

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE EDUCAÇÃO E CIÊNCIAS HUMANAS
GRADUAÇÃO EM PSICOLOGIA

**EFEITOS DA META-CLOROFENILPIPERAZINA (mCPP) AVALIADOS NO TESTE
DE CATALEPSIA EM RATOS MACHOS E FÊMEAS**

Aline Daiany Calerá

São Carlos
Setembro, 2022

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE EDUCAÇÃO E CIÊNCIAS HUMANAS
GRADUAÇÃO EM PSICOLOGIA

**EFEITOS DA META-CLOROFENILPIPERAZINA (mCPP) AVALIADOS NO TESTE
DE CATALEPSIA EM RATOS MACHOS E FÊMEAS**

Aline Daiany Calerá

Monografia apresentada ao curso de Graduação em
Psicologia da Universidade Federal de São Carlos.

Orientação: Profa. Dra. Amanda Ribeiro de Oliveira
Coorientação: Dr. Adriano Edgar Reimer

São Carlos
Setembro, 2022

APOIO FINANCEIRO

O presente trabalho foi financiado pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), por meio do fornecimento de Bolsa de Iniciação Científica (PIBIC). As opiniões, hipóteses e conclusões ou recomendações expressas neste material são de responsabilidade dos autores e não necessariamente refletem a visão do CNPq.

Agradecimentos

Agradeço...

A minha família, em especial meus pais que não tiveram oportunidade de estudo e fazem de tudo para que eu tenha. Ao meu irmão, que se esforça para me ajudar, e me manter na universidade fornecendo todo o apoio necessário.

A professora Amanda, por toda a paciência, atenção e dedicação durante todo o processo de orientação da minha monografia. Muito obrigada, por ser uma ótima orientadora sempre disponível a me guiar e esclarecer todas as minhas dúvidas, me proporcionando muitos aprendizados e sendo uma inspiração na área acadêmica.

Ao Adriano, por toda a paciência e disposição em me mostrar como funcionam as coisas no laboratório, tirando todas as minhas dúvidas e me auxiliando em todo o processo de coleta e análise de resultados. Muito obrigada pela atenção e dedicação.

Às demais colegas de laboratório, por me auxiliarem nos primeiros passos guiando o meu aprendizado dos procedimentos laboratoriais necessários, e a disposição de passar informações e elucidar dúvidas.

Aos meus amigos, em especial minha amiga Angie por me ouvir e me apoiar diante dos meus maiores desafios pessoais e acadêmicos. Ao Stepherson por ouvir meus desabafos e me apoiar tanto, mesmo estando longe. Ao João por me acolher, nas dificuldades enfrentadas na reta final dessa pesquisa.

Ao CNPq pelo apoio financeiro e valorização da pesquisa, e a oportunidade de aprendizado e desenvolvimento proporcionado pela pesquisa.

Por fim, agradeço a todos que de forma direta ou indireta me ajudaram a chegar até aqui, para que eu pudesse me desenvolver tanto no âmbito pessoal quanto acadêmico.

Resumo

A meta-clorofenilpiperazina (mCPP) é uma droga sintética agonista não seletiva dos receptores serotoninérgicos, que tem sido utilizada no estudo de diversas psicopatologias como, por exemplo, o Transtorno Obsessivo-Compulsivo (TOC). Nesses estudos, a administração da mCPP têm demonstrado efeitos motores de aumento ou diminuição da atividade locomotora em animais de forma dose dependente e devido, provavelmente, a uma interação entre os receptores serotoninérgicos 5-HT_{2C} e sua regulação da neurotransmissão dopaminérgica. Alguns estudos realizados com fêmeas têm apresentado uma possível influência do ciclo estral nos efeitos causados pela mCPP. Entretanto, ainda que estudos demonstrem possíveis distinções sexuais também nos efeitos motores causados pela mCPP, é necessário que sejam realizados mais estudos com fêmeas para compreender melhor tais diferenças. Deste modo, o objetivo do presente estudo foi avaliar se a mCPP induz catalepsia em ratos *Wistar*, e verificar se existem diferenças nos resultados apresentados entre ratos machos e fêmeas, estas em diferentes fases do ciclo estral. Para isso, foram utilizados ratos *Wistar*, sendo 72 machos e 77 fêmeas, pesando aproximadamente 250 g. Os animais receberam salina (controle) ou mCPP nas doses de 0,1 mg/kg, 1,0 mg/kg, 3,0 mg/kg e 10 mg/kg, e o grupo controle positivo recebeu haloperidol (antagonista dopaminérgico de receptores do tipo D₂) na dose de 1,0 mg/kg. Após a administração, a cada 10 min, foi realizado um teste de catalepsia, totalizando 6 testes. A administração de haloperidol foi capaz de induzir catalepsia tanto em machos quanto em fêmeas. O efeito cataléptico do haloperidol foi dependente da fase do ciclo estral nas fêmeas, ou seja, foi observado nas fêmeas em metaestro/diestro, mas não naquelas testadas em proestro/estro. A administração de mCPP, por outro lado, não causou catalepsia em machos ou em fêmeas, independente da fase do ciclo estral. Os resultados obtidos com a mCPP sugerem que as alterações motoras observadas em estudos anteriores são distintas daquelas que caracterizam os estados catalépticos. Tais achados são importantes no contexto de utilização da mCPP para o estudo do TOC, e indicam que a avaliação de comportamentos do tipo compulsivo induzidos pela mCPP não seria prejudicada por efeitos catalépticos induzidos pelo fármaco.

Palavras-chave: modelo animal, efeito motor, serotonina, receptor 5-HT_{2c}, Transtorno Obsessivo-Compulsivo.

Sumário

1. Introdução	7
2. Objetivos	9
3. Material e Métodos	11
3.1. Sujeitos	11
3.2. Determinação das fases do ciclo estral	11
3.3. Drogas	12
3.4. Teste de catalepsia	13
3.4.1 Equipamento	13
3.4.2 Procedimentos	13
3.5. Delineamento experimental	14
3.6. Análise de dados	15
4. Resultados	16
5. Discussão	21
6. Referências Bibliográficas	24

1. Introdução

A meta-clorofenilpiperazina (mCPP) é uma droga sintética agonista não seletiva dos receptores serotoninérgicos. Por possuir efeitos subjetivos parecidos com drogas como a 3,4-metilenodioximetanfetamina (MDMA), chegou a ser utilizada como droga de abuso (Tancer & Johanson, 2001). Contudo, a mCPP tem sido muito utilizada em diversos estudos de psicopatologias como o Transtorno Obsessivo-Compulsivo (TOC), ansiedade e esquizofrenia (Kahn et al., 1992; Khanna et al., 2001; Sant’Ana et al., 2019).

O TOC, é caracterizado por obsessões – pensamentos, impulsos ou imagens vivenciadas de forma insistente e indesejada, e compulsões – comportamentos repetitivos realizados pelo indivíduo na tentativa de aliviar o desconforto advindo das obsessões (American Psychiatric Association, 2014). No estudo desse transtorno em modelo animal não é possível reproduzir as obsessões, no entanto, em modelos farmacológicos, é possível induzir comportamentos tipo-compulsivos que são similares aos observados no quadro sintomático em humanos (Albelda & Joel, 2012). Dessa forma, a mCPP tem demonstrado, através da sua afinidade com receptores serotoninérgicos, ser capaz de induzir comportamentos como mastigação sem finalidade e autolimpeza, que em estudos anteriores forem associados aos receptores 5-HT_{2C} (Graf et al., 2003; Kreiss et al., 2013; Stewart et al., 1989).

A mCPP apresenta uma grande afinidade com diversos receptores serotoninérgicos, tendo como um destaque sua alta afinidade pelos receptores 5-HT_{2C}, principal responsável pelos efeitos fisiológicos promovidos pela administração da mCPP (Fiorella et al., 1995). Apesar de sua ação mais potente ser nos receptores serotoninérgicos, alguns estudos demonstraram que a mCPP, em doses mais altas, apresenta afinidade para outros receptores, como os alfa-adrenérgicos, bem como, o aumento do ácido homovanílico e sulfato de 3-metoxi-4-hidroxifenoletilenoglicol, o que indica um efeito adicional sobre as neurotransmissões dopaminérgica e noradrenérgica (Hamik & Peroutka, 1989).

Ainda sobre a interação da mCPP com neurotransmissores, alguns estudos apontam para uma interação entre os receptores serotoninérgicos 5-HT_{2C} e a dopamina. Em Pozzi e colaboradores (2002), a estimulação de receptores 5-HT_{2C} não teve efeito sobre

a dopamina extracelular basal no córtex pré-frontal, enquanto o bloqueio desses mesmos receptores aumentou a dopamina extracelular, indicando que receptores 5-HT_{2C} localizados na área tegmental ventral exercem a regulação da dopamina mesocortical. Em Alex e colaboradores (2005), a mCPP conseguiu reverter o efeito hiperlocomotor causado por um agonista inverso para os receptores 5-HT_{2C}, diminuindo a dopamina e conseqüentemente a hiperlocomoção, ou seja, o tratamento sistêmico com mCPP reduziu a dopamina no estriado causando a redução da locomoção.

Deste modo, a administração da mCPP pode gerar efeitos motores de aumento ou diminuição da atividade dos animais. Em estudo recente, a mCPP produziu déficits motores importantes em ratos *Wistar* pré-tratados com apomorfina, um agonista dos receptores dopaminérgicos D1 e D2, contribuindo para a hipótese de que os receptores 5-HT_{2C} interagem com a dopamina (Zafar et al., 2019). No entanto, a mCPP não causou efeito hipolocomotor em ratos selvagens, enquanto induziu um forte aumento na atividade motora em ratos geneticamente modificados para não possuírem os receptores 5-HT_{2C} (Fletcher et al., 2009).

Tais efeitos, aparentemente contraditórios, podem ser explicados não somente pelas diferenças de condições experimentais e espécies utilizadas, mas também, pela complexa relação entre a ativação dos diversos subtipos de receptores serotoninérgicos. Apesar do envolvimento dos receptores 5-HT_{2C} na hipolocomoção, e de estudos demonstrando a ativação dos receptores 5-HT_{1A} e 5-HT_{1B} relacionados à hiperlocomoção (Gleason & Shannon, 1998), as interações subjacentes aos efeitos locomotores da administração da mCPP têm se mostrado mais complexas. Visto que, embora a estimulação do receptor 5-HT_{1B} seja essencial para a hiperatividade, ele sozinho não é suficiente para aumentar a atividade nesses animais. A hiperatividade depende da estimulação simultânea dos receptores 5-HT_{1A} e 5-HT_{1B} os quais dependem dos receptores 5-HT_{2C} (Dalton et al., 2004).

Quando os receptores 5-HT_{1A} e 5-HT_{1B} são ativados simultaneamente, a estimulação sobre os receptores 5-HT_{2C} predomina, causando uma diminuição da atividade. Se a influência destes receptores é enfraquecida seja por alteração genética ou pré-tratamento com um antagonista, os receptores 5-HT_{1B} são estimulados resultando no aumento da atividade (Heisler & Tecott, 2000). Em suma, muitos estudos revelam os efeitos hiperlocomotores nos animais com a administração da mCPP, enquanto outros revelam a diminuição da atividade locomotora, sendo necessário mais

investigações para esclarecer se esses efeitos motores estão relacionados a espécie, doses ou outras condições experimentais utilizadas.

Adicionalmente, alguns estudos realizados com fêmeas têm apresentado uma possível influência do ciclo estral nos efeitos causados pela mCPP. Foi observada uma redução na retenção da extinção em ratas *Sprague-Dawley* tendo efeitos mais pronunciados nas fases de metaestro/diestro, o que sugere que mudanças dos hormônios sexuais podem interagir com os receptores serotoninérgicos e contribuir para o déficit na extinção do medo (Reimer et al., 2018). Em outro estudo, a mCPP em ratas *Wistar* causou uma significativa diminuição da atividade exploratória no campo aberto, independente da fase do ciclo, com doses maiores que 0,5 mg/kg (Silva, 2020). Ainda que tais estudos demonstrem possíveis distinções sexuais nos efeitos causados pela mCPP, é necessário que sejam realizados mais investigações com fêmeas para melhor compreender tais diferenças.

A fim de contribuir para o entendimento do impacto motor decorrente da administração da mCPP, foi utilizado neste presente estudo o teste de catalepsia. Este teste consiste em posicionar as patas dianteiras do animal em uma barra horizontal enquanto as patas traseiras permanecem no assoalho, sendo essa uma posição incomum e desconfortável para o animal; mede-se, então, a latência que o animal levará para desfazer esta posição (Waku et al., 2021). Em grande parte dos estudos a catalepsia é induzida por haloperidol, um antagonista dos receptores dopaminérgicos D2; seu bloqueio em tais receptores resulta no estado cataléptico mostrando sua associação com o comportamento motor (Barroca et al., 2019; Colombo et al., 2013; Waku et al., 2022). O teste de catalepsia é, portanto, muito utilizado para estudos dos efeitos motores, sendo amplamente empregado em modelos animais para o estudo da doença de Parkinson (Sanberg et al., 1988; Waku et al., 2021).

Tendo em vista os achados anteriormente apresentados, o presente estudo teve como propósito avaliar os possíveis efeitos motores causados pela administração da mCPP em diferentes doses em ratos machos e fêmeas por meio do teste de catalepsia, avaliando o tempo que os animais levam para desfazer a posição imposta. Esperava-se que a mCPP, principalmente em doses maiores, seria capaz de promover um déficit motor nos ratos em ambos os sexos, mas com um efeito mais pronunciado nas fêmeas.

2. Objetivos

O objetivo do presente estudo é avaliar se a meta-clorofenilpiperazina (mCPP) induz catalepsia em ratos *Wistar*. Mais especificamente, pretende-se observar os efeitos da administração da mCPP, em diferentes doses, sobre o tempo para retirada das patas no teste de catalepsia e verificar se existem diferenças nos resultados apresentados entre ratos machos e fêmeas.

3. Material e Métodos

3.1. Sujeitos

Para este estudo foram utilizados 149 ratos *Wistar*, sendo 72 machos e 77 fêmeas, pesando aproximadamente 250 g. Os animais foram obtidos através do biotério central da Universidade Federal de São Carlos (UFSCar), *campus* São Carlos. Os animais ficaram acomodados em grupos de 4, em caixas de polipropileno (30 x 32 x 18 cm), forradas com maravalha, com acesso livre a água e alimento. Foram mantidos no biotério setorial do Laboratório de Psicologia da Aprendizagem (LPA) do Departamento de Psicologia da UFSCar, sob ciclo claro/escuro de 12 x 12 h com o período claro iniciando às 7:00 h da manhã. Todos os experimentos foram realizados durante a fase clara do ciclo. Os sujeitos foram transportados individualmente para a sala de experimentação com o uso de uma caixa de polipropileno (30 x 20 x 13 cm) forrada com maravalha. Cada grupo experimental variou entre 10 a 14 animais. O presente experimento foi submetido para aprovação pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFSCar e encontra-se protocolado sob o nº 1921170621 (Anexo A). O estudo seguiu as recomendações do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA).

3.2. Determinação das fases do ciclo estral

Nas fêmeas, foi realizado esfregaço vaginal diariamente pela tarde para verificar o ciclo estral das ratas. Para tal fim, foi utilizado um cotonete umedecido com solução fisiológica para coleta de amostras do tecido epitelial vaginal que foram colocadas em lâminas de microscopia e coloridas com Panótico Rápido (Laborclin Ltda., Brasil) (Reimer et al., 2018). Após secagem, as lâminas foram avaliadas em microscópio óptico com um aumento de 40x para a observação do tecido epitelial das ratas e identificação da fase do ciclo estral. Para a determinação do ciclo, foi realizada a diferenciação das células observadas: células nucleadas e bem formadas caracterizam a fase de proestro; células escamosas, cornificadas e anucleadas predominam na fase de estro; a presença de pequenos leucócitos mais escurecidos e em pequena proporção caracteriza o

metaestro; tecido com leucócitos predominantes corresponde a fase de diestro (McLean et al., 2012).

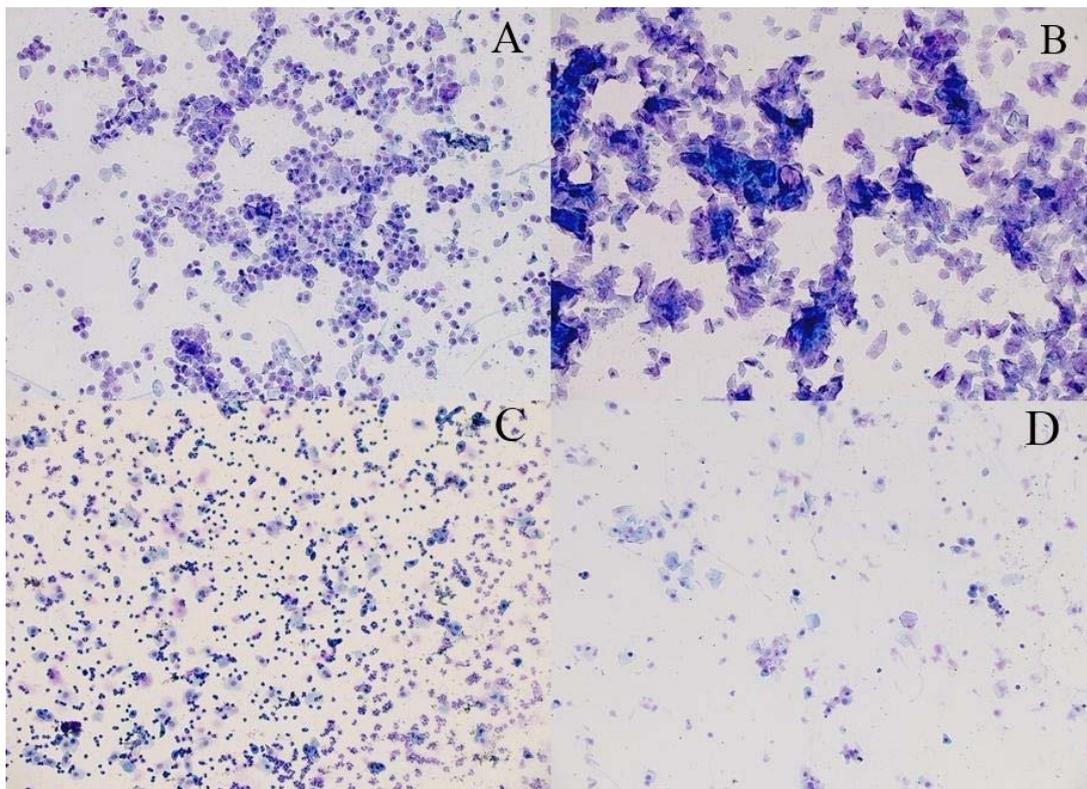


Figura 1. Fotomicrografias ilustrativas da aparência citológica característica das fases do ciclo estral de ratas. (A) proestro, (B) estro, (C) metaestro e (D) diestro. Fonte: Do próprio autor.

3.3. Drogas

Nos grupos experimentais, a droga utilizada foi a meta-clorofenilpiperazina (mCPP), um agonista não seletivo dos receptores de serotonina, administrada intraperitonealmente (i.p). A mCPP foi dissolvida em salina fisiológica (0,9%) antes do uso. As doses utilizadas foram: 0,1 mg/kg; 1,0 mg/kg; 3,0 mg/kg e 10 mg/kg, administradas em volume constante de 1,0 ml/kg. O grupo controle recebeu volume equivalente de salina fisiológica. Para o grupo controle positivo foi administrado haloperidol, um neuroléptico (antagonista de receptores dopaminérgicos do tipo D2) capaz de induzir a catalepsia, na dose de 1,0 mg/kg. O haloperidol também foi dissolvido em salina fisiológica (0,9%) antes do uso. A administração, para todos os grupos, foi realizada 10 min antes da realização do primeiro teste de catalepsia. As doses das drogas foram selecionadas com base em estudos prévios (Barroca et al., 2019; Colombo et al., 2013; Reimer et al., 2018; Silva, 2020; Waku et al., 2022).

3.4. Teste de catalepsia

3.4.1 Equipamento

O teste de catalepsia foi realizado em uma caixa experimental de polipropileno medindo 30 x 32 x 18 cm, aberta na parte superior, e em uma de suas laterais encontra-se uma barra horizontal de acrílico, elevada a 8 cm do assoalho, com 30 cm de comprimento e 1 cm de diâmetro.



Figura 2. Fotografia da caixa utilizada no teste de catalepsia. Fonte: Do próprio autor.

3.4.2 Procedimentos

Os animais receberam salina, mCPP ou haloperidol, sendo formados 6 grupos para machos e 6 grupos para fêmeas: Controle (salina), mCPP 0,1 mg/kg, mCPP 1,0 mg/kg, mCPP 3,0 mg/kg, mCPP 10 mg/kg e Haloperidol 1,0 mg/kg. Cada um dos grupos teve entre 10 a 14 animais.

Após a administração i.p., a cada 10 min, foi realizado um teste de catalepsia, totalizando 6 testes. O teste de catalepsia consiste em posicionar o animal com as patas dianteiras na barra transversal elevada a 8 cm do assoalho da caixa, com as patas traseiras permanecendo no assoalho. A latência que o animal levou para desfazer a posição foi cronometrada. O tempo máximo de permanência na barra foi limitado a 3 min, quando este período foi atingido a contagem foi cessada e o animal foi retirado da barra. Durante o intervalo entre um teste e outro, observou-se a movimentação do animal, a fim de analisar a apresentação de possíveis efeitos motores no decurso entre

os testes. Para isso foi realizada a filmagem destes intervalos com o auxílio de uma câmera.

3.5. Delineamento experimental

Os animais, ao chegarem ao biotério setorial do LPA, permaneceram por pelo menos 3 dias em habituação antes do início das manipulações. Em seguida, durante 14 dias antes da realização do experimento, realizou-se a checagem do ciclo estral nas fêmeas e manipulação equivalente dos machos. Posteriormente, os sujeitos foram divididos em grupos, sendo 6 grupos de machos e 6 grupos de fêmeas, totalizando 149 animais. Cada grupo experimental recebeu uma dose de mCPP podendo estas serem de: 0,1 mg/kg; 1,0 mg/kg; 3,0 mg/kg e 10 mg/kg. Cada grupo controle positivo recebeu haloperidol na dose de 1,0 mg/kg. Volume equivalente de salina foi administrado para os grupos controles. Após 10 min da administração, os animais realizaram um teste de catalepsia a cada 10 min, o que totalizou ao final do experimento 6 testes. Em cada um destes testes, a latência para desfazer a posição imposta ao animal foi cronometrada. O tempo máximo de permanência na barra foi de 3 min, após este prazo o animal foi retirado da caixa experimental e levado de volta a sua acomodação.

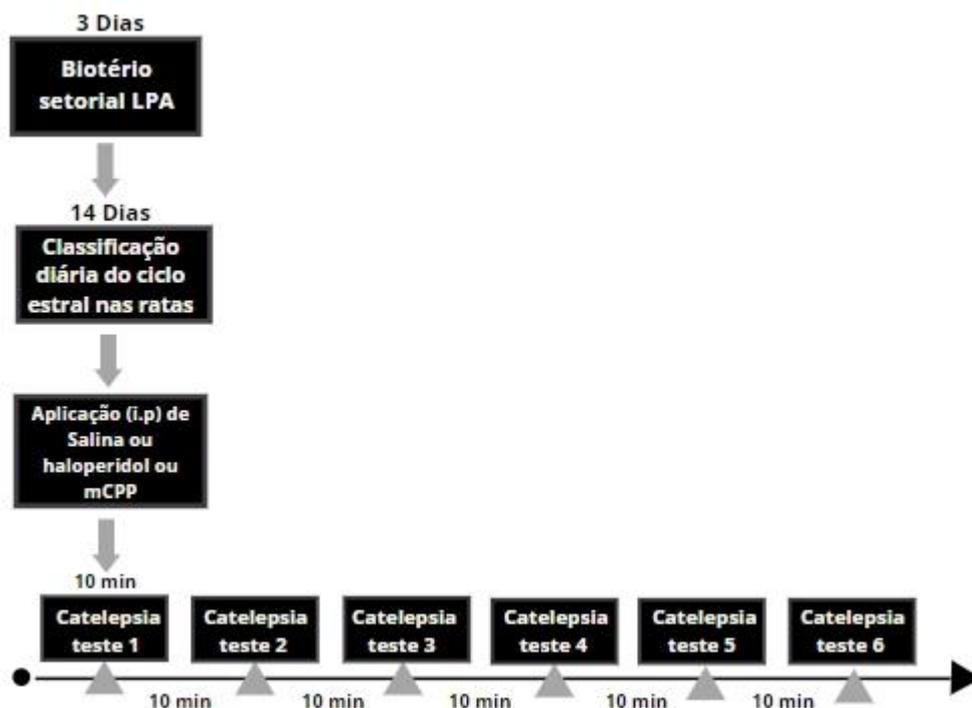


Figura 3. Delineamento experimental.

3.6. Análise de dados

Todas as análises foram realizadas usando R versão 4.0.5 (R Core Team, 2020) e Rstudio versão 1.4.1717 (RStudio Team, 2020). Antes do ajuste do modelo, avaliamos a distribuição de cada variável de resposta usando o pacote *fitdistrplus* versão 1.1-8 (Delignette-Muller & Dutang, 2015); as distribuições de melhor ajuste foram usadas nos modelos correspondentes. Para avaliar a latência para descida da barra no teste de catalepsia, foram utilizados modelos lineares generalizados mistos (GLMMs) com função de ligação logit e distribuições beta; Tratamento (Salina, Haloperidol 1,0 mg e mCPP 0,1; 1,0; 3,0 e 10 mg), Tempo (10, 20, 30, 40, 50 e 60 min pós-tratamento) e Fase do Ciclo (metaestro-diestro ou proestro-estro) foram utilizados como fatores fixos. O ajuste do modelo foi realizado com o pacote *glmmTMB* versão 1.1.3 (Brooks et al., 2017). Os testes de razão de verossimilhança foram realizados usando o pacote *car* versão 3.1-0 (Fox & Weisberg, 2019), e as comparações par a par foram testadas usando o pacote *emmeans* 1.7.0 (Lenth, 2021).

4. Resultados

A figura 4 apresenta os resultados referentes a latência para retirada das patas no teste de catalepsia após a administração i.p. de salina ou de haloperidol na dose de 1,0 mg/kg em todos os tempos de tratamento. O tratamento com haloperidol 1 mg/kg foi capaz de induzir catalepsia durante o teste (Fig. 4). A análise de variância com base na regressão beta revelou efeito estatisticamente significativo para os fatores Tratamento ($\chi^2 = 11,93$, $p < 0,05$) e Tempo ($\chi^2 = 22,62$, $p < 0,05$), mas não para a interação entre os fatores Tratamento x Tempo ($p > 0,05$). Além disso, o tratamento com haloperidol causou catalepsia tanto nos ratos machos (Fig. 5A, Tratamento: $\chi^2 = 7,23$ $p < 0,05$), quanto nas fêmeas (Fig. 5B, Tratamento: $\chi^2 = 6,20$, $p < 0,05$). Quando as fêmeas foram separadas de acordo com as fases do ciclo estral, verificamos que o haloperidol foi capaz de induzir catalepsia nas fêmeas em metaestro/diestro (Fig.6, Tratamento: $\chi^2 = 10,15$, $p < 0,05$), mas não nas fêmeas em proestro/estro (Fig. 7, Tratamento: $p > 0,05$).

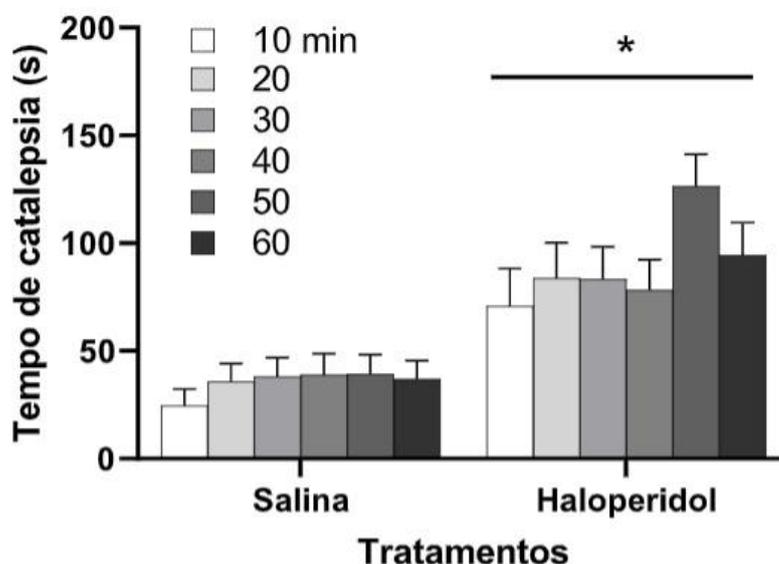


Figura 4. Efeitos da administração i.p. de Salina ou Haloperidol na dose de 1,0 mg/kg sobre a latência para retirada das patas no teste de catalepsia, nos tempos 10, 20, 30, 40, 50 e 60 minutos após administração. * Significância estatística em relação ao grupo salina. ($p < 0,05$). Salina $n = 27$; Haloperidol 1,0 mg/kg $n = 23$.

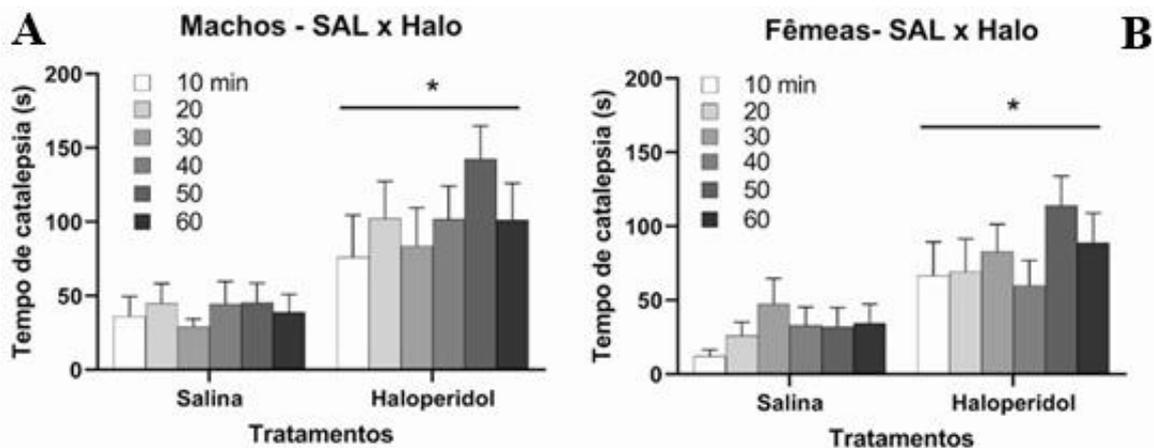


Figura 5. Efeitos da administração i.p. de Salina ou Haloperidol na dose de 1,0 mg/kg sobre a latência para retirada das patas no teste de catalepsia, em machos (A) e fêmeas (B), nos tempos 10, 20, 30, 40, 50 e 60 minutos após administração. * Significância estatística em relação ao grupo salina ($p < 0,05$). Machos: Salina $n = 14$, Haloperidol 1,0 mg/kg $n = 10$. Fêmeas: Salina $n = 13$, Haloperidol 1,0 mg/kg $n = 13$.

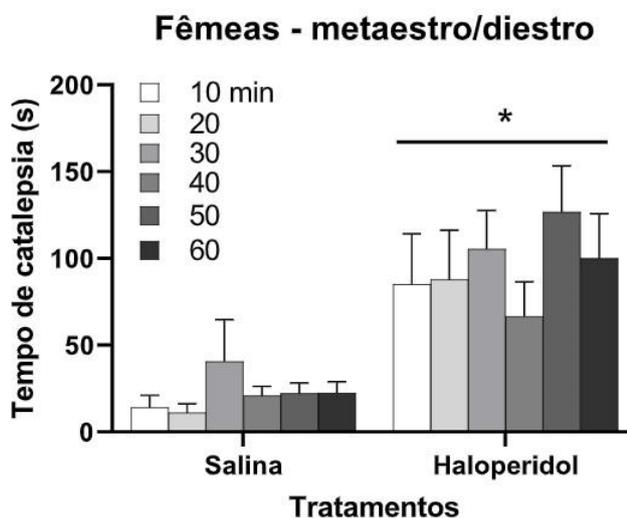


Figura 6. Efeitos da administração i.p. de Salina ou Haloperidol na dose de 1,0 mg/kg sobre a latência para retirada das patas no teste de catalepsia, em fêmeas em metaestro/diestro, nos tempos 10, 20, 30, 40, 50 e 60 minutos após administração. * Significância estatística em relação ao grupo salina ($p < 0,05$). Salina $n = 7$, Haloperidol 1,0 mg/kg $n = 8$.

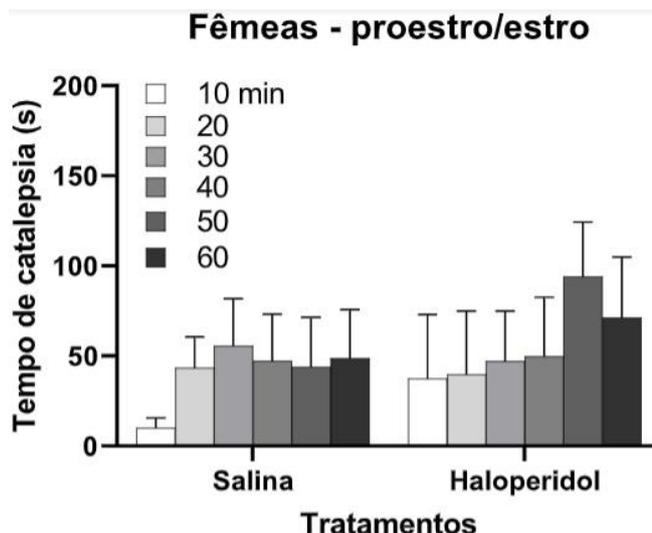


Figura 7. Efeitos da administração i.p. de Salina ou Haloperidol na dose de 1,0 mg/kg sobre a latência para retirada das patas no teste de catalepsia, em fêmeas em proestro/estro, nos tempos 10, 20, 30, 40, 50 e 60 minutos após administração. Salina n = 6, Haloperidol 1,0 mg/kg n = 5.

A figura 8 apresenta os resultados referentes à latência de retirada das patas no teste da catalepsia após a administração i.p. de Salina ou mCPP nas doses de 0,1 mg/kg; 1,0 mg/kg; 3,0 mg/kg e 10 mg/kg. O tratamento com as doses de mCPP 0,1 a 10 mg/kg não foi capaz de induzir catalepsia (Fig. 8). A análise de variância com base na regressão beta revelou efeito estatisticamente significativo para o fator Tempo ($\chi^2 = 12,66$, $p < 0,05$) e interação Tempo x Tratamento ($\chi^2 = 51,14$, $p < 0,05$), mas não para o fator Tratamento ($p > 0,05$). Nenhuma comparação par a par relevante revelou efeito significativo. Quando avaliados separadamente, os ratos machos não apresentaram catalepsia (Fig. 9A, Tratamento: $p > 0,05$), assim como as fêmeas (Fig. 9B, Tratamento: $p > 0,05$). Finalmente, quando as fêmeas foram separadas de acordo com as fases do ciclo estral, a mCPP em diferentes doses, foi incapaz de induzir catalepsia tanto nas ratas em metaestro/diestro (Fig. 10, Tratamento: $p > 0,05$), quanto nas ratas em proestro/estro (Fig. 11, Tratamento: $p > 0,05$).

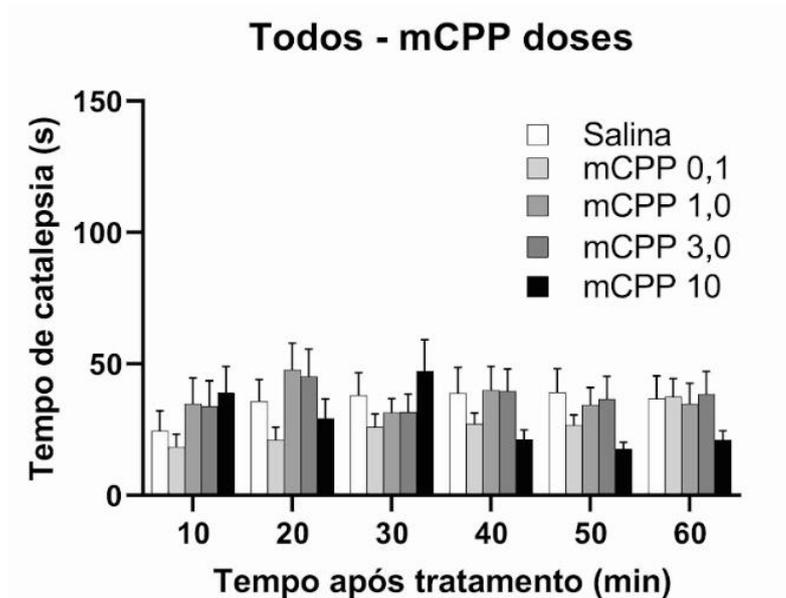


Figura 8. Efeitos da administração i.p. de Salina ou mCPP nas doses de 0,1 mg/kg; 1,0 mg/kg; 3,0 mg/kg e 10 mg/kg sobre a latência para retirada das patas no teste de catalepsia, nos tempos 10, 20, 30, 40, 50 e 60 minutos após administração. Salina n = 27; mCPP 0,1 mg/kg n = 24; mCPP 1,0 mg/kg n = 25; mCPP 3,0 mg/kg n = 26 e mCPP 10 mg/kg n = 24.

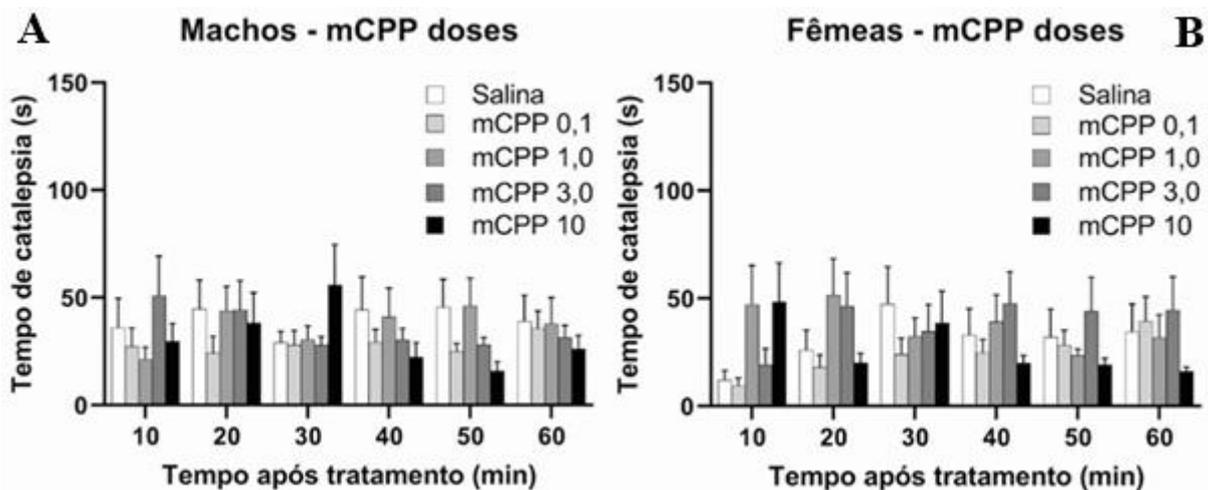


Figura 9. Efeitos da administração i.p. de Salina ou mCPP nas doses de 0,1 mg/kg; 1,0 mg/kg; 3,0 mg/kg e 10 mg/kg, em ratos machos (A) e fêmeas (B), sobre a latência para retirada das patas no teste de catalepsia, nos tempos 10, 20, 30, 40, 50 e 60 minutos após administração. Machos: Salina n = 14; mCPP 0,1 mg/kg n = 12; mCPP 1,0 mg/kg n = 12; mCPP 3,0 mg/kg n = 12 e mCPP 10 mg/kg n = 12. Fêmeas: Salina n = 13; mCPP 0,1 mg/kg n = 12; mCPP 1,0 mg/kg n = 13; mCPP 3,0 mg/kg n = 14 e mCPP 10 mg/kg n = 12.

Fêmeas - metaestro/diestro

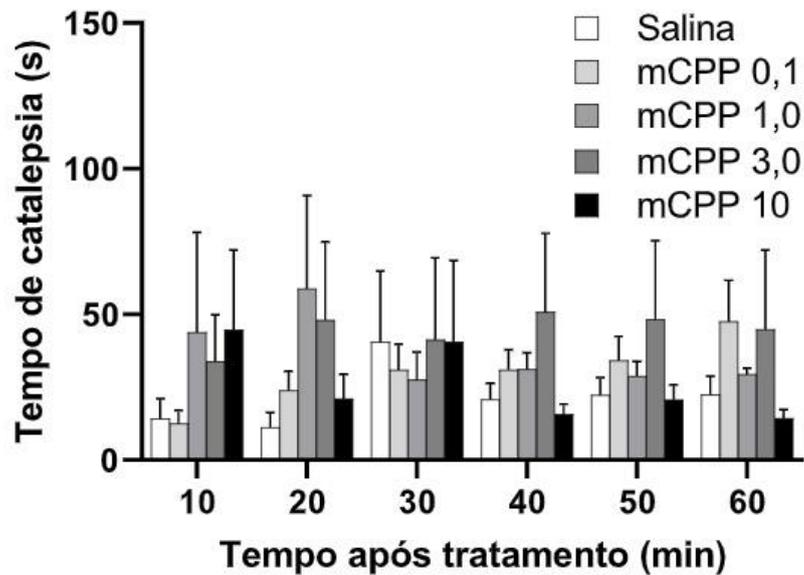


Figura 10. Efeitos da administração i.p. de Salina ou mCPP nas doses de 0,1 mg/kg; 1,0 mg/kg; 3,0 mg/kg e 10 mg/kg, em fêmeas em metaestro/diestro, sobre a latência para retirada das patas no teste de catalepsia, nos tempos 10, 20, 30, 40, 50 e 60 minutos após administração. Salina n = 7; mCPP 0,1 n = 9; mCPP 1,0 n = 5; mCPP 3,0 n = 6; mCPP 10 n = 6.

Fêmeas - proestro/estro

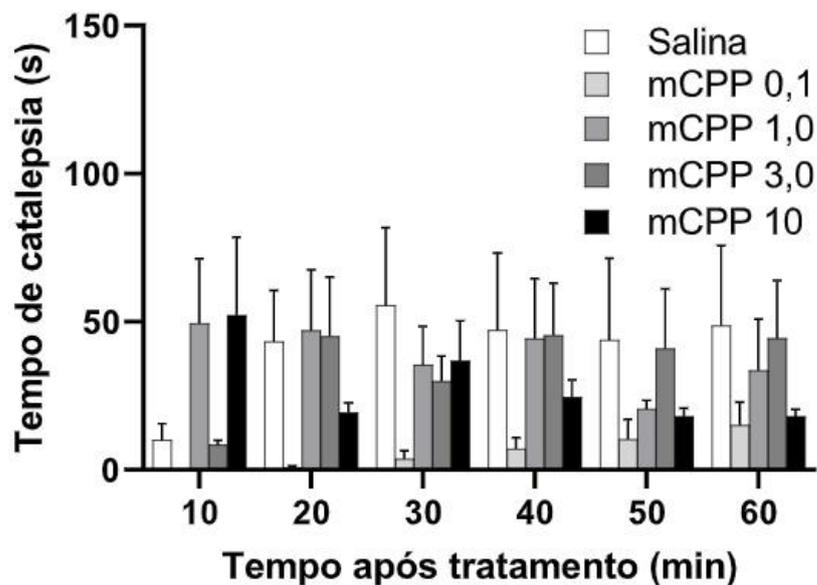


Figura 11. Efeitos da administração i.p. de Salina ou mCPP nas doses de 0,1 mg/kg; 1,0 mg/kg; 3,0 mg/kg e 10 mg/kg, em fêmeas em proestro/estro, sobre a latência para retirada das patas no teste de catalepsia, nos tempos 10, 20, 30, 40, 50 e 60 minutos após administração. Salina n = 5; mCPP 0,1 n = 3; mCPP 1,0 n = 8; mCPP 3,0 n = 8; mCPP 10 n = 6.

5. Discussão

O objetivo do presente estudo foi avaliar se a mCPP seria capaz de causar catalepsia, bem como, observar potenciais efeitos diferenciais em ratos machos e fêmeas. A hipótese inicial era que a mCPP em doses mais altas causaria um déficit motor em ambos os sexos, mas com efeito mais pronunciado em fêmeas. Ao contrário do esperado, a mCPP se demonstrou incapaz de causar catalepsia tanto em ratos machos quanto em fêmeas, mesmo nas doses mais altas. Já o haloperidol, utilizado como controle positivo, produziu o efeito esperado de indução de catalepsia em machos, além de produzir o mesmo efeito nas fêmeas.

O protocolo utilizado na metodologia deste estudo foi eficaz, visto que, os grupos tratados com haloperidol – utilizados como controle positivo – apresentaram catalepsia, conforme esperado. Tal fato demonstra a sensibilidade do presente teste em aferir possíveis efeitos catalépticos advindos da mCPP. De acordo com trabalhos anteriores realizados em nosso laboratório, o haloperidol demonstrou ser capaz de causar prejuízos na atividade motora, induzindo catalepsia significativa na dose de 1,0 mg/kg em machos (Colombo et al., 2013; Barroca et al., 2019; Waku et al., 2022).

Ainda no que se refere aos efeitos do haloperidol na indução da catalepsia, estes foram até o momento pouco explorados em fêmeas. Em nosso laboratório, nenhum estudo anterior avaliou a catalepsia induzida por haloperidol em fêmeas, tornando difícil a comparação com os resultados demonstrados neste estudo. No presente estudo, foi possível observar que o haloperidol proporcionou os mesmos efeitos catalépticos observados geralmente em machos, também nas fêmeas. Ainda, foi observado um efeito diferencial do haloperidol na indução de catalepsia em fêmeas, dependente da fase do ciclo estral. Ratas tratadas com haloperidol durante o metaestro/diestro ficaram catalépticas, diferentemente das fêmeas proestro/estro. Isso pode indicar que a flutuação hormonal pode afetar os efeitos do antagonismo D2 nas vias motoras.

Os efeitos da mCPP na indução de comportamentos homólogos ao TOC em ratos estão bem estabelecidos na literatura (Kahn et al., 1992; Albelda & Joel, 2012). No entanto, os efeitos da mCPP no comportamento motor necessitam de maiores estudos visto que alguns estudos demonstram que a mCPP pode diminuir a locomoção em ratos (Alex et al., 2005; Zafar et al., 2019; Fletcher et al., 2009), enquanto outros demonstram

um efeito de aumento da locomoção (Gleason & Shannon, 1998; Dalton et al., 2004 e Heisler & Tecott, 2000). Essa disparidade entre os efeitos pode advir da complexa interação entre neurotransmissores, como a serotonina e a dopamina, por exemplo.

Por ser um agonista não seletivo de serotonina a mCPP é capaz de interagir com diversos subtipos de receptores, mas com uma maior afinidade para os receptores do tipo 5-HT_{2C}, estes por sua vez, parecem estar envolvidos na regulação das funções serotoninérgicas e dopaminérgicas em diversas regiões encefálicas (Graf et al, 2003 e Reimer et al.,2018). Seus efeitos locomotores então, dependem de uma interação entre receptores 5-HT_{1A} e 5-HT_{1B}, que quando têm a influência dos receptores 5-HT_{2C} enfraquecida, causam o efeito de hiperlocomoção, enquanto, quando entram em ação os receptores 5-HT_{2C} estes se sobressaem causando o efeito de hipolocomoção (Heisler & Tecott, 2000). Com o envolvimento dos receptores 5-HT_{2C} também nas vias dopaminérgicas (Graf et al., 2003 e Alex et al., 2005), é provável que a dopamina nigroestriatal esteja sob controle inibitório pelos receptores 5-HT_{2C} localizados no estriado, o que conseqüentemente produziria um efeito motor (Alex et al., 2005).

Nesse sentido, em estudos anteriores realizados em nosso laboratório, a mCPP se demonstrou capaz de aumentar o tempo de autolimpeza, frequência de postura corporal plana, com déficits motores observados no labirinto e no campo aberto – principalmente em doses maiores como a de 3,0 mg/kg em machos (Taguchi, 2018; Kawaoku, 2017). Ademais, em outros estudos realizados no laboratório utilizando fêmeas, a mCPP demonstrou causar uma diminuição no desempenho na aprendizagem reversa, diminuição da autolimpeza nas fases metaestro/diestro, déficit motor no teste de alternância espontânea, diminuição da atividade exploratória, além de prejuízos na retenção da extinção do medo condicionado (Leite, 2022; Taguchi, 2021; Silva, 2020; Reimer et al., 2018). No presente estudo pudemos observar que, apesar dos efeitos motores relatados anteriormente, a mCPP não parece afetar o comportamento motor de forma a induzir catalepsia, tanto nos machos quanto nas fêmeas.

Em estudos realizados previamente, é possível constatar efeitos motores da mCPP avaliados em outros testes. No campo aberto, pode ser observada uma diminuição da frequência de cruzamentos e de levantamentos; como no estudo de Kennett & Curzon (1988), no qual estes efeitos ocorreram com as doses mais altas de mCPP (5,0 mg/kg e 10 mg/kg). Entretanto, em outro estudo, a mCPP causou os mesmos efeitos motores em doses menores que 3,0 mg/kg, sendo na maior dose os efeitos mais significativos (Kawaoku, 2017). Em estudo posterior, a mCPP na dose de 3,0 mg/kg foi capaz de

reduzir a locomoção, mobilidade e número de entradas, não somente para os machos, como também, nas fêmeas. No entanto, em fêmeas tais efeitos puderam ser observados a partir da dose de 0,5 mg/kg (Reimer et al., 2018). Ainda, outro estudo com fêmeas, realizado recentemente, corroborou os resultados encontrados anteriormente demonstrando uma diminuição da atividade exploratória em fêmeas (Silva, 2020). Sendo assim, a ausência de catalepsia encontrada no presente estudo, sugere que são mecanismos distintos responsáveis pelo controle motor relacionado à exploração avaliada no campo aberto e aquele envolvido na catalepsia. Contudo, faz-se necessária a realização de mais estudos, a fim de elucidar melhor a distinção desses mecanismos, podendo-se utilizar para a avaliação do déficit motor outros testes além do campo aberto e a catalepsia, como o rotarod por exemplo (Brooks & Dunnett, 2009).

Os resultados aqui apresentados para mCPP sugerem que as alterações motoras observadas em estudos anteriores são distintas daquelas que caracterizam os estados catalépticos. Esse achado pode ter implicações positivas, no sentido de demonstrar que a mCPP, mesmo em uma dose elevada de 10 mg/kg, não é capaz de induzir um efeito motor pronunciado do tipo cataléptico. Assim, os estudos realizados utilizando a mCPP como indutora de comportamentos do tipo compulsivo no contexto do estudo do TOC, não estariam associados a déficits motores do tipo cataléptico, que poderiam prejudicar a avaliação das variáveis pretendidas nesses estudos.

6. Referências Bibliográficas

- Albelda, N., & Joel, D. (2012). Current animal models of obsessive compulsive disorder: An update. *Neuroscience*, 211, 83–106. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2011.08.070>
- Alex, K. D., Yavarian, G. J., McFarlane, H. G., Pluto, C. P., & Pehek, E. A. (2005). Modulation of dopamine release by striatal 5-HT_{2C} receptors. *Synapse*, 55(4), 242–251. <https://doi.org/10.1002/syn.20109>
- American Psychiatric Association. (2014). Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais - DSM-5, estatísticas e ciências humanas: inflexões sobre normalizações e normatizações. In *Manual diagnóstico e estatístico de transtornos mentais*. (Vol. 11, Issue 2). <https://doi.org/10.5007/interthesis.v11i2.34753>
- Barroca, N. C. B., Guarda, M. D., Da Silva, N. T., Colombo, A. C., Reimer, A. E., Brandão, M. L., & De Oliveira, A. R. (2019). Influence of aversive stimulation on haloperidol-induced catalepsy in rats. *Behavioural Pharmacology*, 30(2and3-SpecialIssue), 229–238. <https://doi.org/10.1097/FBP.0000000000000462>
- Brooks, S. P., & Dunnett, S. B. (2009). “Tests to Assess Motor Phenotype in Mice: A User’s Guide.” *Nature Reviews Neuroscience*, vol. 10, no. 7, 10 June 2009, pp. 519–529. <https://doi.org/10.1038/nrn2652>.
- Brooks, ME, Kristensen, K., Van Benthem, KJ, Magnusson, A., Berg, CW, Nielsen, A., Skaug, HJ, Maechler, M., Bolker, BM, 2017. glmmTMB Balances Speed and Flexibility Among Packages for Zero-inflated Generalized Linear Mixed Modeling. *The R Journal*. 9, 378–400. <https://doi.org/10.32614/RJ-2017-066>
- Colombo, A. C., De Oliveira, A. R., Reimer, A. E., & Brandão, M. L. (2013). Dopaminergic mechanisms underlying catalepsy, fear and anxiety: Do they interact? *Behavioural Brain Research*, 257, 201–207. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2013.10.002>
- Dalton, G. L., Lee, M. D., Kennett, G. A., Dourish, C. T., & Clifton, P. G. (2004). mCPP-induced hyperactivity in 5-HT_{2C} receptor mutant mice is mediated by activation of multiple 5-HT receptor subtypes. *Neuropharmacology*, 46(5), 663–671. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2003.11.012>
- Delignette-Muller, ML, Dutang, C., 2015. fitdistrplus: An R Package for Fitting Distributions.

- J. Statistical Software. 64, 1–34. <https://doi.org/10.18637/jss.v064.i04>
- Fiorella, D., Rabin, R. A., & Winter, J. C. (1995). The role of the 5-HT_{2A} and 5-HT_{2C} receptors in the stimulus effects of m-chlorophenylpiperazine. *Psychopharmacology*, 03385, 222–230.
- Fletcher, P. J., Tampakeras, M., Sinyard, J., Slassi, A., Isaac, M., & Higgins, G. A. (2009). Characterizing the effects of 5-HT_{2C} receptor ligands on motor activity and feeding behaviour in 5-HT_{2C} receptor knockout mice. *Neuropharmacology*, 57(3), 259–267. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2009.05.011>
- Fox, J., Weisberg, S., 2019. An R Companion to Applied Regression, Third edition. Sage, Thousand Oaks CA. <https://socialsciences.mcmaster.ca/jfox/Books/Companion/>
- Gleason, S. D., & Shannon, H. E. (1998). Meta-chlorophenylpiperazine induced changes in locomotor activity are mediated by 5-HT₁ as well as 5-HT_{2C} receptors in mice. *European Journal of Pharmacology*, 341(2–3), 135–138. [https://doi.org/10.1016/S0014-2999\(97\)01474-X](https://doi.org/10.1016/S0014-2999(97)01474-X)
- Graf, M., Kantor, S., Anheuer, Z. E., Modos, E. A., & Bagdy, G. (2003). m-CPP-induced self-grooming is mediated by 5-HT_{2C} receptors. *Behavioural Brain Research*, 142(1–2), 175–179. [https://doi.org/10.1016/S0166-4328\(02\)00404-7](https://doi.org/10.1016/S0166-4328(02)00404-7)
- Hamik, A., & Peroutka, S. J. (1989). 1-(m-Chlorophenyl)piperazine (mCPP) interactions with neurotransmitter receptors in the human brain. *Biological Psychiatry*, 25(5), 569–575. [https://doi.org/10.1016/0006-3223\(89\)90217-5](https://doi.org/10.1016/0006-3223(89)90217-5)
- Heisler, L. K., & Tecott, L. H. (2000). A paradoxical locomotor response in serotonin 5-HT_{2C} receptor mutant mice. *The Journal of Neuroscience : The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 20(8), 1–5. <https://doi.org/10.1523/jneurosci.20-08-j0003.2000>
- Kahn, R. S., Siever, L. J., Gabriel, S., Amin, F., Stern, R. G., DuMont, K., Apter, S., & Davidson, M. (1992). Serotonin function in schizophrenia: Effects of meta-chlorophenylpiperazine in schizophrenia patients and healthy subjects. *Psychiatry Research*, 43(1), 1–12. [https://doi.org/10.1016/0165-1781\(92\)90136-Q](https://doi.org/10.1016/0165-1781(92)90136-Q)
- Kawaoku, V. M. (2017). Efeitos Da Meta-Clorofenilpiperazina (MCP) Na Indução de Comportamentos “Tipo Compulsivo” Em Ratos Avaliados No Teste de Campo Aberto.
- Kennett G. A.; Curzon, G. (1998). Evidence that mCPP may have behavioural effects mediated by central 5-HT_{1C} receptors. *British Journal of Pharmacology*, v. 94, p. 137-147.

<https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.1988.tb11508.x>

- Khanna, S., John, J. P., & Lakshmi Reddy, P. (2001). Neuroendocrine and behavioral responses to mCPP in Obsessive-Compulsive Disorder. *Psychoneuroendocrinology*, *26*(2), 209–223. [https://doi.org/10.1016/S0306-4530\(00\)00048-2](https://doi.org/10.1016/S0306-4530(00)00048-2)
- Kreiss, D. S., Coffman, C. F., Fiacco, N. R., Granger, J. C., Helton, B. M., Jackson, J. C., Kim, L. V., Mistry, R. S., Mizer, T. M., Palmer, L. V., Vacca, J. A., Winkler, S. S., & Zimmer, B. A. (2013). Ritualistic Chewing Behavior induced by mCPP in the rat is an animal model of Obsessive Compulsive Disorder. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, *104*(1), 119–124. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2013.01.006>
- Leite, E. S. (2022). Efeitos Da Meta-Clorofenilpiperazina (MCP) Sobre a Aprendizagem Reversa Em Ratos: Implementação Do Teste E Exploração de Diferenças Entre Machos E Fêmeas.
- Lenth, RV, 2021. emmeans: Estimated Marginal Means, aka Least-Squares Means. R package version 1.7.0. <https://CRAN.R-project.org/package=emmeans>
- McLean, A. C., Valenzuela, N., Fai, S., & Bennett, S. A. L. (2012). Performing vaginal lavage, crystal violet staining, and vaginal cytological evaluation for mouse estrous cycle staging identification. *Journal of Visualized Experiments*, *67*, 4–9. <https://doi.org/10.3791/4389>
- Zafar, M., Rushda, A., Shazia, N., T. S. & D. J. H. (2019). Brain Serotonin-2C Receptor Regulation in Schizophrenia Rat Model. *Asian Journal of Emerging Research*, *1*(2).
- Pozzi, L., Acconcia, S., Ceglia, I., Invernizzi, R. W., & Samanin, R. (2002). Stimulation of 5-hydroxytryptamine (5-HT_{2C}) receptors in the ventro tegmental area inhibits stress-induced but not basal dopamine release in the rat prefrontal cortex. *Journal of Neurochemistry*, *82*(1), 93–100. <https://doi.org/10.1046/j.1471-4159.2002.00947.x>
- Reimer, A. E., de Oliveira, A. R., Diniz, J. B., Hoexter, M. Q., Miguel, E. C., Milad, M. R., & Brandão, M. L. (2018). Fear extinction in an obsessive-compulsive disorder animal model: Influence of sex and estrous cycle. *Neuropharmacology*, *131*, 104–115. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2017.12.015>
- R Core Team, 2020. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <https://www.R-project.org/>
- RStudio Team, 2020. RStudio: Integrated Development for R. RStudio, PBC, Boston, MA. <http://www.rstudio.com/>

- Sanberg, P. R., Bunsey, M. D., Giordano, M., & Norman, A. B. (1988). The catalepsy test: Its ups and downs. *Behavioral Neuroscience*, *102*(5), 748–759. <https://doi.org/10.1037//0735-7044.102.5.748>
- Sant’Ana, A. B., Vilela-Costa, H. H., Vicente, M. A., Hernandez, P. M., de Andrade, T. G. C. S., & Zangrossi, H. (2019). Role of 5-HT_{2C} receptors of the dorsal hippocampus in the modulation of anxiety- and panic-related defensive responses in rats. *Neuropharmacology*, *148*, 311–319. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2019.01.026>
- Silva, J. F. da. (2020). *Efeitos da meta-clorofenilpiperazina (mCPP) na indução de comportamentos do tipo compulsivo em ratas: influência do ciclo estral*.
- Stewart, B. R., Jenner, P., & Marsden, C. D. (1989). Induction of purposeless chewing behaviour in rats by 5-HT agonist drugs. *European Journal of Pharmacology*, *162*(1), 101–107. [https://doi.org/10.1016/0014-2999\(89\)90608-0](https://doi.org/10.1016/0014-2999(89)90608-0)
- Taguchi, L. M. (2018) Relações Entre a Autolimpeza Induzida Por Metaclorofenilpiperazina (MCPP) E Os Comportamento de Alternância Espontânea E Checagem Compulsiva Em Em Ratos.
- Taguchi, L. M. (2021). Efeitos Da Meta-Clorofenilpiperazina (MCPP) Sobre a Autolimpeza E Alternância Espontânea Em Ratos: Influências Do Sexo E Do Ciclo Estral.
- Tancer, M. E., & Johanson, C. E. (2001). The subjective effects of MDMA and mCPP in moderate MDMA users. *Drug and Alcohol Dependence*, *65*(1), 97–101. [https://doi.org/10.1016/S0376-8716\(01\)00146-6](https://doi.org/10.1016/S0376-8716(01)00146-6)
- Waku, I., Magalhães, M. S., Alves, C. O., Oliveira, A. R. (2021). “Haloperidol-Induced Catalepsy as an Animal Model for Parkinsonism: A Systematic Review of Experimental Studies.” *European Journal of Neuroscience*, vol. 53, 2021, pp. 3743–3767, <https://doi.org/10.1111/ejn.15222>
- Waku, I., Reimer, A. E., Oliveira, A. R. (2022). “Effects of Immediate Aversive Stimulation on Haloperidol-Induced Catalepsy in Rats.” *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, vol. 16, 11 Apr. 2022, <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2022.867180>

Anexo A – Certificado Comissão de Ética no Uso de Animais.

Pró Reitoria
Pesquisa

Comissão de Ética no Uso de Animais
Universidade Federal de São Carlos



CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "EFEITOS DA META-CLOROFENILPIPERAZINA (mCPP) AVALIADOS NO TESTE DE CATALEPSIA EM RATOS MACHOS E FÊMEAS", protocolada sob o CEUA nº 1921170621 (ID 001566), sob a responsabilidade de **Amanda Ribeiro de Oliveira e equipe; Aline Daiany Calerá** - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovada** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de São Carlos (CEUA/UFSCAR) na reunião de 13/08/2021.

We certify that the proposal "EFFECTS OF META-CHLOROPHENYLPIPERAZINE (mCPP) ASSESSED IN CATALEPSY TESTING IN MALE AND FEMALE RATS", utilizing 144 Heterogenics rats (72 males and 72 females), protocol number CEUA 1921170621 (ID 001566), under the responsibility of **Amanda Ribeiro de Oliveira and team; Aline Daiany Calerá** - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **approved** by the Ethic Committee on Animal Use of the Federal University of São Carlos (CEUA/UFSCAR) in the meeting of 08/13/2021.

Finalidade da Proposta: [Pesquisa](#)

Vigência da Proposta: de 11/2021 a 11/2022 Área: [Psicologia](#)

Origem:	Biotério Central da UFSCar	sexo:	Machos	idade:	60 a 75 dias	N:	72
Espécie:	Ratos heterogênicos			Peso:	240 a 260 g		
Linhagem:	Wistar						
Origem:	Biotério Central da UFSCar	sexo:	Fêmeas	idade:	60 a 75 dias	N:	72
Espécie:	Ratos heterogênicos			Peso:	200 a 240 g		
Linhagem:	Wistar						

Local do experimento: Laboratório de Psicologia da Aprendizagem (LPA) - DPsi

São Carlos, 13 de agosto de 2021

Prof. Dra. Luciana Thie Seki Dias
Presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais
Universidade Federal de São Carlos

Prof. Dra. Cleoni dos Santos Carvalho
Vice-presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais
Universidade Federal de São Carlos

