nossa família, que permitiram que todos nós, inclusive eu, pudéssemos chegar tão longe.

Aos meus pais, Marcos e Marlucia, que sempre me apoiaram e acreditaram em mim. Sou imensamente grata por todas as oportunidades que, com muito esforço, vocês puderam me proporcionar. Essa conquista nunca foi um sonho, até porque eu nem sabia que essa possibilidade existia. Mas, com vocês, descobri que, por mais que tivesse medo do desconhecido, sempre teria a chance de seguir adiante e sonhar sonhos inimagináveis, porque sabia que vocês estariam ao meu lado.

À minha irmã, Beatriz, com quem não divido apenas os pais, mas também a vida, os sonhos e, principalmente, a jornada. Sem você, tudo teria sido mais difícil, sem graça e sem nossas conversas intermináveis. Obrigada por estar sempre ao meu lado e torcer por mim. Sem você, eu não teria chegado até aqui.

Ao Júnior, que durante a escrita esteve ao meu lado para me acalmar nos momentos difíceis. Obrigado por ser meu único companheiro da madrugada durante a escrita.

Às minhas tias, que sempre estiveram presentes em minha vida e contribuíram com tanto amor, suporte e carinho.

Em 2018, tive o grande prazer de conhecer duas pessoas incríveis que me ensinaram muito mais que ciência. Flávia, muito obrigada por estar sempre ao meu lado e por toda a ajuda ao longo desses anos. Você me acompanhou em cada etapa, desde o protocolo até cada rodada de experimentos, e sou profundamente grata por todo o suporte e carinho. Sílvia, obrigada por sempre se fazer presente, seja no laboratório ou na vida. Agradeço por toda a ajuda e pelo carinho recebido.

Aos meus amigos, tive a sorte de construir, ao longo da vida, amizades que sempre se fizeram presentes. Obrigada por estarem ao meu lado. Em especial, agradeço aos amigos que participaram ativamente da construção desta dissertação. Manu e Vi, obrigada por celebrarem comigo e me incentivarem. Sou muito feliz por compartilhar a amizade de mulheres tão incríveis, de quem aprendo tanto e que admiro profundamente. A Tata, com quem em 2018

dividi uma manipulação no laboratório e, desde então, divido a vida: sorrimos, choramos e, o mais importante, nos apoiamos mutuamente. A Amanda, minha dupla de mestrado, com quem tenho a sensação de conviver há séculos: seu cuidado e apoio foram fundamentais para que esse processo fosse mais leve e divertido. Obrigada por dividir esse momento comigo.

Ao meu orientador, Thomas, obrigada por fazer parte desta jornada desde 2018. Sou muito grata por tudo que aprendi e amadureci ao longo da minha trajetória acadêmica, que começou na iniciação científica e se estendeu até o mestrado.

À Rita de Cássia, que me acolheu no estágio em docência e, com calma e paciência, me mostrou que dar aula não é tão ansiogênico quanto eu imaginava. Muito obrigada por todo carinho e pela oportunidade de aprender com você.

Quero também agradecer à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e à PUC-Rio pelos auxílios concedidos, sem os quais este trabalho não poderia ter sido realizado.

E, por fim, a todos que, de forma direta ou indireta, fizeram parte da minha formação e que não citei aqui, deixo meus mais sinceros agradecimentos.

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

Resumo

Silveira, Bruna Soares de Souza; Krahe, Thomas Eichenberg. **Comportamentos defensivos sob ameaça proximal em ratos das linhagens Carioca de alto e baixo índice de congelamento condicionado.** Rio de Janeiro, 2025. 70p. Dissertação de Mestrado – Departamento de Psicologia, Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro.

Os comportamentos defensivos variam conforme a proximidade da ameaça, oscilando entre o congelamento e a luta defensiva. Este estudo investigou como ratos das linhagens Carioca de alto (CAC) e de baixo (CBC) congelamento — desenvolvidas por seleção fenotípica — respondem a uma ameaça social proximal. Ratos CAC, CBC e do grupo controle (CTR) foram expostos à aplicação de choques nas patas na presença de um coespecífico. Os comportamentos foram categorizados como congelamento, luta defensiva e atividade geral. Tanto os animais das linhagens CAC quanto os CBC apresentaram menor frequência de luta defensiva em comparação ao grupo controle. No entanto, os ratos CAC exibiram maior resposta de congelamento, enquanto os CBC demonstraram aumento da atividade geral. Esses resultados indicam que a seleção baseada no congelamento contextual gera estratégias distintas de enfrentamento sob ameaça proximal. A linhagem CAC favorece respostas defensivas passivas, enquanto a linhagem CBC tende a comportamentos não defensivos, evidenciando a divergência comportamental resultante da seleção e oferecendo subsídios para modelos experimentais de ansiedade.

Palavras-chave

Comportamento defensivo, Luta defensiva, Ameaça proximal, Modelos animais, Ansiedade.

Abstract

Silveira, Bruna Soares de Souza; Krahe, Thomas Eichenberg (Advisor). **Defensive freezing and fighting under proximal threat: divergent coping strategies in Carioca rat lines.** Rio de Janeiro, 2025. 70p. Dissertação de Mestrado – Departamento de Psicologia, Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro.

Defensive behaviors vary with threat proximity, ranging from defensive freezing to active fighting. This study examined how selectively bred Carioca high (CHF) and low (CLF) freezing rats - respond to proximal social threat. CHF, CLF, and control (CTL) rats were exposed to footshock in the presence of a conspecific. Behaviors were categorized as freezing, defensive fighting, or general activity. Both CHF and CLF rats showed reduced defensive fighting compared to CTL animals. However, CHF rats exhibited more freezing, while CLF rats displayed increased general activity. These results indicate that selection based on contextual freezing produces distinct coping strategies under proximal threat. The CHF line favors defensive responses, while the CLF line shifts toward non-defensive behavior, highlighting the behavioral divergence resulting from selective breeding and offering insights into models of anxiety.

Keywords

Defensive behavior, Defensive fighting, Proximal threat, Animal models, Anxiety.

Sumário

1. Introdução e Fundamentação teórica.....	13
1.1 Contextualização da pesquisa sobre comportamentos defensivos (Base evolutiva dos comportamentos defensivos)	13
1.2 Importância do estudo da proximidade da ameaça e dos repertórios defensivos.....	16
1.3 Estratégias de enfrentamento: <i>coping</i> passivo versus <i>coping</i> ativo.....	19
1.4 Fundamentos neurobiológicos dos comportamentos defensivos.....	20
1.5 Modelo dos três níveis de defesa e gradiente de distância da ameaça.....	23
1.6 Estilos de <i>coping</i> e reatividade ao estresse (Perfis passivos de <i>coping</i> , Perfis ativos de <i>coping</i>)	25
1.7 O papel da seleção genética na modelagem do comportamento defensivo: Linhagens dos ratos cariocas	27
1.8 Relevância translacional das linhagens Carioca para o estudo de transtornos de ansiedade.....	29
2. Objetivos	32
2.1 Geral.....	32
2.2 Específico.....	32
3. Materiais e Métodos.....	32
3.1 Animais: linhagens, origem, idade e critérios de inclusão.....	32
3.2 Teste de Comportamento Defensivo.....	33
3.3 Aparato.....	34
3.4 Registro e Análise Comportamental.....	35
3.5 Análise estatística.....	35
4. Resultado.....	36
5. Discussão.....	39
6. Conclusão.....	42
7. Referências.....	43
8. Apêndices e Anexo.....	52

Lista :Tabelas e figuras

Figura 1. Ativação de substratos neurais distintos em função da natureza dos estímulos ameaçadores. Estímulos de perigo condicionados (potencial ou distal) provocam congelamento condicionado por meio da ativação do sistema de inibição comportamental (sistema septo-hipocampal), enquanto estímulos de perigo inatos (proximais ou nociceptivos) provocam formas ativas de comportamento defensivo por meio da ativação do eixo amígdala-dPAG. A ativação do circuito dPAG-amígdala por estímulos nociceptivos também pode desencadear mecanismos inibitórios por meio de projeções amígdala-dPAG. Isso pode estar por trás da chamada analgesia induzida pelo medo ou da proposta de que a ansiedade inibe o pânico. (Figura retirada de Brandão et al.,2008, pg.4)

Figura 2: Ilustração representando a caracterização da linhagem de Cariocas com alto e baixo índice de congelamento (Adaptado de Lages et al,2023).

Figura 3: Câmara de condicionamento Bonther utilizada para a realização do teste de comportamentos defensivos.

Figura 4. Medidas comportamentais entre as linhagens selecionadas.

Médias (\pm EPM) dos valores de congelamento, comportamento de luta defensiva e atividade geral em animais das linhagens CAC, CTR e CBC. Os dados foram agrupados entre os sexos devido à ausência de efeitos principais ou interações significativas relacionados ao sexo.

Figura 5–8. Exemplos representativos dos comportamentos defensivos avaliados nos diferentes grupos experimentais. (5) Comportamento de luta em animal do grupo CTR; (6) resposta de congelamento em animal da linhagem CAC; (7) atividade geral observada durante o teste em animais do grupo CBC; (8) comportamento de *boxing* em animal do grupo CTR.

Lista de siglas e abreviações

CAC: Carioca com Alto Congelamento

CBC: Carioca com Baixo Congelamento

CTR: Grupo Controle

dPAG: Substância Cinzenta Periaquedatal Dorsal

HPA: Hipotálamo–Pituitária–Adrenal

TAG: Transtorno de Ansiedade Generalizada

TP: Transtorno do Pânico

TEPT: Transtorno de Estresse Pós-traumático

PVN: Núcleo Paraventricular do hipotálamo

LHb: Habenula Lateral

PAG: Substância Cinzenta Periaquedatal

PFC: Córtex Pré-Frontal

mPFC: Córtex Pré-Frontal Medial

vPAG: Substância Cinzenta Periaquedatal Ventral

“O jardim é simples, e logo que se entra, sente-se que não foi um jardineiro profissional que o projetou, mas sim um coração sensível, que tencionava fruir a si próprio nesse local.”

Os sofrimentos do jovem Werther- Goethe

1 Introdução

1.1 Contextualização da pesquisa sobre comportamentos defensivos (Base evolutiva dos comportamentos defensivos)

Os comportamentos defensivos ocupam papel central na evolução das espécies, constituindo um conjunto de respostas que garantem a sobrevivência diante de predadores e situações de risco. Desde as observações pioneiras de Charles Darwin sobre a expressão das emoções (Darwin, 1872/2009), reconhece-se que tais respostas apresentam uma base filogenética conservada, compartilhada entre diferentes espécies de mamíferos (Campos et al., 2013). Essa perspectiva evolutiva sustenta a noção de que os mecanismos subjacentes ao medo e à ansiedade representam adaptações funcionais, moldadas para maximizar a probabilidade de sobrevivência em ambientes incertos e potencialmente perigosos (Öhman & Mineka, 2001).

A preservação desses comportamentos ao longo das espécies reflete seu valor adaptativo. A imobilidade, por exemplo, pode reduzir a detecção por predadores, enquanto a fuga aumenta as chances de escape imediato (Landeira-Fernandez et al., 1995; Landeira-Fernandez, 1996). Já as respostas ativas de luta, observadas em situações de ameaça iminente e inescapável, podem aumentar a probabilidade de sobrevivência em interações de confronto direto (Blanchard et al., 2001). Tais respostas se organizam dentro de um gradiente de ameaça, em que a proximidade e a previsibilidade do estímulo aversivo modulam a forma de reação exibida pelo organismo (Blanchard et al., 2001; Volchan et al., 2017). Esse arranjo sugere que os sistemas de defesa evoluíram não como mecanismos isolados, mas como repertórios flexíveis ajustados ao contexto (Brandão et al., 2008; Volchan et al., 2017).

Historicamente, o estudo do comportamento foi marcado por duas tradições complementares: a etológica, voltada para a adaptação dos organismos em contextos naturais, e a neurocientífica, focada nos mecanismos neurais, moleculares e psicológicos subjacentes (Wang et al., 2023; Fanselow & Bolles, 1979). No entanto, as limitações metodológicas da neurociência restringiram, por muito tempo, as investigações a respostas simples, eliciadas por estímulos discretos em ambientes artificiais de laboratório. Mais recentemente, com o desenvolvimento

de ferramentas que permitem monitorar a atividade neural em animais que se comportam livremente, tornou-se possível integrar de maneira mais efetiva a perspectiva etológica aos estudos de neurociência (Ide et al., 2022; Datta, 2019). Essa integração tem ampliado a compreensão sobre comportamentos defensivos, agressivos e de dominância em roedores, fortalecendo a relevância translacional desses modelos para a psicopatologia humana (Battivelli et al., 2024).

No campo experimental, grande parte dos estudos que investigam os mecanismos etiológicos subjacentes aos transtornos de ansiedade foi conduzida utilizando modelos animais (Gomes & Fernandez, 2012). Testes como o condicionamento ao medo contextual, o labirinto em cruz elevado e o paradigma residente-intruso são amplamente empregados para explorar diferentes dimensões da defesa (Gomes & Landeira-Fernandez, 2012; Miczek et al., 2001). O choque nas pastas, em particular, tem desempenhado papel histórico ao induzir tanto congelamento condicionado quanto comportamentos de luta defensiva, como descrito por O'Kelly & Steckle (1939) e Ulrich et al. (1962, apud Blanchard et al., 1977). As respostas defensivas desses animais vêm sendo utilizadas, ao longo do tempo, como principal sistema para modelar a ansiedade humana (Gomes & Fernandez, 2012). Nesse contexto, alguns desses comportamentos defensivos parecem constituir análogos — ou até mesmo homólogos — aos comportamentos humanos, como evitação ou congelamento (Bradley & Lang, 2000), sendo especialmente relevantes para a compreensão de psicopatologias como o transtorno de ansiedade generalizada (TAG) e o transtorno do pânico (TP), relacionados a mecanismos de defesa (Blanchard et al., 2001).

Blanchard e colaboradores (1986) deram uma contribuição fundamental ao estudo do comportamento defensivo ao realizarem investigações sistemáticas sobre as estratégias adotadas por ratos selvagens diante de diferentes tipos de ameaças predatórias. Esses estudos levaram ao desenvolvimento do modelo dos três níveis de perigo, que distingue ameaça potencial (incerta), ameaça distal e ameaça proximal, cada uma evocando respostas defensivas distintas (Brandão et al., 2008; Blanchard et al., 2001). Por exemplo, diante de uma ameaça incerta, como a exposição a um ambiente novo, os ratos realizam explorações cautelosas para avaliar o risco. Quando um predador é percebido à distância, ocorre um estado de imobilidade tensa e vigilante (congelamento). Por fim, diante de uma ameaça

iminente, quando o predador está próximo ou em contato direto, o animal pode fugir, exibir comportamentos de intimidação ou até mesmo atacar defensivamente. Estudos comparativos indicam que estratégias defensivas semelhantes podem ser observadas em outras espécies, incluindo organismos não mamíferos, sugerindo uma base evolutiva conservada para esses comportamentos (Blanchard et al., 2001; Volchan et al., 2017).

Um fator central para o aumento dos esforços de pesquisa direcionados aos comportamentos defensivos é seu potencial papel em psicopatologias humanas, como transtorno de estresse pós-traumático (TEPT), TAG e TP (Tyrer & Baldwin, 2006; Bandelow & Michaelis, 2015; Blanchard et al., 2001). Dentre esses transtornos, estudos sugerem que o transtorno de ansiedade generalizada pode estar particularmente associado a alterações nos sistemas envolvidos na avaliação de risco e nas respostas defensivas a ameaças e ataques (Blanchard et al., 2001). Além disso, investigações translacionais têm demonstrado que os circuitos neurais ativados em roedores durante comportamentos defensivos (como amígdala, hipotálamo e substância cinzenta periaquedatal) são semelhantes aos ativados em humanos expostos a estímulos ameaçadores, fortalecendo a validade desses modelos para o estudo de psicopatologias (Melleu & Canteras, 2025; Blanchard et al., 2001).

No campo da neurociência comportamental, os estudos sobre defesa ganharam relevância não apenas por sua importância biológica, mas também por sua aplicabilidade translacional. Transtornos de ansiedade em humanos, como fobias, TEPT e TAG, são frequentemente caracterizados por alterações no processamento de ameaça e na regulação das respostas defensivas (Tyrer & Baldwin, 2006; Bandelow & Michaelis, 2015; Blanchard et al., 2001; Mobbs et al., 2020). Assim, investigar como animais respondem a diferentes tipos de ameaça permite identificar paralelos entre mecanismos básicos de defesa e os sintomas observados em condições clínicas.

1.2 Importância do estudo da proximidade da ameaça e dos repertórios defensivos

Como dito anteriormente, um aspecto fundamental para compreender os comportamentos defensivos está relacionado à proximidade da ameaça, isto é, o grau em que o estímulo aversivo é percebido como potencial, distal ou proximal (Blanchard & Blanchard, 1989; Fanselow & Lester, 1988). Estudos etológicos e laboratoriais demonstram que a distância do perigo molda de forma sistemática o tipo de resposta emitida (Blanchard & Blanchard, 1989). Quando a ameaça é incerta ou distante, predominam respostas de congelamento e comportamentos de avaliação de risco, que permitem ao animal coletar informações sobre o ambiente antes de agir (Blanchard et al., 2001). Já diante de ameaças proximais ou inevitáveis, o repertório defensivo tende a incluir estratégias ativas, como luta, fuga ou respostas de confronto direto, que visam preservar a integridade física imediata.

No nível de ameaça potencial, quando o perigo é apenas incerto ou ambíguo, predominam comportamentos de exploração cautelosa, como *rearing* e aproximações interrompidas, os quais permitem ao animal coletar informações do ambiente sem se expor completamente (Blanchard et al., 2001). Essa fase possui papel essencial na tomada de decisão, pois prepara o organismo para selecionar respostas subsequentes caso o risco se concretize (Mobbs & Kim, 2015; Melleu & Canteras, 2025). Em humanos, padrões semelhantes podem ser observados em estados de hipervigilância e preocupação excessiva, frequentemente descritos como marcadores clínicos do transtorno de ansiedade generalizada (Tyrer & Baldwin, 2006; Bandelow & Michaelis, 2015)

Quando a ameaça se torna distal, isto é, identificada, mas ainda não iminente, a resposta predominante é o congelamento (Blanchard et al., 2001; Volchan et al., 2017). Esse estado de congelamento reduz a probabilidade de detecção por predadores e, ao mesmo tempo, aumenta a vigilância sensorial, permitindo ao animal processar melhor informações ambientais (Fanselow, 1980; Brandão et al., 2008). O congelamento é amplamente considerado uma resposta conservada filogeneticamente, com paralelos claros em primatas e humanos, nos quais a imobilidade diante de risco iminente pode refletir tanto um mecanismo

adaptativo quanto um correlato de sintomas ansiosos e do transtorno de estresse pós-traumático (Volchan et al., 2017).

À medida que a ameaça avança para um nível proximal — quando o predador se aproxima ou há contato direto — o repertório defensivo muda drasticamente, favorecendo respostas ativas como fuga, luta defensiva ou exibição de posturas de intimidação (Blanchard et al., 2001; Ulrich & Azrin, 1962). Essas reações, altamente dependentes de circuitos como a substância cinzenta periaquedatal dorsal (PAGd) e o hipotálamo ventromedial, estão diretamente relacionadas à autopreservação e são mais frequentemente evocadas em contextos inescapáveis (Canteras, 2002; Brandão et al., 2008). Em humanos, comportamentos análogos são observados em ataques de pânico, caracterizados por explosões abruptas de respostas motoras defensivas (Gorman et al., 2000; Volchan et al., 2017).

Esse arranjo hierárquico das respostas defensivas, que articula a distância da ameaça com o tipo de comportamento emitido, é um dos principais pilares do modelo dos três níveis de defesa desenvolvido por Blanchard e colaboradores (2001). Ao integrar o conceito de gradiente de ameaça, esse modelo oferece um referencial teórico valioso para compreender como animais e humanos modulam suas estratégias defensivas de acordo com a situação. Tal organização dinâmica também é coerente com propostas contemporâneas da neuropsicologia da defesa, que associam dimensões psicológicas — como direção (aproximação ou evitação) e distância defensiva — a circuitos neurais distribuídos do córtex pré-frontal até estruturas do tronco encefálico (McNaughton & Corr, 2004).

A relevância translacional desse conhecimento é evidente. Diferentes transtornos de ansiedade podem ser compreendidos a partir de falhas na modulação dos repertórios defensivos ao longo do gradiente de ameaça (McNaughton & Corr, 2004; Blanchard et al., 2001). O transtorno de ansiedade generalizada, por exemplo, pode estar associado à hiperativação de circuitos relacionados à avaliação de risco e à ameaça potencial, enquanto o transtorno de estresse pós-traumático envolve déficits na regulação do congelamento em contextos distais. Já o transtorno do pânico pode ser entendido como uma ativação exacerbada de respostas proximais, evocando reações abruptas de luta ou fuga mesmo na ausência de perigo real (Gorman et al., 2000; Mobbs et al., 2020). Assim,

investigar a relação entre proximidade da ameaça e repertórios defensivos em modelos animais não apenas aprofunda a compreensão dos mecanismos adaptativos, mas também permite identificar paralelos críticos com psicopatologias humanas.

Além da importância de compreender a proximidade da ameaça, é fundamental definir conceitualmente os principais comportamentos defensivos avaliados em modelos animais, uma vez que eles constituem marcadores etológicos e translacionais de ansiedade (Ulrich et al., 1962; Blanchard et al., 1977). O congelamento é considerado a resposta defensiva mais clássica a estímulos ameaçadores distais ou condicionados. Trata-se de um estado de imobilidade total, exceto pela respiração, caracterizado por aumento do tônus muscular e atenção direcionada ao ambiente. Essa resposta reflete a supressão de movimentos voluntários, aumentando a chance de evitar a detecção pelo predador (Blanchard & Blanchard, 1969; Fanselow, 1980; Fendt & Fanselow, 1999). A luta defensiva, por sua vez, engloba comportamentos ativos frente a ameaças proximais. Dentro dele, destacam-se duas formas principais: o *boxing*, definido por posturas eretas com o uso das patas anteriores em empurrões ou golpes, e a luta, que envolve confrontos mais intensos, como chutes com as patas traseiras e imobilizações físicas do coespecífico (Blanchard et al., 1977; Miczek et al., 2001). Importa diferenciar esses padrões da agressividade ofensiva, pois aqui se trata de respostas defensivas, evocadas em contextos de perigo iminente. Por fim, a atividade geral compreende padrões de movimentação espontânea, exploração e interações sociais neutras, não necessariamente associadas a respostas de defesa. Essa medida é utilizada para avaliar níveis basais de atividade motora e distinguir alterações comportamentais específicas da ansiedade de mudanças mais amplas em vigor ou impulsividade locomotora (Blanchard & Blanchard, 1989; Brandão et al., 2008).

A definição conceitual desses comportamentos é fundamental para a análise experimental, pois permite diferenciar padrões específicos de defesa e compreender sua relação com circuitos neurais distintos. A literatura mostra que o congelamento está associado à ativação da amígdala e da substância cinzenta periaquedatal ventral, enquanto respostas ativas, como luta defensiva, envolvem circuitos adicionais, como a substância cinzenta periaquedatal dorsal e regiões hipotalâmicas (Brandão et al., 2008; Canteras, 2002; Wang et al., 2023). Essa diferenciação

reforça a importância de considerar múltiplos níveis de ameaça e repertórios de defesa na construção de modelos animais de ansiedade.

1.3 Estratégias de enfrentamento: *coping* passivo versus *coping* ativo

O conceito de *coping* surgiu na literatura psicológica para descrever os esforços cognitivos e comportamentais realizados pelos indivíduos para lidar com situações estressoras (Lazarus & Folkman, 1984). No campo da neurociência comportamental, entretanto, o termo foi adaptado para caracterizar estilos de resposta consistentes e relativamente estáveis diante de situações de ameaça, com foco em modelos animais (Koolhaas et al., 1999). De modo geral, distinguem-se dois padrões principais: *coping* passivo e *coping* ativo. Esses estilos de enfrentamento não representam apenas diferentes intensidades de resposta, mas estratégias alternativas e funcionalmente relevantes, moldadas pela seleção natural e com implicações para a vulnerabilidade a psicopatologias (Benus et al., 1991; Henry, 1992).

O *coping* ativo é caracterizado por respostas de enfrentamento direto ou manipulação da situação de estresse. Esse estilo envolve comportamentos como luta defensiva, fuga, exploração aumentada e condutas agressivas ou territoriais. Do ponto de vista fisiológico, está frequentemente associado a menor ativação do eixo HPA (hipotálamo–pituitária–adrenal) e a maior envolvimento de sistemas dopaminérgicos relacionados ao controle motor e à motivação, sugerindo um perfil de maior resistência ao estresse crônico (Koolhaas et al., 2010; Lages et al., 2021). Por outro lado, o *coping* passivo caracteriza-se por comportamentos de inibição, imobilidade e retraimento, como o congelamento em roedores, acompanhados por forte ativação do eixo HPA e maior liberação de glicocorticoides (Koolhaas et al., 1999; Brandão et al., 2008). Animais com esse perfil tendem a ser mais sensíveis ao ambiente e mais adaptativos em condições variáveis ou imprevisíveis, uma vez que sua estratégia não depende de rotinas fixas, mas de avaliação contínua dos estímulos externos. Essa flexibilidade, entretanto, pode vir acompanhada de maior vulnerabilidade a efeitos deletérios do estresse prolongado, como observado em modelos de ansiedade e depressão (Koolhaas et al., 2010; Benus et al., 1991).

Estudos comparativos mostram que esses dois estilos de *coping* representam estratégias alternativas, porém equivalentes, do ponto de vista evolutivo. Em condições naturais, indivíduos proativos podem se beneficiar em ambientes estáveis, garantindo vantagens na defesa de território e no acesso a recursos. Indivíduos reativos, por sua vez, tendem a ter maior sucesso em ambientes dinâmicos e imprevisíveis, como situações de migração ou reorganização social (Benus et al., 1991; Koolhaas et al., 1999; Øverli et al., 2007;). Assim, ambos os estilos podem ser considerados mecanismos complementares de adaptação, refletindo a diversidade comportamental dentro das populações.

No contexto translacional, essa dicotomia entre *coping* passivo e ativo apresenta paralelismo com diferenças individuais observadas em humanos. Estudos em pacientes sugerem que a dificuldade em transitar entre estilos de enfrentamento (isto é, a rigidez comportamental) pode estar associada a maior risco de desenvolver transtornos de ansiedade ou transtornos depressivos (Cruz et al., 2024; Mobbs et al., 2020; Peçanha et al., 2024; Peçanha et al., 2025). Dessa forma, modelos animais como as linhagens Carioca oferecem uma oportunidade para estudar as bases neurobiológicas dessa variabilidade, já que CAC e CBC apresentam perfis divergentes de *coping* que podem ser comparados experimentalmente (Gomes & Landeira-Fernandez, 2011; Macêdo-Souza et al., 2020; Cruz et al., 2024).

1.4 Fundamentos neurobiológicos dos comportamentos defensivos

Os circuitos neurais subjacentes aos comportamentos defensivos ainda não estão completamente elucidados (Chen et al., 2020). Evidências indicam que múltiplas regiões cerebrais participam da modulação dessas respostas, incluindo o hipotálamo ventromedial (Wang & Lin, 2015), o núcleo Paraventricular do hipotálamo (PVN) (Daviu et al., 2020), a Habenula lateral (LHb) (Pobbe & Zangrossi, 2010) e a substância cinzenta periaquedatal (PAG) (Wang et al., 2019).

Embora o conhecimento sobre o substrato neural dos comportamentos de proteção ainda seja recente, busca-se relacionar níveis de defesa a conjuntos específicos de estruturas cerebrais. Para a compreensão do medo condicionado e

incondicionado, têm sido propostos, respectivamente, o sistema septo-hipocampal e o sistema cerebral de defesa (Brandão et al., 2008). Gray (1978) relata que o sistema septo-hipocampal contribui para o componente cognitivo, enquanto a amígdala (vinculada principalmente ao sistema cerebral de defesa) confere um caráter afetivo aos estímulos ameaçadores distais. Por essa razão, o sistema septo-hipocampal e a amígdala são estruturas importantes para a análise de risco e para o congelamento como mecanismo de defesa, em resposta a ameaças potenciais inatas e a estímulos condicionados (Brandão et al., 2008; Gray & McNaughton, 2000; McNaughton & Corr, 2004). Como exposto por Brandão et al. (2008) na Figura 1, tanto estímulos de medo inato quanto condicionado ativam o sistema septo-hipocampal (linhas pontilhadas) e a amígdala (linhas contínuas); assim, essas estruturas podem ser relacionadas a diferentes comportamentos defensivos (Gray & McNaughton, 2000; McNaughton & Corr, 2004).

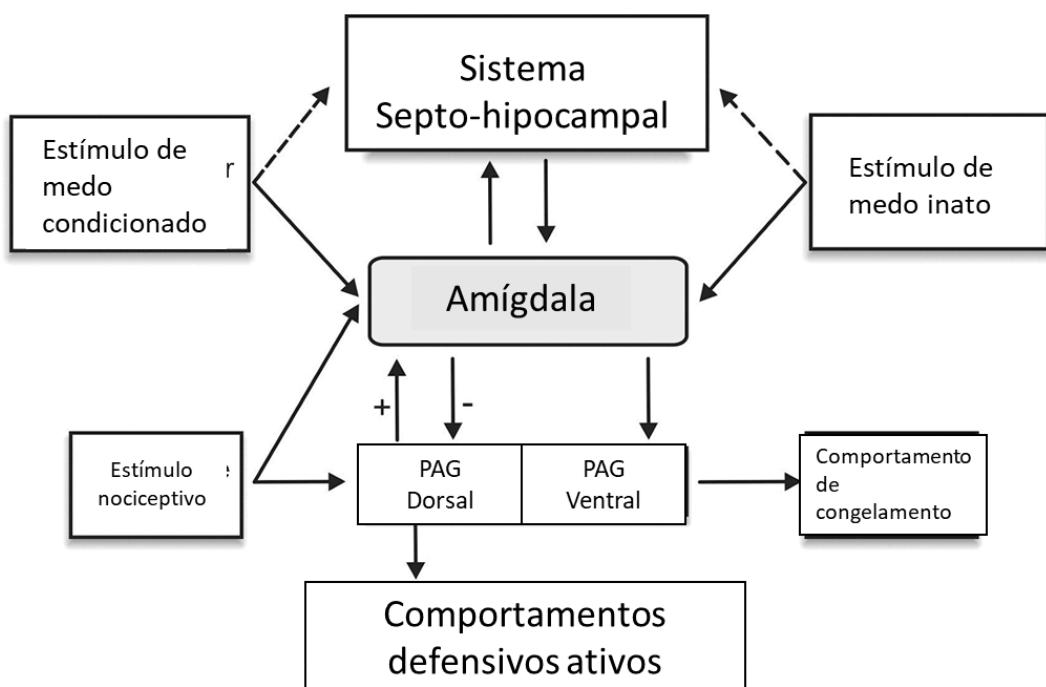


Figura. 1. A ativação de substratos neurais varia conforme a natureza dos estímulos ameaçadores. Estímulos de perigo condicionados (potenciais ou distais) tendem a provocar congelamento condicionado por meio da ativação do sistema de inibição comportamental (sistema septo-hipocampal) Gray & McNaughton, 2000; Brandão et al., 2008; McNaughton & Corr, 2004). Já estímulos de perigo inatos (proximais ou nociceptivos) evocam formas ativas de comportamento defensivo por meio da ativação do eixo amígdala–PAG dorsal (PAGd) (Brandão et al., 2008; Canteras, 2002; Wang et al., 2023). A ativação do circuito PAGd–amígdala por estímulos

nociceptivos também pode recrutar mecanismos inibitórios via projeções amígdala–PAGd, o que pode estar na base da analgesia induzida pelo medo e da proposta de que a ansiedade inibe o pânico (Brandão et al., 2008; Fanselow & Bolles, 1979; Fendt & Fanselow, 1999). (Figura baseada em Brandão et al., 2008, p. 4).

Estímulos nociceptivos também estão associados a um padrão de comportamento defensivo que envolve respostas ativas, como reações de luta e fuga, diante de situações de perigo. A PAG dorsal (PAGd) tem sido descrita como a principal estrutura encarregada da organização desses comportamentos defensivos, pois recebe amplas projeções de vias neurais relacionadas ao processamento da dor (Brandão et al., 2008; Bittencourt et al., 2005; Canteras, 2002). As projeções da amígdala para a PAGd estão envolvidas nas reações defensivas, uma vez que estímulos condicionados previamente associados à estimulação nociceptiva podem ativar a amígdala e, desse modo, evocar congelamento defensivo (Brandão et al., 2008; Bittencourt et al., 2005; Tovote et al., 2016). Brandão (2008) ressalta, ainda, que a amígdala e a PAGd podem atuar com efeitos opostos: a ativação da PAGd por estimulação nociceptiva pode recrutar a amígdala e favorecer o condicionamento ao medo, ao passo que a ativação da amígdala por estímulos de perigo inatos ou condicionados pode suprimir respostas de defesa típicas da PAGd (Brandão et al., 2008; Tovote et al., 2016; Wang et al., 2023).

O córtex pré-frontal medial (mPFC) exerce papel crucial na modulação *top-down* das respostas defensivas. Evidências indicam que o infralímbico está associado à extinção do medo e ao controle inibitório sobre a amígdala, enquanto o pré-límbico se relaciona mais à manutenção de respostas condicionadas (Quirk & Beer, 2006; Milad & Quirk, 2002; Likhtik et al., 2005). Essa diferenciação funcional é relevante para compreender como déficits no PFC podem contribuir para a persistência de respostas defensivas inadequadas em transtornos como TAG e TEPT (Mobbs et al., 2020 Milad et al., 2009; Shin & Liberzon, 2010). Assim, o PFC atua como modulador da flexibilidade comportamental, equilibrando a expressão ou a inibição de estratégias defensivas conforme o contexto.

No tronco encefálico, núcleos como o parabraquial exercem papel fundamental na integração entre sinais nociceptivos e respostas autonômicas, conectando-se tanto ao hipotálamo quanto à PAG (Wang et al., 2023; Chiang et al., 2020; Palmiter, 2018). Essas conexões sustentam respostas somáticas e

autonômicas associadas à defesa, como aumento da frequência cardíaca, sudorese e hipervigilância, indicando que os comportamentos defensivos não se restringem ao plano motor, mas envolvem ajustes fisiológicos que preparam o organismo para lidar com perigo iminente (Melleu & Canteras, 2025; Tovote et al., 2016; Ulrich-Lai & Herman, 2009).

A integração desses circuitos oferece um modelo explicativo para os transtornos de ansiedade. Em humanos, evidências apontam hiperatividade da amígdala, hipoatividade do PFC e disfunções no eixo HPA como correlatos da ansiedade patológica (Gorman et al., 2000). O estudo das linhagens Carioca, portanto, fornece um modelo experimental para investigar como a interação entre essas estruturas molda a expressão de estratégias defensivas. Alterações na flexibilidade entre congelamento e luta/fuga observadas em roedores podem oferecer paralelos para compreender déficits na transição entre respostas defensivas frequentemente descritas em pacientes ansiosos (Cruz et al., 2024).

1.5 Modelo dos três níveis de defesa e gradiente de distância da ameaça

O estudo dos comportamentos defensivos em animais levou ao desenvolvimento de modelos teóricos que descrevem como essas respostas variam em função da distância percebida da ameaça. Entre os mais influentes está o modelo dos três níveis de defesa, proposto por Blanchard e Blanchard (1989, 2001), que organiza os repertórios defensivos em um gradiente composto por três estágios principais: ameaça potencial, ameaça distal e ameaça proximal. Essa formulação tem sido fundamental não apenas para a compreensão do comportamento em roedores, mas também para interpretações translacionais em humanos, contribuindo para o entendimento de transtornos como o transtorno de ansiedade generalizada (TAG), fobias específicas e o transtorno do pânico (Blanchard et al., 2001; Volchan et al., 2017).

A ameaça potencial corresponde a situações de incerteza sobre a presença de perigo. Nesses casos, predominam comportamentos de avaliação de risco (*risk*

assessment), como exploração cautelosa, posturas alongadas e cheirar o ambiente em busca de pistas ameaçadoras. Esses comportamentos são mediados principalmente pelo sistema septo-hipocampal, responsável pela inibição comportamental e pela análise do contexto ambiental, e refletem o componente cognitivo da ansiedade antecipatória (Gray & McNaughton, 2000; Brandão et al., 2008). Esse estágio tem sido frequentemente associado a manifestações clínicas do TAG, em que indivíduos apresentam hiper avaliação de riscos potenciais e dificuldade em lidar com incertezas (Cruz et al., 2024).

A ameaça distal ocorre quando o predador ou estímulo nocivo é detectado à distância. Nessa condição, a resposta predominante é o congelamento. Logo, esse comportamento reduz a probabilidade de detecção pelo predador e permite ao organismo preparar-se para estratégias subsequentes. Esse comportamento é organizado pelo eixo amigdala central – substância cinzenta periaquedatal ventral (vPAG) e tem sido extensivamente validado como marcador de medo condicionado em roedores (Fanselow, 1980; Fendt & Fanselow, 1999). Em humanos, o congelamento também pode ser observado em situações de exposição a traumas, e em contextos de ameaça extrema (Roelofs, 2017).

Já a ameaça proximal refere-se a situações em que o perigo é iminente e inescapável, como o contato direto com um predador ou a aplicação de choque nas patas em paradigmas experimentais de confronto. Nesse nível, emergem comportamentos ativos de luta ou fuga, organizados principalmente pela substância cinzenta periaquedatal dorsal (dPAG), pelo hipotálamo ventromedial e por conexões com núcleos troncais, como o núcleo parabraquial (Brandão et al., 2008; Wang et al., 2023). Essas respostas são análogas ao pânico em humanos, caracterizadas por alta urgência defensiva e pela priorização da autopreservação imediata (Blanchard et al., 2001; Tovote et al., 2016).

O modelo dos três níveis de defesa mostra que as respostas defensivas não são fixas, mas contextualmente moduladas. A transição entre congelamento e luta defensiva depende da natureza e da proximidade do estímulo ameaçador (Blanchard et al., 1977; Fanselow & Bolles, 1979). Essa perspectiva é particularmente relevante para o presente estudo, que avaliou como as linhagens Carioca (CAC e CBC) e o grupo controle (CTR) modulam congelamento, luta defensiva (*boxing* e luta) e atividade geral em um contexto de ameaça proximal

induzida por choque nas patas. Nesse sentido, observar a expressão de comportamentos distintos em diferentes níveis de ameaça fornece um panorama mais amplo da flexibilidade defensiva dessas linhagens.

Do ponto de vista translacional, a distinção entre ameaça potencial, distal e proximal tem implicações significativas para a psicopatologia. Enquanto a ansiedade generalizada pode estar relacionada principalmente a ameaças potenciais, fobias específicas se conectam a ameaças distais e o pânico a ameaças proximais e inescapáveis (Blanchard et al., 2001; McNaughton & Corr, 2004). Compreender como os animais transitam entre esses níveis permite investigar os mecanismos de regulação e disfunção das respostas defensivas, fornecendo insights para modelos experimentais e clínicos.

1.6 Estilos de *coping* e reatividade ao estresse (Perfis passivos de *coping*, Perfis ativos de *coping*)

O conceito de estilos de *coping* em animais emergiu como uma estrutura explicativa central para entender como indivíduos distintos lidam com situações de estresse e ameaça. Esses estilos não são apenas reações momentâneas, mas padrões consistentes de resposta, com bases neurobiológicas e genéticas que afetam tanto a adaptabilidade em diferentes contextos ambientais quanto a vulnerabilidade a psicopatologias humanas (Koolhaas et al., 1999; Koolhaas et al., 2010).

Tradicionalmente, distinguem-se dois grandes estilos: *coping* pró ativo e *coping* reativo. O *coping* pró ativo é caracterizado por respostas ativas, antecipatórias e rotineiras, envolvendo exploração, territorialidade, agressividade e estratégias de evitação ativa diante de ameaças controláveis. Já o *coping* reativo corresponde a respostas passivas - como imobilidade, congelamento, inibição comportamental e retraimento social - mais dependentes de estímulos externos imediatos e associadas a maior flexibilidade adaptativa em ambientes imprevisíveis (Koolhaas et al., 1999; Koolhaas et al., 2010).

Em roedores, evidências indicam que diferenças individuais na agressividade refletem estratégias alternativas de *coping*, herdáveis e adaptativas (Benus et al., 1991). Indivíduos agressivos tendem a respostas ativas: em contextos sociais, recorrem à fuga ou à luta frente à derrota; em contextos não sociais, exibem

evitação ativa de estímulos controláveis e mantêm a atividade mesmo sob condições incontroláveis. Já indivíduos não agressivos tendem a adotar estratégias passivas, caracterizadas por imobilidade e retraimento. Um aspecto central é que animais proativos desenvolvem rotinas mais rígidas e intrinsecamente orientadas, respondendo menos a pequenas mudanças ambientais, enquanto animais reativos são extremamente guiados e mais sensíveis a estímulos contextuais. Embora ambos os estilos possam ser bem-sucedidos, sua eficácia depende da estabilidade do ambiente: o *coping* pró ativo é mais vantajoso em condições previsíveis e estáveis, ao passo que o *coping* reativo se mostra superior em contextos instáveis e imprevisíveis (Benus et al., 1991; Koolhaas et al., 2010).

Do ponto de vista neurobiológico, diferenças em *coping* refletem padrões distintos de ativação de circuitos. O *coping* pró-ativo tem sido associado a maior engajamento de circuitos dopaminérgicos mesolímbicos e do sistema de recompensa, conferindo rigidez e tendência a rotinas. Em contrapartida, o *coping* reativo envolve maior ativação do eixo HPA (hipotálamo–pituitária–adrenal) e de estruturas como a amígdala e o hipocampo, refletindo uma estratégia mais sensível ao ambiente e modulada por *feedback* negativo do estresse (Koolhaas et al., 2010; Dalley, Everitt & Robbins, 2011). Essa diferenciação sugere que, embora ambos os estilos sejam adaptativos, também podem representar fatores de vulnerabilidade para psicopatologias, como depressão maior e transtornos de ansiedade (Koolhaas et al., 1999; Carver et al., 1989; Feder et al., 2009).

Estudos recentes em neurociência comportamental ampliam esse quadro, indicando que os estilos de *coping* não são dicotômicos, mas dimensões contínuas moduladas por fatores genéticos, ambientais e do desenvolvimento (Mobbs et al., 2020; Grissom & Bhatnagar, 2009; Franklin et al., 2012). Além disso, evidências em humanos e animais sugerem que déficits na flexibilidade para alternar entre respostas proativas e reativas podem estar associados a maior risco de psicopatologias relacionadas ao estresse (Hashemi et al., 2019; Cruz et al., 2024). Assim, investigar essas diferenças em modelos animais, como as linhagens Carioca, oferece uma oportunidade translacional para compreender os mecanismos que sustentam tanto a resiliência quanto a vulnerabilidade frente ao estresse.

1.7 O papel da seleção genética na modelagem do comportamento defensivo: Linhagens dos ratos Cariocas

O DSM-5-TR (2023), aponta que:

"Os transtornos de ansiedade incluem transtornos que compartilham características de medo e ansiedade excessivos e perturbações comportamentais relacionadas. *Medo* é a resposta emocional à ameaça iminente real ou percebida, enquanto *ansiedade* é a antecipação de ameaça futura. Obviamente, esses dois estados se sobrepõem, mas também se diferenciam, com o medo sendo com mais frequência associado a períodos de excitabilidade autonômica aumentada, necessária para a luta ou fuga, pensamentos de perigo imediato e comportamentos de fuga, e a ansiedade sendo mais frequente associada a tensão muscular e vigilância em preparação para perigo futuro e comportamento de cautela ou esquiva. Às vezes, o nível de medo ou ansiedade é reduzido por comportamentos constantes de esquiva."

No meio experimental, grande parte dos estudos que investigam os mecanismos etiológicos subjacentes aos transtornos de ansiedade foi realizada utilizando modelos animais. Suas respostas defensivas vêm sendo, ao longo do tempo, empregadas como principal sistema para modelar a ansiedade humana (Gomes & Fernandez, 2012). Cita-se o modelo desenvolvido por Bolles e Fanselow (1980, 1982), que propuseram um esquema de comportamento defensivo no contexto tradicional do paradigma de condicionamento do medo. Assim, quando um rato é colocado em um novo contexto e, em seguida, recebe choques elétricos nas patas, exibe comportamentos como saltos, vocalizações e tentativas de fuga. Após o choque, esses padrões são gradativamente substituídos por um período de congelamento (Bolles & Collier, 1976). Estudos indicam que o congelamento condicionado é uma resposta hereditária elevada que pode ser selecionada rapidamente (Radcliffe et al., 2000). O'Kelly e Steckle (1939, apud Blanchard et al., 1977) descreveram os efeitos comportamentais do choque nas patas aplicado a pares de ratos em pequenos contextos. Posteriormente, Ulrich e colaboradores (1962, apud Blanchard et al., 1977) acrescentaram novas características, classificando os comportamentos como a agressão provocada pelo choque, (do inglês, *shock-elicited aggression*) ou luta reflexiva (do inglês, *reflexive fighting*). Blanchard (1977), ao analisar padrões de comportamento de animais de colônia dominantes e intrusos introduzidos nas colônias, observou que os comportamentos

agonísticos de ratos domesticados podem ser divididos em agressivos e defensivos. Em suas observações, sugeriu que, na luta reflexiva, os comportamentos mais frequentes são *boxing*, congelamento e deitado de costas (do inglês, *lying-on-the-back*), característicos dos intrusos e não dos machos dominantes (Blanchard et al., 1977). Esses achados indicam que os comportamentos apresentados na luta reflexiva ou agressão provocada pelo choque são defensivos não agressivos (Blanchard et al., 1977).

Modelo pode ser definido como aquilo que se busca representar ou imitar (Ávila & Silva, 2016). Nessa perspectiva, modelos animais devem compartilhar características relevantes com a espécie de comparação, em geral a humana, permitindo ampla manipulação experimental, sem as limitações éticas, legais e econômicas associadas à espécie-alvo (Fagundes & Taha, 2004). Dessa forma, modelos animais são cruciais para dissecar mecanismos fisiopatológicos e projetar terapias mais eficazes (Brandão et al., 2008; Kumar, 2013).

Considerando que o congelamento condicionado é uma resposta hereditária passível de seleção rápida (Radcliffe et al., 2000), Gomes e Landeira-Fernandez deram, em 2006, o passo efetivo para a criação de um modelo genético de aprendizado do medo; os trabalhos foram posteriormente descritos em publicações de 2012 e 2013 (Gomes & Landeira-Fernandez, 2012; Gomes et al., 2013). O congelamento condicionado a pistas contextuais previamente associadas a choques nas patas foi utilizado como critério fenotípico para o desenvolvimento de uma linhagem de ratos denominada “Carioca” (Gomes & Landeira-Fernandez, 2012; Gomes et al., 2013). Gomes e Landeira-Fernandez (2012) utilizaram a técnica de criação seletiva bidirecional de uma resposta defensiva (ou outra característica fenotípica), na qual os animais são cruzados para modificar a frequência dos genes subjacentes a um fenótipo específico. Assim, o acasalamento de animais posicionados nos extremos opostos de uma característica observável propaga, ao longo das gerações, esse fenótipo em direções opostas, tornando possível a criação de duas linhagens contrastantes (Gomes & Landeira-Fernandez, 2012).

No protocolo utilizado, o congelamento condicionado em resposta a estímulos do contexto associados previamente a choques elétricos nas patas foi o critério de seleção para a criação das duas linhagens opostas (Gomes & Landeira-Fernandez, 2012; Landeira-Fernandez, 1996; Landeira-Fernandez & Kim,

1995). O procedimento consistiu no acasalamento de machos e fêmeas Wistar que apresentaram as maiores e as menores taxas de congelamento condicionado ao contexto da caixa, à qual, no dia anterior, haviam sido aplicados três choques não sinalizados (Gomes & Landeira-Fernandez, 2012; Landeira-Fernandez, 1996; Landeira-Fernandez & Kim, 1995). Os estudos demonstraram diferenças significativas entre as duas linhagens após três gerações, indicando forte componente hereditário na aprendizagem do medo (Gomes & Landeira-Fernandez, 2012; Cruz et al., 2024). As linhagens foram denominadas Cariocas com Alto Congelamento (CAC) e Cariocas com Baixo Congelamento (CBC), além de um terceiro grupo (CTR), composto por animais selecionados aleatoriamente (Gomes & Landeira-Fernandez, 2012; Gomes et al., 2013; Cruz et al., 2024).

1.8 Relevância translacional das linhagens Carioca para o estudo de transtornos de ansiedade

A utilização de modelos animais constitui uma estratégia fundamental para compreender os mecanismos subjacentes aos transtornos de ansiedade, permitindo dissecar circuitos neurais, processos cognitivos e fatores hereditários em condições controladas. Para que sejam úteis, tais modelos precisam apresentar validade translacional, isto é, reproduzir de maneira comparável os fenótipos observados em humanos em três dimensões principais: validade de face (semelhança fenotípica nos comportamentos exibidos), validade preditiva (respostas semelhantes ao tratamento farmacológico utilizado em humanos) e validade de construto (mecanismos neurobiológicos homólogos entre espécies; (Willner, 1984; Belzung & Lemoine, 2011).

As linhagens Carioca, desenvolvidas a partir da seleção bidirecional do congelamento condicionado, atendem a esses critérios de forma promissora. Em termos de validade de face, a linhagem CAC exibe níveis elevados e persistentes de congelamento em tarefas de medo contextual, comportamento análogo observada em humanos expostos a situações de ameaça ou a traços de ansiedade crônica (Gomes & Landeira-Fernandez, 2012). Em contrapartida, os animais da linhagem CBC apresentam menor expressão de congelamento, associada a maior atividade locomotora, sugerindo um perfil de enfrentamento mais ativo, porém menos estruturado, frente a situações ameaçadoras (Macêdo-Souza et al., 2020). Já os

animais do grupo controle (CTR) tendem a maior variabilidade comportamental, funcionando como referência neutra para comparações experimentais (Brandão et al., 2008; van der Goot et al., 2021).

Quanto à validade de construto, estudos têm mostrado que os circuitos recrutados durante comportamentos defensivos em roedores — incluindo amígdala, hipotálamo ventromedial, substância cinzenta periaquedatal (PAG) e córtex pré-frontal — são homólogos aos ativados em humanos diante de estímulos ameaçadores (Maren, 2001; Brandão et al., 2008; Melleu & Canteras, 2025). Essa sobreposição neurobiológica reforça a aplicabilidade translacional das linhagens Carioca, permitindo inferências relevantes sobre mecanismos de ansiedade em humanos.

Em termos de validade preditiva, estudos farmacológicos com linhagens Carioca mostram respostas compatíveis com os efeitos esperados de ansiolíticos clássicos. Dias et al. (2009), por exemplo, observaram que benzodiazepínicos reduzem a expressão de freezing em animais CAC, de modo semelhante ao observado em pacientes com transtornos de ansiedade, o que fortalece o potencial dessas linhagens como modelos para triagem e validação de novas terapias (Dias et al., 2009; Cavalieri et al., 2020).

Outro ponto central é a associação entre a linhagem CAC e o transtorno de ansiedade generalizada (TAG). Cruz, Castro-Gomes e Landeira-Fernandez (2024) propuseram que os animais CAC constituem um modelo robusto para TAG, uma vez que apresentam resposta defensiva sustentada, hipervigilância e dificuldade de transitar entre estratégias defensivas — características centrais desse transtorno em humanos. Esse achado amplia as perspectivas translacionais das linhagens, permitindo não apenas explorar bases neurobiológicas, mas também compreender falhas nos mecanismos de avaliação de risco e na seleção de respostas adequadas, fenômenos frequentemente descritos em pacientes ansiosos (Gorman et al., 2000; Kirlic et al., 2017; Cryan, 2011).

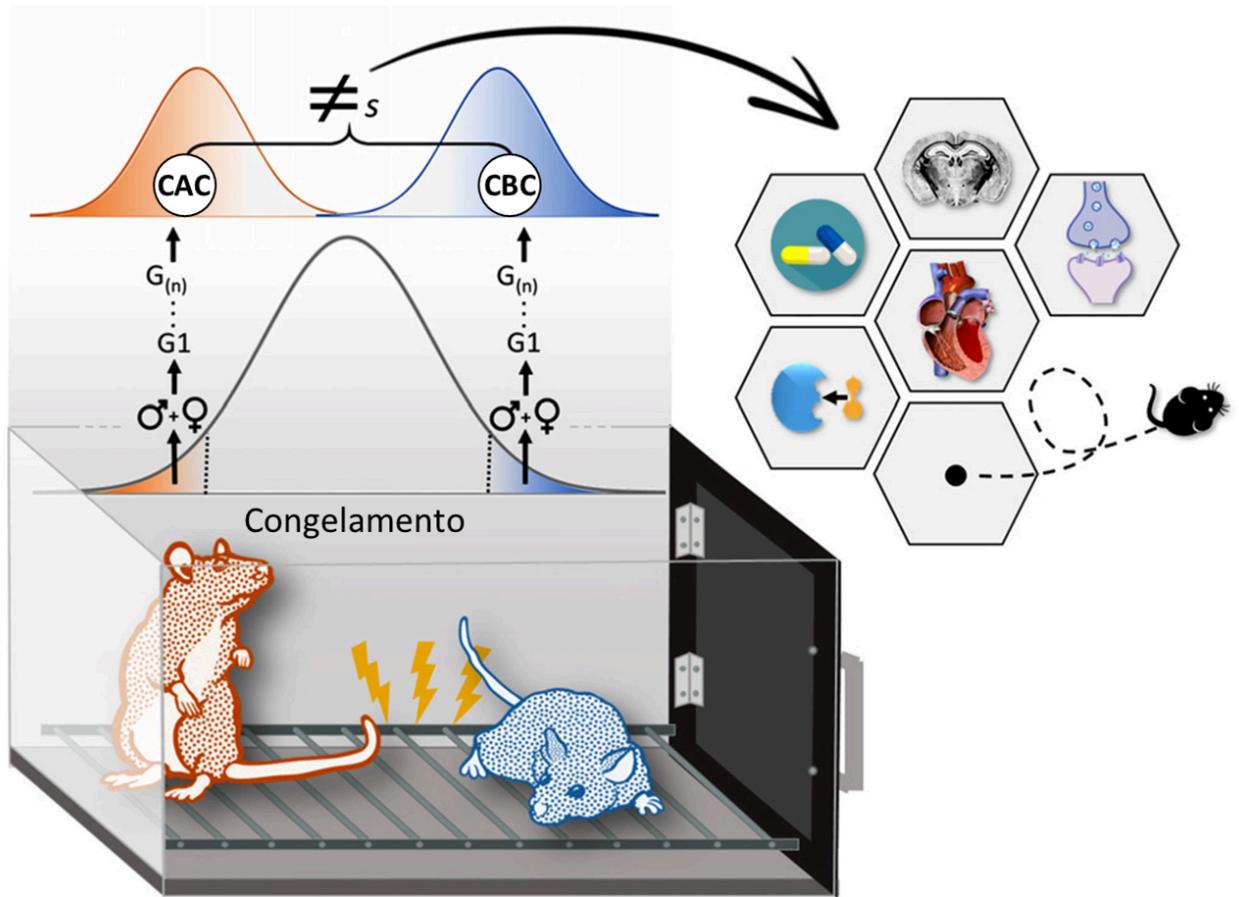


Figura 2: Ilustração representando a caracterização da linhagem de Cariocas com altos e baixos índices de congelamento (Adaptado de Lages et al,2023).

Por fim, ao integrar achados comportamentais, neurobiológicos e farmacológicos, as linhagens Carioca se consolidam como um recurso para a pesquisa translacional em ansiedade (Cruz et al., 2024; Dias et al., 2009; Lages et al., 2021). Sua relevância reside não apenas em reproduzir fenótipos análogos aos observados em humanos, mas também em possibilitar a investigação detalhada dos circuitos neurais envolvidos na defesa, ampliando o entendimento sobre fatores hereditários, situacionais e terapêuticos que modulam a ansiedade (Cruz et al., 2024; Melleu & Canteras, 2025; Lages et al., 2021). Assim, esses modelos representam uma ponte entre a neurociência básica e a clínica, contribuindo para o avanço de estratégias de diagnóstico e intervenção mais precisas (Dias et al., 2009; Gorman et al., 2000; Tyrer & Baldwin, 2006).

2 Objetivos

2.1 Geral

O presente estudo tem como objetivo investigar os padrões comportamentais defensivos sob ameaça proximal em ratos das linhagens CAC, CBC e CTR (controle), com foco especial nas respostas de congelamento, luta defensiva e atividade geral.

2.2 Específicos

- 1) Quantificar e comparar entre as linhagens CAC, CBC e CTR a frequência, duração e latência de início de: (a) congelamento, (b) luta defensiva (*boxing* e luta ativa) e (c) atividade geral, durante a sessão de ameaça proximal.
- 2) Verificar se a seleção baseada no congelamento contextual (alto vs. baixo) prediz a expressão de respostas ativas sob ameaça proximal, verificando diferenças sistemáticas entre CAC, CBC e CTR em luta defensiva e atividade geral.

3 Material e Métodos

3.1 Animais

Foram utilizados 70 ratos adultos da linhagem Carioca (CAC e CBC; 34 machos e 36 fêmeas; 240–300 g) produzidos e mantidos no Laboratório de Neurociências Comportamentais (LANEC) da Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro (PUC-Rio). As linhagens pertenciam à 43^a geração do programa de seleção genética baseado nas respostas de congelamento em tarefa de condicionamento contextual ao medo, que originou as linhagens Carioca com alto (CAC) e baixo (CBC) índice de congelamento. O processo de divergência fenotípica foi consolidado já na terceira geração, conforme descrito por Castro-Gomes & Landeira-Fernandez (2008), permitindo a caracterização estável dos perfis

comportamentais. Adicionalmente, foi empregado um grupo controle (CTR; $n = 24$), composto por ratos Wistar provenientes de populações de reprodução aleatória, pareados quanto à idade, peso e sexo. Esse grupo foi incluído como referência neutra para comparação com os fenótipos extremos.

Os animais foram alojados em grupos de seis, em gaiolas de policarbonato ($31 \times 18 \times 38$ cm), sob temperatura controlada (24 ± 1 °C) e ciclo claro-escuro de 12 h (luzes acesas das 7h às 19h), sendo os experimentos realizados no ciclo claro. Água e ração padrão foram fornecidas *ad libitum*.

Todos os procedimentos seguiram as normas éticas do Comitê de Ética no Uso de Animais da PUC-Rio (protocolo nº 003/2019), bem como as diretrizes da Sociedade Brasileira de Neurociência e Comportamento (SBNeC) e do *NIH Guide for the Care and Use of Laboratory Animals* (National Research Council, 2011)

3.2 Teste de Comportamento Defensivo

O comportamento defensivo foi avaliado por meio de uma versão modificada do paradigma de luta defensiva descrito originalmente por Takahashi e Blanchard (1978). Esse protocolo foi escolhido por sua capacidade de eliciar comportamentos defensivos em um contexto de ameaça proximal e socialmente interativo, permitindo explorar dimensões comportamentais não acessíveis em paradigmas clássicos de ameaça distal, como o condicionamento ao medo. Os animais foram pareados dentro de cada linhagem (ex.: CAC vs. CAC), sempre controlando para peso corporal semelhante e sexo, a fim de reduzir discrepâncias que pudessem enviesar os resultados. Evitou-se ainda que pares fossem formados por animais previamente coabitantes, prevenindo efeitos de dominância social pré-estabelecida.

Uma hora antes do teste, cada animal foi identificado com tinta atóxica preta aplicada no dorso. Durante o experimento, cada par foi colocado em uma câmara acrílica para exploração livre por 3 minutos, seguida pela aplicação do protocolo de choques elétricos (0,6 mA., 0,5 s) em intervalos de 15 segundos. O teste prosseguiu até a observação mínima de cinco episódios de luta e cinco episódios sem luta, sendo a análise concentrada nos 10 primeiros choques, de forma a padronizar a amostra comportamental entre os sujeitos. O comportamento foi filmado com câmera digital posicionada acima da câmara experimental. As câmaras foram higienizadas com solução de amônia a 5% entre as sessões, para eliminar odores

residuais e reduzir possíveis influências de feromônios. O protocolo experimental foi previamente descrito em Silveira et al. (manuscrito submetido, ver Apêndice)

3.3 Aparato

Os testes comportamentais foram realizados em câmaras acrílicas (Bonther®, 33,2 × 27,0 × 41,2 cm), com tampas transparentes e piso de barras metálicas conectado a um gerador de choques calibrados (0,6 mA.; 0,5 s). Os choques foram aplicados automaticamente a cada 15 s, de forma padronizada. As sessões foram registradas por câmeras digitais posicionadas acima das câmaras, possibilitando análise posterior em vídeo.



Figura 3: Câmara de condicionamento Bonther utilizada para a realização do teste de comportamentos defensivos.

3.4 Registro e Análise Comportamental

A análise dos vídeos foi realizada manualmente por um observador previamente treinado, cego quanto à linhagem e ao sexo dos animais. Os comportamentos foram classificados segundo critérios estabelecidos na literatura: **congelamento**, definido como imobilidade completa, exceto pelos movimentos respiratórios (Blanchard & Blanchard, 1969; Fanselow, 1980; Fendt & Fanselow, 1999); **luta defensiva**, definida com duas subcategorias — *boxing*, caracterizado por ataques em posição ereta com movimentos das patas anteriores direcionados ao oponente (Blanchard & Takahashi, 1977), e luta, envolvendo confrontos físicos mais intensos, incluindo imobilizações e perseguições rápidas (Blanchard et al., 1977; Miczek et al., 2001); e **atividade geral**, entendida como locomoção espontânea, exploração do ambiente e interações sociais neutras, utilizada como índice de mobilização comportamental e para excluir déficits motores inespecíficos (Blanchard & Blanchard, 1989). Esse registro contemplou tanto respostas passivas (congelamento) quanto ativas (luta defensiva e atividade geral), permitindo uma análise comparativa abrangente dos repertórios defensivos entre linhagens.

3.5 Análise Estatística

Os três desfechos comportamentais — congelamento, luta defensiva e atividade geral — foram analisados por meio de ANOVA fatorial de dois fatores, testando efeitos principais e a interação entre linhagem (CAC, CBC e CTR) e sexo (machos e fêmeas). Quando o teste F indicou significância, aplicou-se o pós-teste de Bonferroni para comparações múltiplas. Adotou-se um nível de significância de $p < 0,05$. Todas as análises foram conduzidas no IBM SPSS Statistics, versão 23 (IBM Corp., Armonk, NY, EUA).

4**Resultados**

Uma ANOVA de dois fatores sobre o comportamento de congelamento não revelou interação significativa entre linhagem e sexo ($F (2, 70) = 0,48, p > 0,60$), nem efeito principal do sexo ($F (1, 70) = 0,57, p > 0,40$). No entanto, foi observado um efeito principal significativo da linhagem ($F (2, 70) = 17,14, p < 0,001$). Comparações post hoc com correção de Bonferroni indicaram que os animais da linhagem CAC apresentaram comportamento de congelamento significativamente maior em comparação com as linhagens CTR e CBC (todos os $p < 0,01$).

A análise do comportamento de luta defensiva também não mostrou interação significativa entre linhagem e sexo ($F (2, 70) = 0,84, p > 0,43$), nem efeito principal do sexo ($F (1, 70) = 0,70, p > 0,41$). Foi identificado um efeito principal significativo da linhagem ($F (2, 70) = 22,66, p < 0,001$). As comparações post hoc revelaram que os animais da linhagem CTR exibiram comportamento de luta defensiva significativamente maior em comparação com os animais das linhagens CAC e CBC (todos os $p < 0,01$).

Por fim, a análise da atividade geral revelou ausência de interação significativa entre linhagem e sexo ($F (2, 70) = 0,07, p > 0,93$), bem como ausência de efeito principal do sexo ($F (1, 70) = 3,7, p > 0,06$). No entanto, novamente foi observado um efeito principal significativo da linhagem ($F (2, 70) = 53,70, p < 0,001$). Comparações post hoc indicaram que os animais da linhagem CBC apresentaram atividade geral significativamente maior do que os das linhagens CAC e CTR (todos os $p < 0,01$).

Dado que não houve efeito principal do sexo nem interações significativas entre sexo e linhagem em nenhuma das variáveis comportamentais analisadas, os resultados foram colapsados entre os sexos e estão representados na Figura 1.

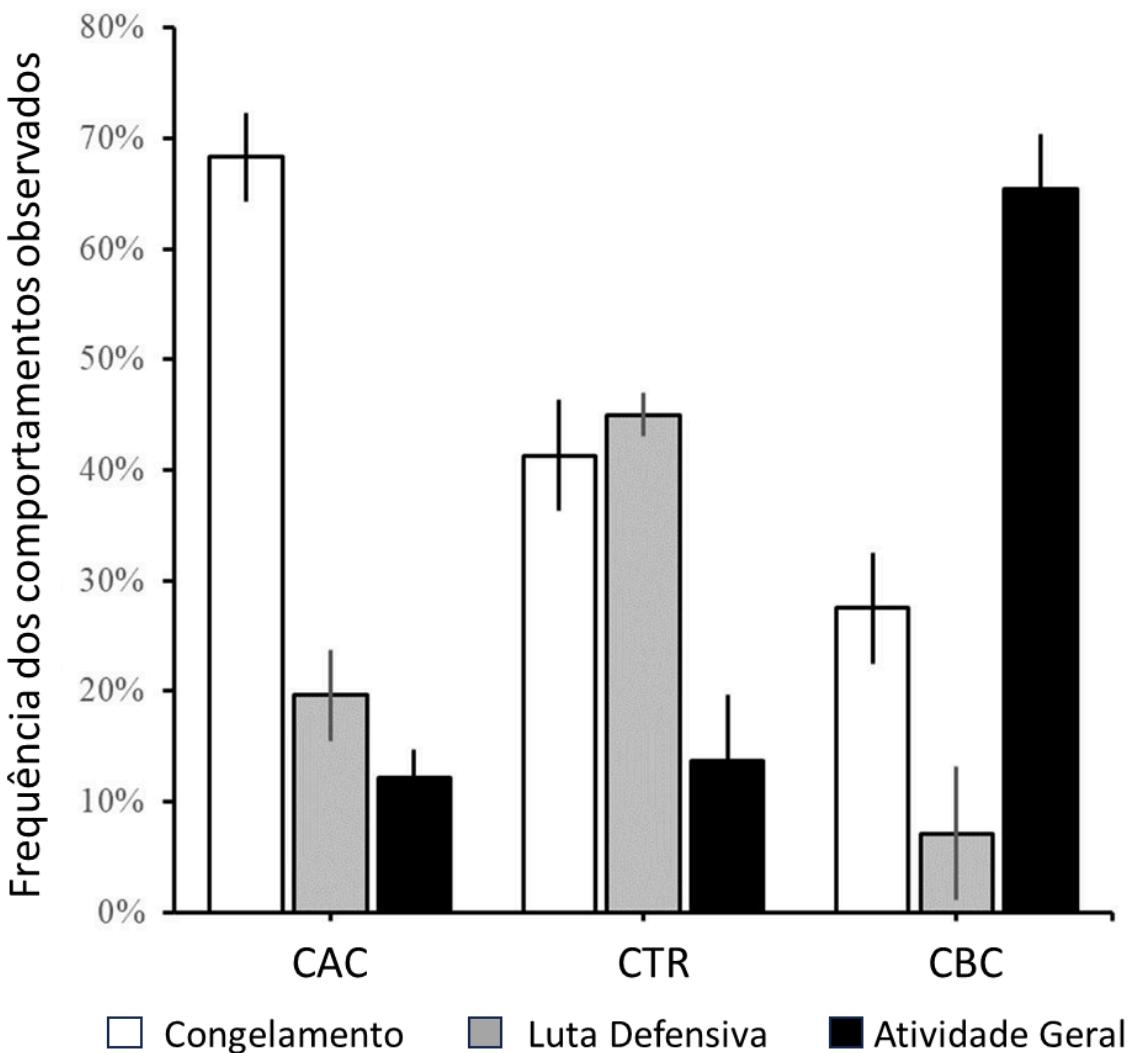


Figura 4. Medidas comportamentais entre as linhagens selecionadas.

Médias (\pm EPM) dos valores de congelamento, comportamento de luta defensiva e atividade geral em animais das linhagens CAC, CTR e CBC. Os dados foram agrupados entre os sexos devido à ausência de efeitos principais ou interações significativas relacionados ao sexo.

De forma geral, os resultados indicam que a seleção das linhagens Carioca com base no congelamento condicionado modulou os repertórios defensivos sob ameaça proximal. Ratos da linhagem CAC exibiram maior congelamento, sugerindo uma estratégia de defesa passiva, enquanto os da linhagem CBC apresentaram maior atividade geral, indicando um padrão de coping mais ativo e exploratório. Por sua vez, os ratos do grupo controle (CTR) mostraram maior frequência de luta defensiva, possivelmente refletindo uma resposta mais ajustada ao contexto social de ameaça. Esses achados reforçam a influência da predisposição genética na

determinação de estilos de enfrentamento distintos frente ao estresse. Além disso, a ausência de efeitos principais ou de interações significativas do fator sexo justifica a apresentação dos dados colapsados por sexo, destacando a linhagem como principal modulador dos comportamentos observados. As imagens ilustram os padrões comportamentais registrados durante o teste de luta defensiva induzida por choques nas patas, evidenciando a diversidade de estratégias entre linhagens.



Figura: CTR - Luta



Figura: CAC - Congelamento



Figura: CBC- Atividade Geral



Figura: CTR – *Boxing*

Figura 5–8. Exemplos representativos dos comportamentos defensivos avaliados nos diferentes grupos experimentais. (5) Comportamento de Luta em animal do grupo CTR; (6) resposta de congelamento em animal da linhagem CAC; (7) Atividade geral *observada* durante o teste em animais do grupo CBC; (8) comportamento de *boxing* em animal do grupo CTR.

5

Discussão

Os resultados do presente estudo indicaram que os animais da linhagem CAC apresentaram não apenas respostas inibitórias, mas também comportamentos defensivos ativos sob ameaça proximal. Esse achado é relevante porque o fenótipo CAC é classicamente descrito como passivo, caracterizado por elevados níveis de congelamento em paradigmas de ameaça contextual (Gomes & Landeira-Fernandez, 2011; Cruz, Castro-Gomes & Landeira-Fernandez, 2024). Nossos dados ampliam esse conhecimento, sugerindo que o fenótipo CAC não se limita a respostas inibitórias e pode ser modulado pela natureza do estímulo aversivo.

Tradicionalmente, os CAC são interpretados como análogos experimentais de indivíduos com alto traço de ansiedade, dado o elevado congelamento em testes de medo condicionado (Gomes & Landeira-Fernandez, 2011; Cruz et al., 2024). Contudo, no presente estudo, observou-se que, em contextos de ameaça física direta, como no paradigma de luta defensiva descrito originalmente por Blanchard, Blanchard e Takahashi (1977), esses animais também são capazes de expressar comportamentos ativos, incluindo *boxing* e lutas defensivas. Essa plasticidade sugere que o repertório comportamental dos CAC é mais amplo do que o descrito previamente, englobando estratégias passivas e ativas. A literatura sobre estilos de *coping* oferece suporte a essa interpretação. Segundo Koolhaas et al. (1999), perfis de *coping* podem ser divididos em proativos (ativos) e reativos (passivos). Embora os CAC geralmente exibem um estilo reativo em tarefas de medo condicionado (Brandão et al., 2008), aqui demonstraram capacidade de engajar respostas proativas diante de ameaças proximais. Isso reforça a ideia de que os estilos de *coping* não são fixos, mas modulados por variáveis contextuais, como a proximidade do estímulo ameaçador (Blanchard & Blanchard, 1989; McNaughton & Corr, 2004).

O paradigma de luta defensiva utilizado, baseado em choques nas patas em pares sociais, pode ser classificado como um modelo de ameaça proximal (Ulrich & Azrin, 1962; Takahashi & Blanchard, 1978). Isso contrasta com paradigmas clássicos de ameaça distal, como o condicionamento ao medo contextual (Bolles & Fanselow, 1980, 1982). Tal distinção é coerente com o modelo dos três níveis de

defesa de Blanchard et al. (2001), segundo o qual ameaças distais favorecem congelamento e inibição da ação, enquanto ameaças proximais tendem a desencadear respostas ativas, como fuga ou luta. Os comportamentos observados provavelmente refletem a ativação de circuitos neurais distintos. O congelamento é classicamente mediado pelo eixo amígdala central–PAG ventral (Fanselow, 1994; Fendt & Fanselow, 1999), enquanto respostas de luta defensiva envolvem o hipotálamo ventromedial, a PAG dorsal e conexões com o núcleo parabraquial (Canteras, 2002; Brandão et al., 2008; Wang et al., 2023). A presença de comportamentos ativos nos CAC sugere integração funcional entre essas estruturas, permitindo transições entre estratégias passivas e ativas de defesa.

Do ponto de vista translacional, os achados reforçam a utilidade do modelo Carioca para investigar mecanismos associados a transtornos de ansiedade. Condições como o transtorno de ansiedade generalizada (TAG) e o transtorno do pânico estão associadas a falhas na seleção adaptativa de respostas defensivas e na transição entre congelamento e ação (Gorman et al., 2000; Tyrer & Baldwin, 2006). O fato de os CAC pode alternar entre estratégias sugere que esse modelo é adequado para investigar déficits de flexibilidade defensiva em humanos.

No caso dos animais CBC, caracterizados por baixos níveis de congelamento, observou-se baixa emissão de comportamentos defensivos ativos. Esse dados sugerem que sua resposta é dominada por padrões de alta mobilidade e impulsividade motora, pouco estruturados frente à ameaça. Estudos anteriores já haviam indicado que ratos CBC apresentam maior impulsividade e menor inibição de respostas previamente condicionadas (Macêdo-Souza et al., 2020). Assim, o padrão observado pode ser considerado desadaptativo, pois compromete a seleção estratégica de respostas defensivas. A interpretação de que os CBC apresentam um estilo impulsivo encontra respaldo na literatura sobre neurobiologia da impulsividade e controle inibitório (Dalley, Everitt & Robbins, 2011). Esse perfil pode refletir desequilíbrio entre circuitos pré-frontais e subcorticais, resultando em comportamento mais desorganizado e menos eficiente diante de ameaças.

O grupo CTR, por sua vez, demonstrou maior variabilidade comportamental, sugerindo uma plasticidade mais adaptativa frente ao ambiente. Essa heterogeneidade é esperada em populações não selecionadas, reforçando seu papel como grupo controle neutro (Gomes et al., 2013). A ausência de polarização

fenotípica torna os CTR uma linha de base útil para validar as diferenças observadas nas linhagens selecionadas.

A distinção entre ameaças proximais e distais também pode ser compreendida à luz do modelo bidimensional de McNaughton e Corr (2004), que revisita a teoria de Gray (2000). Nesse arcabouço, as respostas defensivas são organizadas segundo duas dimensões: distância defensiva e direção defensiva (aproximação vs. evitação). Assim, enquanto ameaças distais recrutam áreas como o córtex pré-frontal para promover congelamento e avaliação de risco, ameaças proximais envolvem estruturas mais baixas, como a PAG dorsal, desencadeando luta ou fuga (Tovote et al., 2016; Melleu & Canteras, 2025). Outro aspecto a destacar é a coerência entre os achados deste estudo e dados translacionais em humanos. Volchan et al. (2017), por exemplo, mostraram que reações de imobilidade em humanos diante de ameaças estão associadas a respostas autonômicas semelhantes às observadas em roedores, reforçando a validade comparativa. De forma semelhante, Roelofs (2017) descreveu que transições entre congelamento e ação em humanos refletem um mecanismo adaptativo conservado. Já no campo da neurologia, autores como Anderson e Perona (2014) e Battivelli et al. (2024) defendem que a compreensão dos comportamentos defensivos depende da integração entre as perspectivas etológicas e neurocientíficas. Nossos resultados convergem com essa visão, uma vez que a expressão diferenciada dos comportamentos nas linhagens Carioca é melhor compreendida quando se considera o contexto ecológico da ameaça.

Apesar dos avanços, este estudo apresenta limitações. A análise manual do comportamento pode introduzir viés observacional. Além disso, a ausência de marcadores neurobiológicos paralelos (por exemplo, expressão de c-Fos ou registros eletrofisiológicos) limita a capacidade de confirmar *in vivo* os circuitos ativados. Estudos futuros devem integrar metodologias de análise automática (Kabra et al., 2013) e ferramentas de manipulação neural (Tovote et al., 2016) para aprofundar a compreensão dos mecanismos subjacentes.

Em síntese, os achados reforçam a validade do modelo Carioca como ferramenta translacional para investigar mecanismos defensivos e sua relação com psicopatologias. O fato de que animais CAC, tradicionalmente vistos como passivos, também podem exibir estratégias ativas em contextos proximais amplia a

compreensão sobre sua flexibilidade. Ao mesmo tempo, a baixa estruturação das respostas dos CBC e a variabilidade dos CTR contribuem para entender a diversidade de estilos de *coping*. Esses resultados sugerem que a interação entre fatores genéticos e contextuais é determinante para a expressão das respostas defensivas. Esses achados complementam os dados apresentados em Silveira et al. (manuscrito submetido, Apêndice), reforçando a validade translacional das linhagens Carioca.”

6 Conclusão

O presente estudo investigou os repertórios defensivos das linhagens Carioca sob ameaça proximal, demonstrando que a seleção fenotípica, baseada no congelamento condicionado resulta em estratégias distintas de enfrentamento. Animais da linhagem CAC apresentaram maior prevalência de congelamento, sugerindo um estilo de *coping* passivo, enquanto os da linhagem CBC exibiram aumento da atividade geral, associado a um padrão de enfrentamento mais ativo, porém pouco defensivo. Já o grupo controle apresentou maior frequência de luta defensiva, refletindo respostas ajustadas ao contexto social de ameaça.

Esses achados ampliam a caracterização das linhagens Carioca, evidenciando que a predisposição genética modula não apenas respostas a ameaças distais, já bem estabelecidas, mas também a comportamentos diante de ameaças proximais. Do ponto de vista translacional, os resultados reforçam o valor dessas linhagens como modelo experimental para o estudo dos transtornos de ansiedade. Em especial, o perfil dos animais CAC apresenta paralelos com manifestações do transtorno de ansiedade generalizada, enquanto os CBC refletem estratégias desadaptativas relacionadas a padrões de impulsividade e regulação deficiente do estresse.

Assim, esta dissertação contribui para consolidar as linhagens Carioca como um recurso relevante para a investigação dos mecanismos de defesa, oferecendo subsídios para futuros estudos que integrem níveis comportamentais, neurobiológicos e farmacológicos na compreensão e no tratamento da ansiedade

7 Referências

AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION. Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais: DSM-5-TR. 5. ed. rev. Porto Alegre: Artmed, 2023.7

Ávila, J. R., & Silva, J. A. (2016). Modelos animais em neurociência: aplicações e limitações. *Revista de Neurociências*, 24(3), 423–432.

Anderson, D. J., & Perona, P. (2014). Toward a science of computational ethology.

Neuron, 84(1), 18–31. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2014.09.005>

Bandelow, B., & Michaelis, S. (2015). Epidemiology of anxiety disorders in the 21st century. *Dialogues in clinical neuroscience*, 17(3), 327–335. <https://doi.org/10.31887/DCNS.2015.17.3/bbandelow>

Battivelli, D., Fan, Z., Hu, H., & Gross, C. T. (2024). How can ethology inform the neuroscience of fear, aggression and dominance? *Nature reviews. Neuroscience*, 25(12), 809–819. <https://doi.org/10.1038/s41583-024-00858-2>

Benus, R. F., Bohus, B., Koolhaas, J. M., & Van Oortmerssen, G. A. (1991). Heritable variation for aggression as a reflection of individual coping strategies. *Experientia*, 47(9), 1008–1019. <https://doi.org/10.1007/BF01923336>

Blanchard, D. C., Hynd, A. L., Minke, K. A., Minemoto, T., & Blanchard, R. J. (2001a). Human defensive behaviors to threat scenarios show parallels to fear- and anxiety-related defense patterns of non-human mammals. *Neuroscience and Biobehavioral reviews*, 25(7-8), 761–770. [https://doi.org/10.1016/s0149-7634\(01\)00056-2](https://doi.org/10.1016/s0149-7634(01)00056-2)

Blanchard, R. J., & Blanchard, D. C. (1969). Crouching as an index of fear. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 67(3), 370–375. <https://doi.org/10.1037/h0026779>

Blanchard, D. C., Griebel, G., & Blanchard, R. J. (2001b). Mouse defensive behaviors: Pharmacological and behavioral assays for anxiety and panic. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 25(3), 205–218. [https://doi.org/10.1016/S0149-7634\(01\)00009-4](https://doi.org/10.1016/S0149-7634(01)00009-4)

Blanchard, R. J., & Blanchard, D. C. (1989). Antipredator defensive behaviors in a visible burrow system. *Journal of comparative psychology* (Washington, D.C. : 1983), 103(1), 70–82. <https://doi.org/10.1037/0735-7036.103.1.70>

Blanchard, R. J., Blanchard, D. C., & Takahashi, L. K. (1977). Reflexive fighting in the albino rat: Aggressive or defensive behavior? *Aggressive Behavior*, 3(2),

145–155.

[https://doi.org/10.1002/1098-2337\(1977\)3:2<145:AID-AB2480030205>3.0.CO;2-Z](https://doi.org/10.1002/1098-2337(1977)3:2<145:AID-AB2480030205>3.0.CO;2-Z)

Blanchard, R. J., & Blanchard, D. C. (1989). Attack and defense in rodents as ethoexperimental models for the study of emotion. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*, 13(Suppl), S3–S14. [https://doi.org/10.1016/0278-5846\(89\)90105-x](https://doi.org/10.1016/0278-5846(89)90105-x)

Blanchard, R. J., Blanchard, D. C., Rodgers, J., & Weiss, S. M. (1990). The characterization and modelling of antipredator defensive behavior. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 14(4), 463–472. [https://doi.org/10.1016/s0149-7634\(05\)80069-7](https://doi.org/10.1016/s0149-7634(05)80069-7)

Bittencourt, A. S., Nakamura-Palacios, E. M., Mauad, H., Tufik, S., & Schenberg, L. C. (2005). Organization of electrically and chemically evoked defensive behaviors within the deeper collicular layers as compared to the periaqueductal gray matter of the rat. *Neuroscience*, 133(4), 873–892. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2005.03.012>

Bolles, R. C., & Fanselow, M. S. (1980). A perceptual-defensive-recuperative model of fear and pain. *Behavioral and Brain Sciences*, 3(2), 291–301.

Bolles, R. C., & Fanselow, M. S. (1982). Endorphins and behavior. *Annual Review of Psychology*, 33(1), 87–101.

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>

Bravo-Rivera, C., Roman-Ortiz, C., Brignoni-Perez, E., Sotres-Bayon, F., & Quirk, G. J. (2014). Neural structures mediating expression and extinction of platform-mediated avoidance. *The Journal of Neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 34(29), 9736–9742. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0191-14.2014>

Bradley, M. M., & Lang, P. J. (2000). Measuring emotion: Behavior, feeling, and physiology. In R. Lane & L. Nadel (Eds.), *Cognitive neuroscience of emotion* (pp. 242–276). Oxford University Press.

Campos, A. C., Fogaca, M. V., Aguiar, D. C., & Guimarães, F. S. (2013). Animal models of anxiety disorders and stress. *Revista Brasileira de Psiquiatria*, 35(Suppl 2), S101–S111.

Cavaliere, D. R., Maisonneuve, S. S., Krahe, T. E., Landeira-Fernandez, J., & Cruz, A. P. M. (2020). High- and Low-conditioned Behavioral Effects of Midazolam in Carioca High- and Low-Conditioned Freezing Rats in an Ethologically Based Test. *Neuroscience Letters*, 715, 134632. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2019.134632>

Canteras, N. S. (2002). The medial hypothalamic defensive system: Hodological organization and functional implications. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 71(3), 481–491. . [https://doi.org/10.1016/s0091-3057\(01\)00685-2](https://doi.org/10.1016/s0091-3057(01)00685-2)

Carver, C. S., Scheier, M. F., & Weintraub, J. K. (1989). Assessing coping strategies: A theoretically based approach. *Journal of Personality and Social Psychology*, 56(2), 267–283. <https://doi.org/10.1037/0022-3514.56.2.267>

Cruz, A. P. M., Castro-Gomes, V., & Landeira-Fernandez, J. (2024). An animal model of trait anxiety: Carioca high freezing rats as a model of generalized anxiety disorder. *Personality Neuroscience*, 7, e6. . <https://doi.org/10.1017/pen.2023.6>

Cryan, J. F., & Sweeney, F. F. (2011). The age of anxiety: role of animal models of anxiolytic action in drug discovery. *British journal of pharmacology*, 164(4), 1129–1161. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.2011.01362.x>

Chiang, M. C., Nguyen, E. K., Canto-Bustos, M., Papale, A. E., Oswald, A. M., & Ross, S. E. (2020). Divergent neural pathways emanating from the lateral parabrachial nucleus mediate distinct components of the pain response. *Neuron*, 106(6), 927–939.e5. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2020.03.014>

Dalley, J. W., Everitt, B. J., & Robbins, T. W. (2011). Impulsivity, compulsivity, and top-down cognitive control. *Neuron*, 69(4), 680–694. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2011.01.020>.

Darwin, C. (2009). *The expression of the emotions in man and animals* (Original work published 1872). Oxford University Press.

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>

Fagundes, H., & Taha, M. (2004). Modelos animais em psiquiatria: Aplicações e limitações. *Revista Brasileira de Psiquiatria*, 26(3), 180–182.

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/h0077>

Fanselow, M.S. Conditional and unconditional components of post-shock freezing. *Pav. J. Biol. Sci.* 15, 177–182 (1980). <https://doi.org/10.1007/BF03001163>

Fanselow, M. S. (1994). Neural organization of the defensive behavior system responsible for fear. *Psychonomic Bulletin & Review*, 1(4), 429–438. <https://doi.org/10.3758/BF03210947>

Fendt, M., & Fanselow, M. S. (1999). The neuroanatomical and neurochemical basis of conditioned fear. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 23(5), 743–760. . [https://doi.org/10.1016/S0149-7634\(99\)00016-0](https://doi.org/10.1016/S0149-7634(99)00016-0)

Franklin, T. B., Russig, H., Weiss, I. C., Gräff, J., Linder, N., Michalon, A., Vizi, S., & Mansuy, I. M. (2010). Epigenetic transmission of the impact of early stress across generations. *Biological psychiatry*, 68(5), 408–415. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2010.05.036>

Gomes, V., Silva, C., & Landeira-Fernandez, J. (2011). The Carioca High and Low Conditioned Freezing Lines: A New Animal Model of Generalized Anxiety Disorder. . <https://doi.org/10.5772/23598>

Gorman, J. M., Kent, J. M., Sullivan, G. M., & Coplan, J. D. (2000). Neuroanatomical Hypothesis of Panic Disorder, Revised. *American Journal of Psychiatry*, 157(4), 493–505. <https://doi.org/10.1176/appi.ajp.157.4.493>

Gomes VC, Hassan W, Maisonneuve S, Johnson LR, Ramos A, & Landeira-Fernandez J. (2013). Behavioral evaluation of eight rat lines selected for high and low anxiety-related responses. *Behav Brain Res.* Nov 15;257:39-48

Gray, J., & McNaughton, N. (2000). *The neuropsychology of anxiety: An enquiry into the functions of the septo-hippocampal system* (2nd ed.). Oxford: Oxford University Press.

Grissom, N., & Bhatnagar, S. (2009). Habituation to repeated stress: Get used to it. *Neurobiology of Learning and Memory*, 92(2), 215–224. <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2008.07.001>

Hashemi, M. M., Gladwin, T. E., de Valk, N. M., Zhang, W., Kaldewaij, R., van Ast, V., Koch, S. B. J., Klumpers, F., & Roelofs, K. (2019). Neural Dynamics of Shooting

Decisions and the Switch from Freeze to Fight. *Scientific reports*, 9(1), 4240. . <https://doi.org/10.1038/s41598-019-40917-8>

Henry, J. P. (1992). Biological basis of the stress response. *Integrative Physiological and Behavioral Science*, 27(1), 66–83. <https://doi.org/10.1007/BF02691093>

Hubbard, D. T., Blanchard, D. C., Yang, M., Markham, C. M., Gervacio, A., Chun-I, L., & Blanchard, R. J. (2004). Development of defensive behavior and conditioning to cat odor in the rat. *Physiology & behavior*, 80(4), 525–530. . <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2003.10.006>

Kabra, M., Robie, A. A., Rivera-Alba, M., Branson, S., & Branson, K. (2013). JAABA: interactive machine learning for automatic annotation of animal behavior. *Nature methods*, 10(1), 64–67. <https://doi.org/10.1038/nmeth.2281>

Kirlic, N., Young, J., & Aupperle, R. L. (2017). Animal to human translational paradigms relevant for approach avoidance conflict decision making. *Behaviour research and therapy*, 96, 14–29. <https://doi.org/10.1016/j.brat.2017.04.010>

Koolhaas, J. M., Korte, S. M., De Boer, S. F., Van Der Vegt, B. J., Van Reenen, C. G., Hopster, H., ... & Blokhuis, H. J. (1999). Coping styles in animals: Current status in behavior and stress-physiology. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 23(7), 925–935. . [https://doi.org/10.1016/S0149-7634\(99\)00026-3](https://doi.org/10.1016/S0149-7634(99)00026-3)

Koolhaas, J. M., de Boer, S. F., Coppens, C. M., & Buwalda, B. (2010). Neuroendocrinology of coping styles: Towards understanding the biology of individual variation. *Frontiers in Neuroendocrinology*, 31(3), 307–321. <https://doi.org/10.1016/j.yfrne.2010.04.001>

Kumar, V. (2013). Animal models of anxiety: A comprehensive review. [Journal Title]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23684951/>

Lages, Y. V. M., Rossi, A. D., Krahe, T. E., & Landeira-Fernandez, J. (2021). Effect of chronic unpredictable mild stress on the expression profile of serotonin receptors in rats and mice: A meta-analysis. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 124, 78–88. . <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2021.01.020>

Lages, Y. V., Balthazar, L., Krahe, T. E., & Landeira-Fernandez, J. (2023). 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>

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.

Landeira-Fernandez, J. (1996). Context and Pavlovian conditioning. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 29(2), 149-173.

Lazarus, R. S., & Folkman, S. (1984). *Stress, appraisal, and coping*. New York: Springer.

Likhtik, E., Pelletier, J. G., Paz, R., & Paré, D. (2005). Prefrontal control of the amygdala. *The Journal of Neuroscience*, 25(32), 7429–7437.

<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2314-05.2005>

Macêdo-Souza, C., Maisonnnette, 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, 285.

Maren, S. (2001). Neurobiology Of Pavlovian Fear Conditioning. *Annual Review of Neuroscience*, 24(1), 897–931.
doi:10.1146/annurev.neuro.24.1.89710.1146/annurev.neuro.24.1.897

Melleu, F. F., & Canteras, N. S. (2025). Neural Circuits of Fear and Anxiety: Insights from a Neuroethological Perspective. *Physiology (Bethesda, Md.)*, 40(3), 0. .
<https://doi.org/10.1152/physiol.00042.2024>

Miczek, K. A., de Almeida, R. M., Kravitz, E. A., Rissman, E. F., de Boer, S. F., & Raine, A. (2007). Neurobiology of escalated aggression and violence. *The Journal of Neuroscience*, 27(44), 11803–11806. .

<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3500-07.2007>

Milad, M. R., & Quirk, G. J. (2002). Neurons in medial prefrontal cortex signal memory for fear extinction. *Nature*, 420(6911), 70–74.
<https://doi.org/10.1038/nature01138>

Milad, M. R., Pitman, R. K., Ellis, C. B., Gold, A. L., Shin, L. M., Lasko, N. B., Zeidan, M. A., Handwerger, K., Orr, S. P., & Rauch, S. L. (2009). Neurobiological basis of failure to recall extinction memory in posttraumatic stress disorder. *Biological Psychiatry*, 66(12), 1075–1082. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2009.06.026>

Mobbs, D., Headley, D. B., Ding, W., & Dayan, P. (2020). Space, time, and fear: Survival computations along defensive circuits. *Trends in Cognitive Sciences*, 24(3), 228–241. <https://doi.org/10.1016/j.tics.2019.12.016>

McNaughton, N., & Corr, P. J. (2004). A two-dimensional neuropsychology of defense: Fear/anxiety and defensive distance. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 28(3), 285–305. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2004.03.005>

National Research Council. (2011). Guide for the Care and Use of Laboratory Animals (8th ed.). Washington, DC: National Academies Press. <https://doi.org/10.17226/12910>

Öhman, A., & Mineka, S. (2001). Fears, phobias, and preparedness: Toward an evolved module of fear and fear learning. *Psychological Review*, 108(3), 483–522. <https://doi.org/10.1037/0033-295X.108.3.483>

Øverli, Ø., Sørensen, C., Pulman, K. G. T., Pottinger, T. G., Korzan, W., Summers, C. H., & Nilsson, G. E. (2007). Evolutionary background for stress-coping styles: Relationships between physiological, behavioral, and cognitive traits in non-mammalian vertebrates. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 31(3), 396–412. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2006.10.006>

Palmiter, R. D. (2018). The parabrachial nucleus: CGRP neurons function as a general alarm. *Trends in Neurosciences*, 41(5), 280–293. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2018.03.007>

Peçanha, A., Silveira, B., Krahe, T. E., & Landeira Fernandez, J. (2025). Can social isolation alleviate symptoms of anxiety and depression disorders?. *Frontiers in psychiatry*, 16, 1561916. <https://doi.org/10.3389/fpsyg.2025.1561916>

Peçanha, A., Maisonneuve, S., Cruz, A. P. M., Filgueiras, C. C., Krahe, T. E., & Landeira-Fernandez, J. (2024). The impact of social isolation on depression-like behavior in carioca high- and low-conditioned freezing rats. *Social neuroscience*, 19(4), 287–295. <https://doi.org/10.1080/17470919.2024.2432657>

Radcliffe, R. A., Lowe, M. V., & Wehner, J. M. (2000). Confirmation of contextual fear conditioning QTLs by short-term selection. *Behavior genetics*, 30(3), 183-191.

Rodrigues, S. M., LeDoux, J. E., & Sapolsky, R. M. (2009). The influence of stress hormones on fear circuitry. *Annual review of neuroscience*, 32, 289–313. . <https://doi.org/10.1146/annurev.neuro.051508.135620>

Rodríguez, M., Ceric, F., Murgas, P., Harland, B., Torrealba, F., & Contreras, M. (2020). Interoceptive Insular Cortex Mediates Both Innate Fear and Contextual Threat Conditioning to Predator Odor. *Frontiers in behavioral neuroscience*, 13, 283. <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2019.00283>

Roelofs K. (2017). Freeze for action: neurobiological mechanisms in animal and human freezing. *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences*, 372(1718), 20160206. . <https://doi.org/10.1098/rstb.2016.0206>

Silva, B. A., Mattucci, C., Krzywkowski, P., Murana, E., Illarionova, A., Grinevich, V., Canteras, N. S., Ragozzino, D., & Gross, C. T. (2013). Independent hypothalamic circuits for social and predator fear. *Nature neuroscience*, 16(12), 1731–1733. . <https://doi.org/10.1038/nn.3573>

Staples, L. G., Hunt, G. E., Cornish, J. L., & McGregor, I. S. (2005). Neural activation during cat odor-induced conditioned fear and 'trial 2' fear in rats. *Neuroscience and biobehavioral reviews*, 29(8), 1265–1277. . <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2005.04.009>

Shuhama, R., Del-Ben, C. M., Loureiro, S. R., & Graeff, F. G. (2008). Defensive responses to threat scenarios in Brazilians reproduce the pattern of Hawaiian Americans and non-human mammals. *Brazilian journal of medical and biological research = Revista brasileira de pesquisas médicas e biologica*, 41(4), 324–332. <https://doi.org/10.1590/s0100-879x2008000400011>

Shin, L. M., & Liberzon, I. (2010). The neurocircuitry of fear, stress, and anxiety disorders. *Neuropsychopharmacology*, 35(1), 169–191. <https://doi.org/10.1038/npp.2009.83>

Takahashi, L. K., & Blanchard, R. J. (1978). Shock and defensive fighting in the rat. *Bulletin of the Psychonomic Society*, 12(3), 211–213. <https://doi.org/10.3758/BF03329673>

Tyrer, P., & Baldwin, D. (2006). Generalised anxiety disorder. *The Lancet*, 368(9553), 2156–2166. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(06\)69865-6](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(06)69865-6)

Tovote, P., Esposito, M. S., Botta, P., Chaudun, F., Fadok, J. P., Markovic, M., Wolff, S. B., Ramakrishnan, C., Fenno, L., Deisseroth, K., Herry, C., Arber, S., & Lüthi, A. (2016). Midbrain circuits for defensive behaviour. *Nature*, 534(7606), 206–212. . <https://doi.org/10.1038/nature17996>

Tovote, P., Fadok, J. P., & Lüthi, A. (2016). Neuronal circuits for fear and anxiety. *Nature Reviews Neuroscience*, 16(6), 317–331. <https://doi.org/10.1038/nrn3945>

Treit, D., Lolordo, V. M., & Armstrong, D. E. (1986). The effects of diazepam on "fear" reactions in rats are modulated by environmental constraints on the rat's defensive repertoire. *Pharmacology, biochemistry, and behavior*, 25(3), 561–565. . [https://doi.org/10.1016/0091-3057\(86\)90141-3](https://doi.org/10.1016/0091-3057(86)90141-3)

Tyrer, P., & Baldwin, D. (2006). Generalised anxiety disorder. *Lancet (London, England)*, 368(9553), 2156–2166. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(06\)69865-6](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(06)69865-6)

Ulrich, R. E., & Azrin, N. H. (1962). Reflexive fighting in response to aversive stimulation. *Journal of the experimental analysis of behavior*, 5(4), 511–520. .
<https://doi.org/10.1901/jeab.1962.5-511>

Ulrich-Lai, Y. M., & Herman, J. P. (2009). Neural regulation of endocrine and autonomic stress responses. *Nature Reviews Neuroscience*, 10(6), 397–409.
<https://doi.org/10.1038/nrn2647>

van der Goot, M. H., Keijsper, M., Baars, A., Drost, L., Hendriks, J., Kirchhoff, S., Lozeman-van T Klooster, J. G., van Lith, H. A., & Arndt, S. S. (2021). Inter-individual variability in habituation of anxiety-related responses within three mouse inbred strains. *Physiology & behavior*, 239, 113503.
<https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2021.113503>

Volchan, E., Rocha-Rego, V., Bastos, A. F., Oliveira, J. M., Franklin, C., Gleiser, S., Berger, W., Souza, G. G. L., Oliveira, L., David, I. A., Erthal, F. S., Pereira, M. G., & Figueira, I. (2017). Immobility reactions under threat: A contribution to human defensive cascade and PTSD. *Neuroscience and biobehavioral reviews*, 76(Pt A), 29–38. . <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2017.01.025>

Zhang, X., & Li, B. (2018). A Pathway to Avoiding Threats? *Neuron*, 100(4), 780–782. .
<https://doi.org/10.1016/j.neuron.2018.11.014>;

Wang, F., Chen, Y., Lin, Y., Wang, X., Li, K., Han, Y., Wu, J., Shi, X., Zhu, Z., Long, C., Hu, X., Duan, S., & Gao, Z. (2023). A parabrachial to hypothalamic pathway mediates defensive behavior. *eLife*, 12, e85450. . <https://doi.org/10.7554/eLife.85450>

Watson, T. C., Obiang, P., Torres-Herraez, A., Watilliaux, A., Coulon, P., Rochefort, C., & Rondi-Reig, L. (2019). Anatomical and physiological foundations of cerebello-hippocampal interaction. *eLife*, 8, e41896. .
<https://doi.org/10.7554/eLife.41896>

8. Apêndices e Anexos**Shock-Induced Defensive Fighting in Carioca High- and Low-Conditioned
Freezing Rats**

B.S.S. Silveira, F. P. Rossetti, S. S. Maisonnnette, J. Landeira-Fernandez,

T.E. Krahe*

Department of Psychology

Pontifical Catholic University of Rio de Janeiro

Rio de Janeiro, Brazil

Runing Title: **Defensive Fighting in Carioca Rat Lines**

***Corresponding Author**

Laboratory of Behavioral Neuroscience

Department of Psychology

Pontifical Catholic University of Rio de Janeiro

Rua Marquês de São Vicente, 225

Rio de Janeiro, RJ, 22453-900, Brazil

Phone: +55-21-3527-1186

E-mail: tekrahe@puc-rio.br

Abstract

The Carioca rat lines, selectively bred for high (CHF) and low (CLF) conditioned freezing, provide a model for investigating trait anxiety and coping strategies. When exposed to footshock in the presence of a conspecific, rats typically display defensive fighting—an unconditioned behavior characterized by upright posture and forepaw strikes directed toward the partner. This study examined how this shock-induced response manifests in CHF, CLF, and control (CTL) rats. Behavioral categories included freezing and defensive fight. CHF rats exhibited increased freezing and reduced defensive fighting relative to CTL animals. When freezing and fighting co-occurred, episodes were scored as defensive fighting; nevertheless, active defensive responses were rare in CHF rats, in which freezing predominated. CLF rats showed reductions in both freezing and defensive fight. These findings indicate that selective breeding for conditioned freezing reorganizes defensive behavior in opposite directions: CHF rats display reduced defensive fight associated with predominant freezing across threat contexts, whereas CLF rats exhibit diminished defensive engagement consistent with low emotional reactivity. Together, the results support the relevance of the Carioca rat model for investigating genetic and behavioral mechanisms underlying anxiety and coping.

Keywords: Carioca rat lines; defensive fighting; conditioned freezing; coping strategies; anxiety models.

1. Introduction

Understanding how animals respond to threat has long been central to the study of emotion, fear, and anxiety. Defensive behaviors such as freezing and fighting are fundamental survival strategies that reflect the organism's ability to evaluate danger and select appropriate coping responses. Individual differences in these behaviors have a strong genetic basis and provide valuable models for investigating the biological mechanisms underlying emotional reactivity and anxiety-related traits in humans (Blanchard et al., 2001; Gray & McNaughton, 2000; Fanselow & Lester, 1988).

Within this framework, the Carioca rat breeding lines were established through a bidirectional selective breeding procedure based on individual variation in contextual fear conditioning (Landeira-Fernandez, 1996). The lines were developed using defensive freezing as the primary phenotypic criterion, a well-validated behavioral index of conditioned fear (Bolles & Fanselow, 1980; Fanselow, 1980; Fendt & Fanselow, 1999). From this selective process, three stable lines: Carioca High-Freezing (CHF), bred from animals with the highest freezing in the conditioning context; Carioca Low-Freezing (CLF), from animals with minimal freezing and greater exploratory behavior; and a randomly selected control group (CTL; Castro-Gomes & Landeira-Fernandez, 2008; Castro-Gomes et al., 2011; Macêdo-Souza et al., 2020).

This selective-breeding strategy produced consistent behavioral phenotypes across generations, CHF rats typically show stronger conditioned fear and heightened emotional reactivity, whereas CLF rats exhibit reduced fear expression with increased locomotion and exploration, making the Carioca model a useful tool for probing how inherited differences in defensive strategies shape emotional and behavioral responses to threat (Cruz et al., 2024).

When two rats are simultaneously exposed to mild electric shocks, they often display a defensive fight characterized by upright posture and rapid forepaw strikes directed toward a

conspecific (Blanchard et al., 1977; Takahashi & Blanchard, 1978; Ulrich & Azrin, 1962).

This reaction arises under unavoidable physical threat and is considered defensive rather than offensive aggression under these conditions (Blanchard et al., 1977). The presence of a conspecific experiencing the same aversive stimulus adds a social dimension in which threat intensity and social interaction jointly influence coping strategies (Morozov, 2018).

Investigating shock-induced defensive fight in the Carioca lines bridges learned and innate domains of defense. On one hand, conditioned responses such as contextual freezing reflect learned anticipation of danger and were the basis for selection (Cruz et al., 2024); On the other, the fight response to direct shock represents an unconditioned pattern that emerges under immediate threat (Blanchard et al., 1977). Examining how CHF, CLF, and CTL rats express defensive fight under shared shock therefore provides leverage to test how selection on conditioned freezing organizes the flexibility and coordination of defensive behaviors.

Accordingly, our main objective was to evaluate shock-induced defensive fight across Carioca lines selectively bred for high or low conditioned freezing. We hypothesized that the phenotypic divergence observed in contextual fear would extend to this unconditioned defensive context: CHF rats would exhibit more restrained, immobile reactions dominated by freezing, whereas CLF rats would show comparatively reduced defensive engagement.

In addition, we examined potential sex differences. Prior work from our group shows that males exhibit higher levels of conditioned freezing than females across CHF, CTL, and CLF lines, suggesting a sex-related variation in contextual fear conditioning (Salviano et al., 2014; Gomes, Silva & Landeira-Fernandez, 2011). We therefore asked whether these sex differences generalize to defensive fight under shock.

2. Material and Methods

2.1 Animals

A total of 72 adult rats (240–300 g) were used in this study. Animals were bred and maintained at the Laboratory of Behavioral Neuroscience, Pontifical Catholic University of Rio de Janeiro (PUC-Rio), Brazil. They belonged to the 43rd generation of a selective breeding program based on freezing responses in a contextual fear-conditioning task, which produced the Carioca High-conditioned Freezing (CHF) and Carioca Low-conditioned Freezing (CLF) lines. Phenotypic divergence between these lines was established by the third generation, as previously described (Castro-Gomes & Landeira-Fernandez, 2008). An additional control group (CTL) consisted of Wistar rats from a randomly bred population.

Animals were tested in same-sex pairs, with six pairs per line per sex (CHF, CTL, and CLF). All animals were housed in groups of six per polycarbonate cage ($31 \times 18 \times 38$ cm) under controlled temperature (24 ± 1 °C) and a 12-hour light/dark cycle (lights on from 7:00 AM to 7:00 PM), with food and water available *ad libitum*.

All experimental procedures were approved by the Animal Care and Use Committee of PUC-Rio (protocol no. 003/2019) and complied with the ethical standards of the Brazilian Society of Neuroscience and Behavior (SBNeC) and the NIH Guide for the Care and Use of Laboratory Animals.

2.2 Apparatus

Behavioral testing was conducted in transparent acrylic chambers (Bonther®, $33.2 \times 27.0 \times 41.2$ cm) with metal-bar floors connected to a calibrated shock generator (Insight®, São Paulo, Brazil). The generator delivered 0.6 mA footshocks lasting 0.5 s at 15-second intervals. A digital camera mounted above each chamber recorded all sessions for subsequent offline analysis.

2.3 Defensive Behavior Test

A modified version of the defensive fighting protocol described by Takahashi and Blanchard (1978) was used to evaluate behavioral responses to aversive stimulation in a socially interactive context. Rats from each breeding line (CHF, CLF, and CTL) were paired within their own group (e.g., CHF vs. CHF), matched for body weight and sex. Pairs that had previously cohabited were avoided to prevent familiarity effects.

One hour before testing, rats were marked on the back with non-toxic black ink for individual identification and then returned to their home cages. Each pair was placed in the acrylic chamber for a 3-minute period of free exploration prior to the footshock procedure. Footshocks were delivered through the metal grid floor at 15-second intervals. Each session consisted of 10 consecutive shocks administered automatically via the shock generator. All sessions were video-recorded using a digital camera positioned above the chamber. Between sessions, chambers were cleaned with a 5% ammonium hydroxide solution to eliminate odor cues.

2.4 Behavioral Scoring

Video recordings were analyzed offline by a trained observer blind to the experimental condition. Each animal from the pair was scored separately. The observer manually classified behaviors into predefined categories. **Freezing** was defined as complete immobility except for respiratory movements (Blanchard & Blanchard, 1969; Fanselow, 1980; Fendt & Fanselow, 1999). **Defensive fighting** included boxing (upright forepaw strikes) and fighting (intense physical confrontation such as wrestling or immobilization; Blanchard et al., 1977; Miczek et al., 2007). When an animal exhibited a defensive fight

response in a freezing posture, the episode was recorded as defensive fighting, as the goal was to identify the occurrence of active defensive responses even when brief freezing postures were present.

2.5 Statistical Analysis

The two behavioral outcomes, freezing and defensive fighting, were analyzed using two-way analyses of variance (ANOVAs). The first factor (three levels) corresponded to breeding line (CHF, CTL, and CLF), and the second factor (two levels) represented sex (male and female). When significant F-ratios were obtained, post hoc tests were applied to identify specific group differences. Statistical significance was set at $p < 0.05$. All analyses were performed using JASP version 0.18.3 (JASP Team, 2024).

3. Results

Figure 1 presents the mean and standard error of the mean (SEM) for the two behaviors evaluated in this study, freezing and defensive fighting, across the CHF, CTL, and CLF rat lines. Separate two-way ANOVAs were conducted for each behavior, with breeding line and sex as factors. No significant interaction between breeding line and sex, nor any main effect of sex, was found for any **measure**. Consequently, data from males and females were collapsed **across sex**. The results of each analysis are described below.

Insert Figure 1

A two-way ANOVA on freezing behavior revealed no significant interaction between breeding line and sex ($F(2, 66) = 2.20, p > 0.11$) and no main effect of sex ($F(1, 66) = 1.34, p$

> 0.23). However, a significant main effect of breeding line was observed ($F(2, 66) = 18.84, p < 0.001$). Bonferroni post hoc comparisons showed that animals from the CHF line exhibited higher freezing than both the CTL and CLF lines (all $p < 0.01$). In contrast, CLF rats displayed the lowest levels of freezing among the three groups, differing from both CTL and CHF animals (all $p < 0.05$).

Analysis of defensive fighting behavior also showed no significant interaction between breeding line and sex ($F(2, 66) = 1.74, p > 0.17$) and no main effect of sex ($F(1, 66) = 1.51, p > 0.21$). A significant main effect of breeding line was found ($F(2, 66) = 20.14, p < 0.001$). Post hoc comparisons revealed that animals from the CTL line exhibited higher defensive fighting than both the CHF and CLF lines (all $p < 0.05$).

4. Discussion

The present study examined how selective breeding for conditioned freezing affects the expression of defensive fight behavior in the Carioca rat lines when exposed to footshock in the presence of a conspecific. This paradigm assesses how animals balance two defensive modes, freezing and defensive fight, under socially threatening conditions. To our knowledge, this is the first application of a shock-induced defensive fight paradigm to a selectively bred anxiety-like rat line.

Previous work with the Carioca lines has focused mainly on contextual fear conditioning (Castro-Gomes et al., 2011; Cruz et al., 2024; Macêdo-Souza et al., 2020), rather than on this socially interactive form of defense. Similarly, other well-established anxiety-prone lines, such as Roman High-Avoidance, Maudsley Reactive, and High-Anxiety Behavior rats, have not been tested in this paradigm (see Castro-Gomes et al., 2013; Lages et al., 2023, for reviews). The present findings therefore extend the behavioral characterization of anxiety-selected models into an unconditioned and ethologically relevant domain.

(Blanchard & Blanchard, 1989), showing how selection for heightened defensive reactivity may shape the organization of social and proximal defensive responses

In contrast with previous evidence from our laboratory, the present results revealed no detectable sex differences in freezing behavior. Earlier studies found males to exhibit higher conditioned freezing than females across CHF, CTL, and CLF animals (Salviano et al., 2014; Castro-Gomes, Silva & Landeira-Fernandez, 2011). Several methodological and contextual factors may account for this discrepancy. First, testing animals in pairs may have homogenized responses through social matching or buffering, reducing sex-dependent variability. Second, our scoring rule prioritized defensive fight whenever it co-occurred with freezing, which could have truncated freezing counts and obscured subtle sex effects. Third, the combination of dyadic testing, repeated brief shocks, and analysis restricted to the first ten shocks may have attenuated individual variability. Additionally, contextual fear responses can be modulated by hormonal and stress-related variables (e.g., estrous phase, circulating corticosterone, prior handling), which were not controlled here and may have increased within-group variance (e.g., Blair et al., 2022). Together, these factors provide a parsimonious explanation for the lack of sex differences observed here, despite prior reports in contextual fear conditioning.

CHF rats maintained a predominance of freezing in an aversive context where freezing and defensive fight typically coexist as complementary strategies. In the shock-induced defensive fight paradigm, control animals commonly alternate between freezing vigilance and threat evaluation and overt defensive fighting, yielding a more balanced distribution of behaviors (Blanchard et al., 1977). In contrast, CHF rats showed a tendency to persist in freezing, suggesting reduced flexibility in shifting between these modes. This pattern may reflect a disruption of the defensive hierarchy described by Fanselow and Lester (1988), in which responses shift along a continuum from vigilant

assessment to direct engagement as threat proximity increases. In CHF rats, the persistence of freezing under conditions that usually elicit both forms of defense suggests an impaired capacity to alternate between vigilant and interactive strategies, leading to a more rigid organization of defensive behavior.

This profile can be interpreted within classical neuroethological models of hierarchical defense (Blanchard et al., 1990; Fanselow, 1994; McNaughton & Corr, 2004). According to this framework, freezing, flight, and fight are recruited along a gradient of threat intensity, with transitions reflecting shifts in perceived controllability and imminence. Freezing represents an intermediate state associated with risk assessment and sustained vigilance, whereas defensive fight emerges when threat becomes unavoidable or proximal. The persistence of freezing in CHF rats suggests that their defensive system is constrained within this vigilance stage, potentially reflecting potentiation of mechanisms that sustain alertness at the expense of those enabling flexible shifts.

From a **translational standpoint**, the present findings are consistent with the relevance of the CHF line as a model for generalized anxiety disorder (GAD; Cruz et al., 2024). Patients with GAD often exhibit heightened anger reactivity but tend to suppress overt aggressive behavior in socially evaluative situations, favoring internalization (“anger-in”) over expression. Anger suppression and internalized anger correlate with GAD symptom severity and improve alongside core worry symptoms during cognitive-behavioral therapy targeting intolerance of uncertainty (Deschênes et al., 2012; Laposia et al., 2019).

Despite paired testing, CHF rats showed limited defensive fight, which may reflect a disruption of social buffering mechanisms that ordinarily mitigate anxiety and promote flexibility during shared threat exposure. Typically, the presence of a conspecific reduces freezing and facilitates active defensive responses (Hegoburu et al., 2024; Kiyokawa & Hennessy, 2018). However, recent studies from our group indicate a paradoxical pattern in

CHF rats: social isolation produces anxiolytic- and antidepressant-like effects, suggesting that social contact may act as a stressor rather than a buffer in this line (Peçanha et al., 2024; Peçanha et al., 2025).

This suggests that selection for high conditioned freezing may impair the integration of social safety cues, leading to persistent vigilance and reduced flexibility in defensive behavior. Related phenomena have been noted in GAD, where the presence of others may fail to alleviate, and can sometimes intensify, physiological arousal and defensive inhibition (Hennessy et al., 2009; Hostinar et al., 2014).

More broadly, anxiety disorders such as GAD are characterized by heightened anger reactivity combined with reduced outward aggression and a tendency toward anger suppression, particularly in socially evaluative contexts. This pattern reflects increased emotional control and avoidance of confrontation driven by concern about negative evaluation or rejection (Aldao et al., 2010 + REF). Such regulatory overcontrol aligns with social buffering failure, in which social presence does not mitigate arousal or promote adaptive coping. These features parallel the CHF phenotype, marked by persistent vigilance-based defense and limited transition to active or interactive strategies under shared threat.

At the opposite end of the spectrum, CLF rats showed the consequences of selection for low conditioned freezing. The same selective process that strengthened defensive inhibition in CHF animals appears to have attenuated reactivity in CLF rats, with reduced freezing and defensive fighting (Cruz et al., 2024). This outcome was expected, as this line was bred from animals showing minimal conditioned fear. The present findings therefore support the CLF line as a model of reduced emotional reactivity and low anxiety-like behavior, suggesting that diminished defensive responses extend beyond learned contexts to unconditioned, socially mediated forms of defense.

This attenuated profile suggests a general dampening of emotional and motivational systems that organize defensive behavior. Rather than an adaptive reduction of fear, such blunted reactivity may indicate a deficit in mobilizing appropriate responses under threat (León et al., 2020). In natural environments, the inability to activate timely defensive reactions can be maladaptive, leading to ineffective coping when facing danger (Zambetti et al, 2022). From a translational perspective, this phenotype parallels emotional underreactivity and impaired threat appraisal observed in certain externalizing or stress-related conditions, including sensationseeking, behavioral disinhibition, and ADHD-related emotional dysregulation (Musser & Nigg, 2013). Consistent with this interpretation, prior work from our laboratory proposed that the CLF line may serve as an experimental model of ADHD, based on low fear responsiveness, behavioral disinhibition, and altered dopaminergic sensitivity to psychostimulants (Lages et al., 2021).

In summary, shock-induced defensive behavior was markedly altered in both Carioca lines, revealing opposite coping styles. CHF rats exhibited a dominance of vigilance-based responses, reflecting increased defensive control and reduced flexibility, consistent with anxiety-related overcontrol observed in GAD. In contrast, CLF rats displayed hyporeactivity and blunted defensive engagement, mirroring emotional underreactivity, behavioral disinhibition, and dopaminergic sensitivity patterns linked to ADHD phenotypes (Lages et al., 2021). Together, these findings indicate that selection for conditioned freezing reshapes not only learned fear but also the organization of unconditioned and socially mediated defense, generating two complementary phenotypes that span a continuum from hyper- to hypo-defensive regulation. This bidirectional model offers a useful framework for studying neurobehavioral mechanisms underlying both anxiety-related overcontrol and externalizing undercontrol, and how extremes of defensive regulation can lead to maladaptive outcomes.

Funding

The authors declare that financial support was received for the research. The work was supported by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior -Brasil (CAPES); Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ); Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPQ).

Credit authorship contribution statements

Bruna S. S. Silveira: data curation, writing original draft, validation. **Flavia P. Rosseti:** data curation, validation. **Silvia S. Maisonneuve:** conceptualization, data curation, supervision, validation. **J. Landeira-Fernandez:** conceptualization, formal analysis, funding acquisition, writing – review and editing. **Thomas E. Krahe:** conceptualization, formal analysis, project administration, supervision, writing original draft.

Declaration of Competing Interest

The authors declare no conflict of interest.

Declaration of generative AI and AI-assisted technologies in the writing process

During the preparation of this work the author used a natural language processing (NLP) generative AI chatbot to improve the readability and language of the manuscript. After using this tool, the authors reviewed and edited the content as needed.

References

- Aldao, A., Nolen-Hoeksema, S., & Schweizer, S. (2010). Emotion-regulation strategies across psychopathology: A meta-analytic review. *Clinical Psychology Review*, 30(2), 217–237. <https://doi.org/10.1016/j.cpr.2009.11.004>
- Blair, R. J. R. (2013). The neurobiology of psychopathic traits in youths. *Nature Reviews Neuroscience*, 14(11), 786–799. <https://doi.org/10.1038/nrn3577>
- Blair, R. S., Acca, G. M., Tsao, B., Stevens, N., Maren, S., & Nagaya, N. (2022). Estrous cycle contributes to state-dependent contextual fear in female rats. *Psychoneuroendocrinology*, 141, 105776. <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2022.105776>
- Blanchard, D. C., Griebel, G., & Blanchard, R. J. (2001). Mouse defensive behaviors: Pharmacological and behavioral assays for anxiety and panic. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 25(3), 205–218. [https://doi.org/10.1016/S0149-7634\(01\)00009-4](https://doi.org/10.1016/S0149-7634(01)00009-4)
- Blanchard, D. C., Hynd, A. L., Minke, K. A., Minemoto, T., & Blanchard, R. J. (2001). Human defensive behaviors to threat scenarios show parallels to fear- and anxiety-related defense patterns of non-human mammals. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 25(7–8), 761–770. [https://doi.org/10.1016/S0149-7634\(01\)00056-2](https://doi.org/10.1016/S0149-7634(01)00056-2)
- Blanchard, R. J., & Blanchard, D. C. (1989). Attack and defense in rodents as ethoexperimental models for the study of emotion. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*, 13(Suppl), S3–S14. [https://doi.org/10.1016/0278-5846\(89\)90105-X](https://doi.org/10.1016/0278-5846(89)90105-X)
- Blanchard, R. J., Blanchard, D. C., Rodgers, J., & Weiss, S. M. (1990). The characterization and modelling of antipredator defensive behavior. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 14(4), 463–472. [https://doi.org/10.1016/S0149-7634\(05\)80069-8](https://doi.org/10.1016/S0149-7634(05)80069-8)
- Blanchard, R. J., Blanchard, D. C., & Takahashi, L. K. (1977). Reflexive fighting in the albino rat: Aggressive or defensive behavior? *Aggressive Behavior*, 3(2), 145–155. [https://doi.org/10.1002/1098-2337\(1977\)3:2145::AID-AB2480030205>3.0.CO;2-L](https://doi.org/10.1002/1098-2337(1977)3:2145::AID-AB2480030205>3.0.CO;2-L)

Bolles, R. C., & Fanselow, M. S. (1980). A perceptual-defensive-recuperative model of fear and pain. *Behavioral and Brain Sciences*, 3(2), 291–301.

<https://doi.org/10.1017/S0140525X0000491X>

Castro-Gomes, V., Hassan, W., Maisonnette, S., Johnson, L. R., Ramos, A., & Landeira-Fernandez, J. (2013). Behavioral evaluation of eight rat lines selected for high and low anxiety-related responses. *Behavioural Brain Research*, 257, 39–48.

<https://doi.org/10.1016/j.bbr.2013.09.028>

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

Castro-Gomes, V., Silva, C., & Landeira-Fernandez, J. (2011). The Carioca High and Low Conditioned Freezing Lines: A new animal model of generalized anxiety disorder. In *Anxiety Disorders* (pp. 1–17). InTechOpen. <https://doi.org/10.5772/23598>

Cruz, A. P. M., Castro-Gomes, V., & Landeira-Fernandez, J. (2024). An animal model of trait anxiety: Carioca high freezing rats as a model of generalized anxiety disorder. *Personality Neuroscience*, 7, e6. <https://doi.org/10.1017/pen.2023.6>

Deschênes, S. S., Dugas, M. J., & Gouin, J. P. (2012). Intolerance of uncertainty and anger in generalized anxiety disorder. *Cognitive Behaviour Therapy*, 41(2), 91–101. <https://doi.org/10.1080/16506073.2011.632438>

Fanselow, M. S. (1980). Conditional and unconditional components of post-shock freezing. *Pavlovian Journal of Biological Science*, 15(4), 177–182. <https://doi.org/10.1007/BF03001163>

Fanselow, M. S. (1994). Neural organization of the defensive behavior system responsible for fear. *Psychonomic Bulletin & Review*, 1(4), 429–438. <https://doi.org/10.3758/BF03210947>

Fanselow, M. S., & Lester, L. S. (1988). A functional behavioristic approach to aversively motivated behavior: Predatory imminence as a determinant of the topography of defensive behavior. In R. C. Bolles & M. D. Beecher (Eds.), *Evolution and Learning* (pp. 185–212). Lawrence Erlbaum Associates.

Fendt, M., & Fanselow, M. S. (1999). The neuroanatomical and neurochemical basis of conditioned fear. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 23(5), 743–760.
[https://doi.org/10.1016/S0149-7634\(99\)00016-0](https://doi.org/10.1016/S0149-7634(99)00016-0)

Gray, J. A., & McNaughton, N. (2000). The neuropsychology of anxiety: An enquiry into the functions of the septo-hippocampal system (2nd ed.). Oxford University Press.

Hennessy, M. B., Kaiser, S., & Sachser, N. (2009). Social buffering of the stress response: Diversity, mechanisms, and functions. *Frontiers in Neuroendocrinology*, 30(4), 470–482.
<https://doi.org/10.1016/j.yfrne.2009.06.001>

Hostinar, C. E., Sullivan, R. M., & Gunnar, M. R. (2014). Psychobiological mechanisms underlying the social buffering of the hypothalamic–pituitary–adrenocortical axis: A review of animal models and human studies across development. *Psychological Bulletin*, 140(1), 256–282. <https://doi.org/10.1037/a0032671>

Lages, Y. V., Balthazar, L., Krahe, T. E., & Landeira-Fernandez, J. (2023). 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., Maisonneuve, 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, 173296. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2021.173296>

Laposa, J. M., Collimore, K. C., Hawley, L. L., Rector, N. A., & Antony, M. M. (2019). Anger in generalized anxiety disorder: Differentiating state and trait anger and the role of emotion regulation. *Journal of Anxiety Disorders*, 68, 102148.

<https://doi.org/10.1016/j.janxdis.2019.102148>

Laposa, J. M., & Fracalanza, K. (2019). Does intolerance of uncertainty mediate improvement in anger during group CBT for GAD? A preliminary investigation. *Behavioural and Cognitive Psychotherapy*, 47(5), 585–593.

<https://doi.org/10.1017/S1352465819000249>

Landeira-Fernandez, J. (1996). Context and Pavlovian conditioning. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 29(2), 149–173.

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>

Macêdo-Souza, C., Maisonneuve, 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, 285.

<https://doi.org/10.3389/fnbeh.2019.00285>

McNaughton, N., & Corr, P. J. (2004). A two-dimensional neuropsychology of defense: Fear/anxiety and defensive distance. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 28(3), 285–305. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2004.03.005>

Miczek, K. A., de Almeida, R. M. M., Kravitz, E. A., Rissman, E. F., de Boer, S. F., & Raine, A. (2007). Neurobiology of escalated aggression and violence. *The Journal of Neuroscience*, 27(44), 11803–11806. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3500-07.2007>

Morozov, A. (2018). Behavioral modulation by social experiences in rodent models. *Current Protocols in Neuroscience*, 84(1), e50. <https://doi.org/10.1002/cpns.50>

Musser, E. D., & Nigg, J. T. (2013). Emotion dysregulation across emotion systems in attention-deficit/hyperactivity disorder. *Clinical Psychology Review*, 33(6), 849–860.

<https://doi.org/10.1016/j.cpr.2013.07.008>

Peçanha, A., Maisonnnette, S., Cruz, A. P. M., Filgueiras, C. C., Krahe, T. E., & Landeira-Fernandez, J. (2024). The impact of social isolation on depression-like behavior in Carioca high- and low-conditioned freezing rats. *Social Neuroscience*, 19(4), 287–295.

<https://doi.org/10.1080/17470919.2024.2432657>

Peçanha, A., Silveira, B., Krahe, T. E., & Landeira-Fernandez, J. (2025). Can social isolation alleviate symptoms of anxiety and depression disorders? *Frontiers in Psychiatry*, 16, 1561916. <https://doi.org/10.3389/fpsyg.2025.1561916>

Salviano, C. B., Macêdo-Souza, C., Landeira-Fernandez, J., & Maisonnnette, S. S. (2014). Sex differences in contextual fear conditioning in Carioca high- and low-conditioned freezing rats. *Behavioural Processes*, 107, 31–36.

<https://doi.org/10.1016/j.beproc.2014.07.002>

Takahashi, L. K., & Blanchard, R. J. (1978). Shock and defensive fighting in the rat. *Bulletin of the Psychonomic Society*, 12(3), 211–213.

<https://doi.org/10.3758/BF03329673>

Ulrich, R. E., & Azrin, N. H. (1962). Reflexive fighting in response to aversive stimulation. *Journal of the Experimental Analysis of Behavior*, 5(4), 511–520.

<https://doi.org/10.1901/jeab.1962.5-511>

Zambetti, P. R., Schuessler, B. P., Lecamp, B. E., Shin, A., Kim, E. J., & Kim, J. J. (2022). Ecological analysis of Pavlovian fear conditioning in rats. Communications Biology, 5(1), 830. <https://doi.org/10.1038/s42003-022-03802-1>

Figure caption

Figure 1- Mean (\pm SEM) percentage of defensive behaviors (freezing and fighting) displayed by Carioca High-Conditioned Freezing (CHF), Control (CTL), and Low-Conditioned Freezing (CLF) rat lines during the shock-induced defensive fight test. CHF rats predominantly exhibited freezing, CTL rats showed a balanced distribution between freezing and defensive fighting, and CLF rats displayed markedly reduced levels of both responses.

