

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

**EFEITOS DA CETAMINA SOBRE COMPORTAMENTOS
DEFENSIVOS EM RATOS WISTAR**

HADASSA KÉULY SOUSA FELÍCIO

São Carlos – SP

2022

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

**EFEITOS DA CETAMINA SOBRE COMPORTAMENTOS
DEFENSIVOS EM RATOS WISTAR**

HADASSA KÉULY SOUSA FELÍCIO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Psicologia, da Universidade Federal de São Carlos, como parte dos requisitos para obtenção do título de mestre em Psicologia.

Orientadora: Profa. Dra. Amanda Ribeiro de Oliveira

São Carlos – SP

2022

APOIO FINANCEIRO

O presente trabalho foi financiado pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), por meio do fornecimento de Bolsa de Mestrado (processo no. 88887.628190/2021-00). As opiniões, hipóteses e conclusões ou recomendações expressas neste material são de responsabilidade dos autores e não necessariamente refletem a visão da CAPES.

A pesquisa também contou com apoio financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), por meio de Auxílio Universal (processo no. 401032/206-7), e da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), por meio do Programa de Excelência Acadêmica (PROEX; Código de Financiamento 001).

*Aos meus pais **Elias Lopes Felício** e **Maria José Sousa Felício**
e aos meus irmãos **Solano Felício** e **Ohanna Felício***

AGRADECIMENTOS

À Deus que é meu criador e mantenedor, graças a Ele o sonho de fazer um mestrado se tornou realidade, Ele me ajudou e guiou em todos os momentos. Tudo foi possível por causa Dele.

Aos meus pais que me deram apoio e amor incondicionais por toda minha vida, e me incentivaram a continuar firme nos meus propósitos, nos momentos difíceis. Aos meus irmãos pelo amor, apoio e carinho. Aos meus familiares e amigos por fazerem parte da minha vida, deixando-a muito mais feliz.

À melhor orientadora que existe, Profa. Dra. Amanda Ribeiro de Oliveira pela orientação, dedicação, incentivo e paciência. Serei sempre grata a você por todos os direcionamentos e pelo exemplo de excelência e bondade.

À minha banca examinadora Profa. Dra. Janaína Menezes Zanoveli e Profa. Dra. Azair Liane Matos do Canto de Souza, que gentilmente aceitou colaborar com este trabalho.

Às Profa. Dra. Azair Liane Matos do Canto de Souza e Profa. Dra. Vanessa Beijamini Harres por todas as contribuições no exame de qualificação.

Aos colegas do Laboratório de Psicologia da Aprendizagem, pelo acolhimento e ensino constantes.

A todos os professores do programa, pelo ensino impecável, mesmo no contexto desafiador da pandemia. Também ao Juan Miguel, por toda a ajuda nas questões burocráticas.

À coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo suporte financeiro – número do processo: 88887.628190/2021-00.

FELÍCIO, H. K. S. (2022) Efeitos da cetamina sobre comportamentos defensivos em ratos Wistar. Dissertação de Mestrado, Programa de Pós-Graduação em Psicologia, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP. pp. 56.

RESUMO

A cetamina é um antagonista não competitivo de receptores glutamatérgicos amplamente utilizado como anestésico dissociativo. Cada vez mais estudos pré-clínicos e clínicos indicam que a cetamina apresenta efeito tipo-antidepressivo. Paralelamente, muitas evidências têm sugerido que a neurotransmissão glutamatérgica pode participar dos mecanismos biológicos subjacentes às respostas ao estresse e nos transtornos de ansiedade. Assim, é plausível que a cetamina, além de efeito tipo-antidepressivo, possa apresentar efeito ansiolítico e/ou panicolítico. O presente estudo objetivou investigar os efeitos comportamentais induzidos pela administração de doses subanestésicas de cetamina em ratos expostos aos testes do labirinto em cruz elevado (LCE), labirinto em T elevado (LTE), preferência/aversão condicionada ao lugar e catalepsia. Para tanto, foram utilizados 145 ratos machos da linhagem Wistar, pesando em média 340 g. Para cada teste, os sujeitos foram aleatoriamente alocados em quatro grupos: 1- Salina (salina fisiológica 0,9%), 2- Cet10 (cetamina 10 mg/kg), 3- Cet20 (cetamina 20 mg/kg) e 4- Cet30 (cetamina 30 mg/kg). No LCE, a dose de 10 mg/kg de cetamina diminuiu o número de entradas e o tempo de permanência nos braços abertos, sem afetar as entradas nos braços fechados, sugerindo um efeito tipo-ansio gênico. Nenhum outro efeito significativo da cetamina foi observado nos testes de LTE, preferência/aversão condicionada ao lugar ou catalepsia. Embora o efeito tipo-antidepressivo rápido e sustentado da cetamina pareça ser uma descoberta robusta na literatura, efeitos tipo-ansiolítico e tipo-panicolítico não foram observados no presente estudo. A diversidade de resultados observados para a cetamina em modelos animais para ansiedade e pânico indicam a necessidade de mais investigações.

Palavras-Chave: Medo, Ansiedade, Labirinto em Cruz Elevado, Labirinto em T Elevado, Preferência/Aversão Condicionada ao Lugar, Catalepsia.

FELÍCIO, H. K. S. (2022) Ketamine effects on defensive behaviors in Wistar rats. Master's Thesis in Psychology, Federal University of Sao Carlos, São Carlos, SP. pp. 56.

ABSTRACT

Ketamine is a non-competitive glutamatergic receptor antagonist widely used as a dissociative anesthetic. Preclinical and clinical studies have indicated that ketamine exhibits antidepressant-like effects. Concurrently, much evidence has suggested that glutamatergic neurotransmission may participate in the underlying biological mechanisms of stress responses and anxiety disorders. Thus, it is plausible that ketamine, in addition to its antidepressant-like effects, may also have anxiolytic-like and/or panicolytic-like effects. The present study aimed to investigate the behavioral effects induced by subanesthetic doses of ketamine in rats exposed to the elevated plus-maze (EPM), elevated T-maze (ETM), conditioned place preference/aversion, and catalepsy tests. For that, 145 male Wistar rats weighing on average 340 g were used. For each test, the subjects were randomly allocated into four groups: 1- Saline (0.9% physiological saline), 2- Ket10 (10 mg/kg ketamine), 3- Ket20 (20 mg/kg ketamine) and 4- Ket30 (30 mg/kg ketamine). In the EPM, the dose of 10 mg/kg ketamine decreased the number of entries and the time spent in the open arms, without affecting entries into the closed arms, suggesting an anxiogenic-like effect. No other significant effect of ketamine was observed in the ETM, conditioned place preference/aversion, or catalepsy tests. Although the rapid and sustained antidepressant-like effects of ketamine appear to be a robust finding in the literature, anxiolytic-like and panicolytic-like effects were not observed in the present study. The diversity of results observed for ketamine in animal models for anxiety and panic indicates the need for further investigation.

Keywords: Fear, Anxiety, Elevated Plus Maze, Elevated T Maze, Conditioned Place Preference/Aversion, Catalepsy.

LISTA DE FIGURAS

| | |
|--|----|
| Figura 1. Labirinto em cruz elevado..... | 23 |
| Figura 2. Labirinto em T elevado..... | 23 |
| Figura 3. Arena para teste de Preferência/ Aversão condicionada ao lugar..... | 24 |
| Figura 4. Aparato para teste de catalepsia..... | 24 |
| Figura 5. Efeitos da cetamina no teste de labirinto em cruz elevado – medidas tradicionais. | 31 |
| Figura 6. Efeitos da cetamina no teste de labirinto em cruz elevado – medidas complementares..... | 33 |
| Figura 7. Efeitos da cetamina no teste de labirinto em T elevado..... | 35 |
| Figura 8. Efeitos da cetamina nos testes de preferência/aversão condicionada ao lugar e catalepsia..... | 37 |

LISTA DE SIGLAS

LCE: Labirinto em Cruz Elevado

LTE: Labirinto em T Elevado

APA: American Psychiatric Association

ISRS: Inibidores Seletivos de Recaptação de Serotonina

IRSN: Inibidores da recaptação da serotonina e noradrenalina

NMDA: N-metil D-Aspartato

AMPA: Amino-3-hidroxi-5-metil-4isoxazolpropionato

GABA: Ácido gama-aminobutírico

BDNF: Fator neurotrófico derivado do cérebro

TrKB: Receptor de tropomiosina quinase B

mTORC1: Complexo 1 da proteína alvo mecanístico de rapamicina

TP: Transtorno do Pânico

TAG: Transtorno de Ansiedade Generalizada

LPA: Laboratório de Psicologia e Aprendizagem

CEUA: Comissão de Ética no Uso de Animais

UFSCar: Universidade Federal de São Carlos

ip: Intraperitoneal

BFs: Braços fechados

BAs: Braços Abertos

Cet10: Cetamina 10 mg/kg

Cet20: Cetamina 20 mg/kg

Cet30: Cetamina 30 mg/kg

ANOVA: Análise de Variância

im: Intramuscular

SUMÁRIO

| | |
|---|----|
| 1. INTRODUÇÃO..... | 12 |
| 1 1. Transtornos de Ansiedade..... | 12 |
| 1 2. Cetamina..... | 14 |
| 1 3. Testes comportamentais..... | 18 |
| 1 3 1. Teste do labirinto em cruz elevado (LCE)..... | 18 |
| 1 3 2. Teste do labirinto em T elevado (LTE)..... | 18 |
| 1 3 3. Teste de preferência/aversão condicionada ao lugar..... | 19 |
| 1 3 4. Teste de catalepsia..... | 19 |
| 2. OBJETIVOS..... | 21 |
| 2 1. Objetivos Gerais..... | 21 |
| 2 2. Objetivos Específicos..... | 21 |
| 3. MATERIAL E MÉTODOS..... | 21 |
| 3 1. Animais..... | 21 |
| 3 2. Drogas..... | 22 |
| 3 3. Equipamentos..... | 22 |
| 3 4. Procedimentos..... | 25 |
| 3 5. Delineamento experimental..... | 27 |
| 3 6. Análise de dados..... | 29 |
| 4. RESULTADOS..... | 29 |
| 4 1. Labirinto em Cruz Elevado..... | 29 |
| 4 2. Labirinto em T elevado..... | 33 |
| 4 3. Preferência/aversão condicionada ao lugar..... | 36 |
| 4 4. Catalepsia..... | 36 |
| 5. DISCUSSÃO..... | 38 |
| 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... | 47 |
| ANEXO A - Certificado da Comissão de Ética no Uso de Animais da UFSCar..... | 56 |

1. INTRODUÇÃO

1.1 Transtornos de Ansiedade

Os transtornos de ansiedade possuem características de ansiedade e/ou medo excessivos (AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION, 2013). A ansiedade é uma resposta emocional antecipada relacionada a uma ameaça futura e frequentemente associada à tensão muscular, comportamentos de cautela ou esquiva e vigilância para um perigo potencial. Já o medo é uma resposta emocional a ameaça real e iminente, associado aos comportamentos de fuga (APA, 2013; LEDOUX, 2016). Os transtornos de ansiedade se diferem da ansiedade ou do medo adaptativos por serem excessivos em duração e/ou intensidade, geralmente persistindo por mais de 6 meses (APA, 2013).

De acordo com a Organização Mundial da Saúde, 3,6% da população mundial em 2015 apresentava algum transtorno de ansiedade, sendo que nas Américas o índice era de 5,8%. O Brasil, com incidência de 9,3% da população com algum transtorno de ansiedade, é o país com maior índice desses transtornos no mundo (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2017). Ademais, os transtornos de ansiedade estão entre as condições de saúde mais incapacitantes (FERNANDES et al., 2018). Com a pandemia de COVID-19, vários estudos investigaram o aumento da prevalência de ansiedade no contexto pandêmico dos últimos anos (WANG et al., 2020; SHI et al., 2020; LU et al., 2020; ROSSI et al., 2020; GOULARTE et al., 2021). Esses estudos mostraram aumento da prevalência de casos de ansiedade inclusive no Brasil, onde 81,9% dos entrevistados relataram estar com sintomas de ansiedade moderada ou severa (GOULARTE et al., 2021).

Dentre os transtornos de ansiedade estão: transtorno de ansiedade de separação, mutismo seletivo, fobia específica, transtorno de ansiedade social (fobia social), transtorno de pânico (TP), agorafobia, transtorno de ansiedade generalizada (TAG) e transtorno de ansiedade

induzido por substância/medicamento (APA, 2013). Dentre os transtornos de ansiedade mais prevalentes estão o TAG e o TP (VICENTE et al., 2006). O TAG é caracterizado por preocupações persistentes e excessivas em relação a vários estímulos, onde o indivíduo apresenta dificuldade em controlar essas preocupações, irritabilidade e/ou dificuldade de concentração e experimenta sintomas físicos como inquietação, fadigabilidade, tensão muscular e perturbações do sono (APA, 2013). Já o TP caracteriza-se por sintomas como ataques de pânico recorrentes acompanhados de sintomas fisiológicos gerais, apreensão persistente e preocupação com a possibilidade de sofrer novos ataques de pânico. Assim, os indivíduos com esse transtorno se esquivam de locais que não sejam familiares (APA, 2013).

O TAG e o TP podem ser tratados com psicoterapia, fármacos ou a combinação de ambos (BANDELOW et al., 2017). Os fármacos mais utilizados para o tratamento de transtornos de ansiedade, incluindo TAG e TP, têm sido os antidepressivos e os benzodiazepínicos (BANDELOW et al., 2017; CRASKE et al., 2017; KOEN, STEIN, 2011). São considerados como tratamentos farmacológicos de primeira linha os antidepressivos inibidores seletivos de recaptção de serotonina (ISRS) e os inibidores da recaptção da serotonina e noradrenalina (IRSN) (BANDELOW et al., 2017; KATZMAN et al., 2014). Os benzodiazepínicos têm sido considerados tratamentos de segunda ou terceira linha por estarem frequentemente associados a efeitos adversos graves, como sedação, comprometimento da memória, potencial de abuso e dependência (KATZMAN et al., 2014; LADER, 1994). Cerca de 30-50% dos pacientes que usam os ISRS experimentam efeitos colaterais transitórios como náuseas, diarreia, dor de cabeça, insônia e nervosismo. Outros efeitos comuns são diminuição do interesse, desempenho ou satisfação sexual. Além disso, os ISRS levam entre 4 e 6 (ou mais) semanas para produzir um efeito ansiolítico (RAVINDRAN, 2010). Ensaios controlados e randomizados de farmacoterapia para transtornos de ansiedade relataram taxas de remissão de 20-47% com os tratamentos tradicionais (POLLACK, 2008). Sendo assim, torna-se relevante a

investigação de tratamentos alternativos mais eficazes para pacientes refratários, ou que não toleram os efeitos adversos dos tratamentos disponíveis.

1.2 Cetamina

Dentre os fármacos estudados como tratamentos alternativos para transtornos de ansiedade está a cetamina, que é um antagonista não competitivo de receptores glutamatérgicos do tipo N-metil-D-aspartato (NMDA) (DERAKHSHANIAN et al., 2021). A cetamina foi sintetizada pela primeira vez pelo farmacêutico americano Calvin Stevens em 1962, em uma pesquisa que objetivava a substituição dos anestésicos de fenciclidina (KORS, DURIEUX, 1998; SMITH, LARIVE et al., 2002; MACHADO-VIERA et al., 2009). Nomeada primeiramente como C1581, a cetamina tem sido largamente utilizada como um anestésico dissociativo, por induzir um estado cataléptico, o que parece ser resultado da dissociação funcional e eletrofisiológica entre os sistemas tálamo-neocortical e límbico (DA SILVA et al., 2010; QUIBELL et al., 2015).

Em razão de seu efeito dissociativo, a cetamina pode causar efeitos psicológicos adversos, principalmente no pós-operatório, nomeados de reações emergenciais. As mais comuns são estado dissociativo, pesadelos, experiências extracorpóreas (sensação de flutuar fora do corpo), ilusões vívidas e alucinações (JANSEN, 2000; FREESE et al., 2002). Outrossim, a cetamina não tem sido restringida a clínica e pesquisa, sendo amplamente utilizada em festas, caracterizando uma droga de abuso (FREESE et al., 2002). O uso recreativo deste fármaco ('K', 'Ket', 'Special K') tem aumentado mundialmente nos últimos anos (MORGAN, CURRAN, 2011).

Estudos pré-clínicos têm indicado a cetamina como um fármaco com efeito tipo-antidepressivo, que se diferencia dos demais por ter um efeito de início rápido e persistente com uma única dose (YILMAZ et al., 2002; GARCIA et al., 2008; MAENG et al., 2008; KOIKE et al., 2011, LI et al., 2011). Este efeito pôde ser visualizado em vários modelos animais, como

por exemplo nos testes de desamparo aprendido (AUTRY et al., 2011; KOIKE et al., 2011; MAENG et al., 2008), suspensão pela cauda (KOIKE et al., 2011), nado forçado (AUTRY et al., 2011; MAENG et al., 2008; SUN et al., 2016) e estresse crônico moderado (AUTRY et al., 2011; SUN et al., 2016). Estudos clínicos revelaram melhora da depressão logo após a administração aguda de cetamina, que se manteve uma a duas semanas após a administração (ZARATE et al., 2006; LAI et al., 2014; FEDER et al., 2014; LOO et al., 2016; DALY et al., 2018; MILAK et al., 2020; GLUE et al., 2020). Tal achado é extremamente interessante uma vez que os antidepressivos comumente utilizados demoram semanas para começar a apresentar seus efeitos terapêuticos (RAVINDRAN, 2010).

Existem algumas hipóteses para explicar o mecanismo de ação da cetamina como antidepressivo e a maioria deles envolve o papel essencial da inibição do receptor NMDA e ativação dos receptores amino-3-hidroxi-5-metil-4isoxazolpropionato (AMPA) para as ações antidepressivas da cetamina. Uma das hipóteses mais aceitas é a de inibição dos receptores NMDA presentes nos interneurônios GABAérgicos – hipótese da desinibição. Essa hipótese se apoia na evidência de uma inibição preferencial da cetamina em interneurônios GABAérgicos (MOGHADDAM et al., 1997; FARBER et al., 1998). Assim, com a inibição de receptores NMDA seletivamente nos interneurônios inibitórios GABAérgicos há uma desinibição e um aumento da neurotransmissão glutamatérgica excitatória no córtex pré-frontal (MOGHADDAM et al., 1997). A seguir, o glutamato liberado na fenda sináptica se liga e ativa receptores AMPA pós-sinápticos, aumentando a liberação do fator neurotrófico derivado do cérebro – BDNF, e ativando o receptor de tropomiosina quinase B – TrKB, e consequentemente causando a síntese de proteínas por meio da ativação do complexo 1 da proteína alvo mecanístico de rapamicina mTORC1. Todo esse processo, por sua vez, resulta na plasticidade sináptica que estaria envolvida no efeito tipo-antidepressivo da cetamina (ZANOS, GOULD, 2018).

É sabido que, após tratamento crônico, alguns antidepressivos apresentam efeito tipo-ansiolítico e/ou tipo-panicolítico em algumas psicopatologias como TAG e TP (ANDREATINI et al., 2001; STRAWN et al., 2018; GARAKANI et al., 2006). Dessa maneira, é plausível que a cetamina, além de efeito tipo-antidepressivo, possa apresentar um efeito tipo-ansiolítico e/ou tipo-panicolítico (BERMUDO-SORIANO et al., 2012).

Ademais, muitas evidências têm sugerido que a neurotransmissão glutamatérgica pode participar dos mecanismos biológicos subjacentes às respostas ao estresse a nos transtornos de ansiedade (MILLAN, 2003; BERGINK et al., 2004; GARAKANI et al., 2006; VAQUERO-LORENZO et al., 2009). A administração de antagonistas glutamatérgicos de receptores NMDA e não-NMDA produziram efeitos tipo-ansiolíticos em diversos modelos animais (WILLETTS et al., 1993; MENARD, TREIT, 2000; WALKER, DAVIS, 2000; ELVANDER-TOTTIE et al., 2006). Dessa forma, novos fármacos direcionados à neurotransmissão glutamatérgica parecem constituir um alvo atraente e promissor para o tratamento dos transtornos de ansiedade (BERMUDO-SORIANO et al., 2012).

Nos últimos anos, estudos clínicos têm apontado efeito tipo-ansiolítico de doses subanestésicas de cetamina no TAG e na fobia social (GLUE et al., 2017; GLUE et al., 2018; SHADLI et al., 2018; TAYLOR et al., 2018; GLUE et al., 2020). Por exemplo, no estudo duplo-cego de Glue e colaboradores (2020), a cetamina produziu efeito ansiolítico em pacientes refratários, não deprimidos, com TAG e/ou fobia social. Estudos pré-clínicos também têm apontado que a cetamina produz um efeito tipo-ansiolítico em roedores (ENGIN et al., 2009; KILIC et al., 2014; ZHANG et al., 2015; DUCLOT et al., 2016; FRAGA et al., 2018, DOLZANI et al., 2018; WU et al., 2019). Um exemplo é a investigação de Engin e colaboradores (2009) com o teste do LCE que mostrou que doses subanestésicas de cetamina reduziram os comportamentos tipo-ansiosos. Outro estudo demonstrou que doses subanestésicas de cetamina reduziram a frequência da resposta de congelamento no teste de

medo condicionado, caracterizando efeito tipo-ansiolítico (PIETERSEN et al., 2006). Contudo, outros estudos pré-clínicos têm revelado efeito tipo-ansio gênico para a cetamina (SILVESTRE et al., 1997; BABAR et al., 2001; LOSS et al., 2012; JUVEN-WETZLER et al., 2014; SAUR et al., 2017; CLIFTON et al., 2018;). Um exemplo é o estudo de Silvestre e colaboradores (1997) que, também com doses subanestésicas de cetamina, apresentou efeito tipo-ansio gênico em ratos submetidos aos testes de interação social e ao LCE. Vale, ainda, ressaltar os resultados da pesquisa de Wu e colaboradores (2019), realizada com camundongos, que mostrou que efeitos tipo-ansiolíticos ou tipo-antidepressivos variam de acordo com a dose subanestésica utilizada, enquanto doses anestésicas resultaram em efeito tipo-depressivo e tipo-ansio gênico.

Assim, parece haver uma heterogeneidade nos resultados de experimentos que avaliaram os efeitos da cetamina nos comportamentos relacionados à ansiedade/medo. É possível que essa variabilidade de efeitos se deva às diferenças de métodos, intervenções anteriores, espécie estudada, bem como, idade e sexo, tipo de cetamina usada, grande variedade de doses de cetamina, a via de administração e o intervalo variável entre a administração de cetamina e avaliação comportamental (SILOTE et al., 2020). Desse modo, os resultados contraditórios no tocante à cetamina sugerem a necessidade de mais investigações acerca dos efeitos que esta droga pode causar sobre o medo e a ansiedade em roedores. Além disso, há uma lacuna importante na literatura a respeito dos efeitos da cetamina nos comportamentos relacionados ao medo associado ao TP. Até o momento, apenas dois estudos exploraram os efeitos da cetamina no teste do labirinto em T elevado (LTE). O estudo de Silote e colaboradores (2020) não apontou efeito tipo-panicolítico ou tipo-panicogênico da cetamina nas doses de 10 e 30 mg/kg. Chírico e colaboradores (2021), por outro lado, encontraram efeito tipo-panicolítico da cetamina com doses de 40 e 80 mg/kg e efeito tipo-ansio gênico com a dose de 80 mg/kg. Sendo assim, mais estudos são importantes para investigação de um potencial efeito tipo-panicolítico da cetamina.

Para investigar os efeitos da cetamina em comportamentos relacionados à ansiedade e ao pânico, controlando potenciais efeitos reforçadores e déficits motores, realizamos os testes do LCE, LTE preferência/aversão condicionada ao lugar e catalepsia.

1.3 Testes comportamentais

1.3.1 Teste do labirinto em cruz elevado (LCE)

O teste do LCE se propõe a verificar comportamentos relacionados ao medo e ansiedade em roedores. O teste se baseia no “conflito de aproximação-esquiva” dos roedores em relação a ambientes desconhecidos, abertos e potencialmente perigosos (LISTER, 1990; FILE, 1993; HOGG, 1996; RODGERS et al., 1997; CAROBREZ, BERTOGLIO, 2005). Desse modo, o LCE foi validado para ratos a fim de verificar se fármacos apresentavam efeitos tipo-ansiolítico ou tipo-ansiogênico (PELLOW et al., 1985). Nesse teste, há dois braços abertos e dois fechados; o animal é colocado no centro do labirinto e é analisada a frequência de entradas, bem como o tempo de permanência em cada um dos braços, além de outros comportamentos como levantar-se, esticar-se ou deslocar-se. Assim, a evitação dos animais dos braços abertos (entradas e tempo de permanência) indica maiores níveis de ansiedade, enquanto a preferência pelos braços abertos indica efeito do tipo-ansiolítico (HANDLEY, MITHANI, 1984; PELLOW et al., 1985).

1.3.2 Teste do labirinto em T elevado (LTE)

O teste do LTE se propõe a verificar comportamentos em roedores que seriam correspondentes àqueles observados no TAG e no TP (GRAEFF et al., 1993). Este modelo é baseado na concepção de que os roedores tendem a fugir ou se esquivar de locais elevados e abertos (ZANGROSSI, GRAEFF, 2014). Um aspecto que distingue o LTE do LCE é que no LTE a avaliação do medo condicionado e incondicionado é separada (GRAEFF et al., 1993). Sendo assim, é verificada a latência para respostas de fuga (relacionadas ao medo

inato/incondicionado) quando o animal é colocado na extremidade do braço aberto, ou de esquiva (relacionadas à ansiedade condicionada/aprendida) quando é colocado na extremidade do braço fechado. Os comportamentos de fuga foram relacionados ao TP, enquanto os comportamentos de esquiva relacionados ao TAG (GRAEFF et al, 1993; ZANGROSSI, GRAEFF, 1997; ZANGROSSI et al., 2001).

1.3.3 Teste de preferência/aversão condicionada ao lugar

O teste de preferência/aversão condicionada ao lugar consiste na técnica do condicionamento clássico, onde um estímulo inicialmente neutro (quadrante do campo aberto) é pareado a um estímulo incondicionado (fármaco, neste estudo, a cetamina) e, então, torna-se um estímulo condicionado. Posteriormente, com a apresentação apenas do estímulo condicionado, podem ser evocadas respostas condicionadas de preferência ou aversão ao quadrante pareado à droga (HASENÖHRL et al., 1989). Logo, se a droga tiver efeito reforçador para o sujeito, espera-se que este apresente preferência pelo lugar em que sentiu os efeitos da droga, entretanto, se a droga tiver efeito aversivo para o sujeito, este apresentará aversão pelo lugar se esquivando/fugindo deste.

1.3.4 Teste de catalepsia

A catalepsia em animais de laboratório é definida como uma falha ao corrigir uma postura imposta externamente. O teste de catalepsia se propõe a verificar a catalepsia dos animais colocando-os com uma ou duas patas dianteiras sobre uma superfície horizontal (barra, bloco ou haste) posicionada acima do assoalho, onde ficam as patas traseiras do animal testado. Então é medida a latência de descida da superfície (WAKU et al., 2021).

O presente trabalho investigou os efeitos comportamentais induzidos pela cetamina em ratos Wistar expostos aos testes de LCE, LTE, aversão/preferência condicionada ao lugar e catalepsia. Esperávamos que: 1- no LCE as respostas de ansiedade diminuiriam após a administração de cetamina, 2- no LTE, as respostas de ansiedade e/ou pânico dos ratos diminuiriam após a administração de cetamina, 3- no teste de preferência/aversão condicionada ao lugar, a administração de cetamina não teria efeito reforçador ou aversivo, não caracterizando uma droga de abuso ou possibilitando adicção em seus usuários nas doses aqui empregadas, 4- no teste de catalepsia, os animais não apresentariam alterações motoras, não exibindo estado cataléptico após a administração de cetamina.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivos Gerais

Investigar os efeitos da administração aguda de doses subanestésicas de cetamina sobre comportamentos defensivos em ratos Wistar machos.

2.2 Objetivos Específicos

- Avaliar os efeitos da cetamina sobre comportamentos defensivos e exploratórios exibidos no LCE;
- Avaliar os efeitos da cetamina sobre comportamentos de fuga e esquiva exibidos no LTE;
- Verificar eventuais efeitos reforçadores ou aversivos da cetamina no teste de preferência/aversão condicionada ao lugar;
- Verificar eventuais alterações motoras induzidas pela cetamina no teste de catalepsia.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Animais

Neste trabalho foram utilizados 145 ratos machos da linhagem Wistar, com aproximadamente nove semanas de vida e peso médio de 340 g. Os sujeitos foram provenientes do biotério central da Universidade Federal de São Carlos, *campus* São Carlos, e mantidos no Laboratório de Psicologia da Aprendizagem (LPA). Os animais foram alojados em caixas de polipropileno (30 x 32 x 18 cm), em grupos de 4 animais por caixa. Durante todo o período de

alojamento os ratos tiveram acesso *ad libitum* à água e ração (exceto durante as sessões experimentais). Os sujeitos foram mantidos sob temperatura média de 23°C, ciclo claro-escuro de 12 horas com início da fase clara às 7:00 h, com todas as sessões experimentais ocorrendo no período claro do ciclo, no turno matutino. Todos os animais e procedimentos, neste trabalho, foram utilizados a partir da aprovação pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA-UFSCar, protocolo no. 6822010420, ANEXO A).

3.2 Drogas

Foi usado o fármaco cloridrato de cetamina, mistura racêmica (Syntec do Brasil, Cotia, SP, Brasil) que é um antagonista não competitivo de receptores de glutamato do tipo N-metil-D-aspartato (NMDA), nas doses subanestésicas de 10, 20 e 30 mg/kg. A administração se deu pela via intraperitoneal (ip), em volume constante de 1,0 ml/kg, 30 min antes da exposição ao teste. Para o grupo controle, foi administrada solução salina fisiológica (cloreto de sódio 0,9 %) também por via ip. 30 minutos antes do teste. As doses e o tempo de espera foram baseados na literatura (BABAR et al., 2001; MELO et al., 2015; PAPP et al., 2017; HOU et al., 2018; MASTRODONATO et al., 2018) e em estudos prévios do nosso laboratório (DE CASTRO, 2019).

3.4 Equipamentos

Teste do labirinto em cruz elevado (Figura 1) – Aparato de madeira, que consiste em 4 braços de dimensões iguais (50 x 10 cm), elevados a 50 cm do solo, sendo dois deles fechados nas laterais por paredes de 40 cm de altura (braços fechados – BFs) e dispostos de forma perpendicular em relação aos outros dois braços cercados apenas por uma aresta de acrílico de 0,5 cm (braços abertos – BAs) (PELLOW et al., 1985).



Figura 1. Labirinto em cruz elevado. Fonte: Próprio autor

Teste do labirinto em T elevado (Figura 2) – Aparato de madeira, que consiste em 3 braços de dimensões iguais (50 x 10 cm), elevados a 50 cm do solo, sendo um deles fechado nas laterais por paredes de 40 cm de altura (braço fechado – BF) e disposto de forma perpendicular em relação aos outros dois braços cercados apenas por uma aresta de acrílico de 0,5 cm (braços abertos – BAs) (GRAEFF et al., 1993).



Figura 2. Labirinto em T elevado. Fonte: Próprio autor

Teste de preferência/aversão condicionada ao lugar (Figura 3) – Arena circular com fundo de acrílico branco e parede de acrílico transparente, com 60 cm de diâmetro e 50 cm de altura. O fundo da arena é subdividido em 12 zonas, sendo 8 periféricas e 4 centrais (HASENÖHRL et al., 1989).



Figura 3. Arena para teste de preferência/aversão condicionada ao lugar. Fonte: Próprio autor

Teste de catalepsia (Figura 4) – Caixa de polipropileno semelhante à caixa em que os animais ficam alojados, com medidas 30 x 32 x 18 cm, onde é inserida, no sentido horizontal, uma barra de acrílico apoiada em dois blocos retangulares com altura de 8 cm em relação ao solo. Os referidos blocos possuem 14 x 7,5 x 2,2 cm de dimensões e um furo em cada para possibilitar o encaixe da barra de acrílico (SANBERG et al., 1988).



Figura 4. Aparato para teste de catalepsia. Fonte: Próprio autor

3.4 Procedimentos

Teste do labirinto em cruz elevado – Os procedimentos para o teste de LCE foram baseados em estudos anteriores (PELLOW et al., 1985; ANSELONI, BRANDÃO, 1997; DE OLIVEIRA et al., 2014). Cada animal era ingênuo experimentalmente e foi posicionado individualmente no centro do labirinto, de frente para um braço fechado. O rato pôde explorar livremente o labirinto por um período de 300 s. Então, foi avaliada a preferência (entradas e tempo de permanência) do sujeito pelos braços fechados ou abertos. Também foram avaliadas medidas comportamentais complementares observadas no LCE como: autolimpeza, exploração da extremidade do braço aberto, mergulho, espreitamento, esticamento, levantamento e imobilidade (ANSELONI et al., 1997; CRUZ-MORALES et al., 2002; ALBRECHET-SOUZA et al., 2005). A intensidade da luz nos braços abertos era de 24 lux, nos braços fechados era de 15 lux e no centro do labirinto era de 18 lux.

Teste do labirinto em T elevado – Os procedimentos para o teste do LTE foram realizados de acordo com estudos anteriores (GRAEFF et al., 1993; GRAEFF, et al., 1998; GOUVEIA et al., 2009). Todos os ratos utilizados nesse teste eram ingênuos experimentalmente. Primeiramente, os animais foram confinados em um dos BAs por 30 min. No dia seguinte, para avaliar o comportamento de esquiva inibitória, os ratos foram colocados na extremidade do braço fechado (BF) por três tentativas sucessivas (linha de base, esquiva inibitória 1 e esquiva inibitória 2) e foram registradas as latências para os sujeitos deixarem o BF. Para verificar o comportamento de fuga, os animais foram colocados na extremidade de um dos braços abertos (BAs), onde, mais uma vez, foram realizadas três tentativas sucessivas e registradas as latências para que os animais deixassem o BA (fuga 1, 2 e 3). Cada tentativa, de esquiva inibitória ou fuga, teve duração máxima de 300 s.

Teste de preferência/aversão condicionada ao lugar – Os procedimentos para esse teste foram baseados naqueles descritos anteriormente em outros trabalhos (HASENÖHRL et

al.,1989; ZANOVELI et al., 2007). O procedimento foi dividido em três sessões. A primeira sessão (linha de base) teve duração de 15 min e cada animal foi colocado no centro do campo aberto, e teve livre acesso a todas as partes da arena. Foi considerado que o rato estava em um dos quadrantes quando suas patas traseiras estiveram dentro do quadrante. O tempo gasto em cada um dos quadrantes foi registrado com o auxílio de um computador. A sessão 2 (condicionamento clássico) teve duração de 30 min. Nessa sessão, foi injetada a cetamina ou salina e, logo após a administração do fármaco, os sujeitos foram, novamente, colocados no aparato, confinados em um dos quadrantes da arena (que não fosse o quadrante em que o sujeito passou mais ou menos tempo na sessão de linha de base). A terceira sessão (teste) teve duração de 15 min e nela foi verificado se o animal apresentou resposta de preferência ou aversão ao quadrante em que foi confinado após a cetamina ou salina terem sido administradas. Os animais participantes desse teste também integraram o teste de catalepsia, imediatamente antes e após a sessão de confinamento do teste de preferência/aversão condicionada ao lugar.

Teste de catalepsia – Os procedimentos do teste de catalepsia foram realizados de acordo com estudos anteriores do laboratório (COLOMBO et al., 2013; BARROCA et al., 2019; WAKU et al., 2022). Para averiguar se a administração da cetamina nos animais experimentais induziu o estado cataléptico, os ratos foram cuidadosamente colocados na caixa de teste com as patas dianteiras apoiadas na barra de acrílico da caixa, enquanto suas patas traseiras permaneceram sobre o assoalho. O teste foi realizado 15 e 45 min após a administração da cetamina ou salina. Todos os sujeitos que participaram do teste de catalepsia também participaram do teste de preferência/aversão condicionada ao lugar.

Todas as sessões foram registradas em vídeo. Após o término de cada sessão nos testes mencionados acima, os aparatos foram limpos com papel toalha e álcool 20%, a fim de prevenir

interferência do odor de secreções do participante no comportamento do próprio sujeito (no caso das tentativas no LTE) ou do sujeito posterior.

3.5 Delineamento experimental

Inicialmente os ratos passaram por um período de habituação de uma semana no biotério setorial do LPA. Logo após esse período, foram iniciados os procedimentos experimentais. Para cada experimento foram formados quatro grupos (Tabela 1): Controle (salina fisiológica 0,9%), Cet10 (cetamina 10 mg/kg), Cet20 (cetamina 20 mg/kg) e Cet30 (cetamina 30 mg/kg). Os quatro experimentos realizados foram: Labirinto em cruz elevado, Labirinto em T elevado, Preferência/aversão condicionada ao lugar e Catalepsia.

Tabela1. Distribuição dos animais por grupos e testes

| Teste | Grupo | N | |
|---|----------|----|-----------|
| Labirinto em cruz elevado | Controle | 10 | Total: 43 |
| | Cet. 10 | 11 | |
| | Cet. 20 | 11 | |
| | Cet. 30 | 11 | |
| Labirinto em T elevado | Controle | 12 | Total: 53 |
| | Cet. 10 | 15 | |
| | Cet. 20 | 13 | |
| | Cet. 30 | 13 | |
| Preferência/aversão condicionada ao lugar | Controle | 11 | Total: 47 |
| | Cet. 10 | 13 | |
| | Cet. 20 | 12 | |
| | Cet. 30 | 11 | |
| Catalepsia | Controle | 12 | Total: 49 |
| | Cet. 10 | 13 | |
| | Cet. 20 | 12 | |
| | Cet. 30 | 12 | |

Fonte: Próprio autor

Para garantir que as variáveis-resposta não fossem indevidamente influenciadas por questões objetivas ou subjetivas, o experimento foi cego (a experimentadora não sabia qual tratamento estava administrando no dia do teste ou no momento da análise dos experimentos)

e os animais não tiveram diferença de idade ou sexo. E objetivando a distribuição igualitária entre os grupos, cada sujeito foi aleatoriamente alocado aos diferentes grupos de cada teste.

No LCE (Fig. 5A), foram administradas cetamina (10, 20 ou 30 mg/kg) ou salina por via ip. 30 minutos antes do teste. Então o rato foi colocado no centro do labirinto e verificada a resposta de preferência pelos BAs ou BFs. A sessão teve duração de 300 s.

No LTE (Fig. 7A), os animais foram confinados em um dos BAs, 24 horas antes do teste, por 30 min. No dia seguinte, salina ou cetamina foram administradas por via ip. 30 min antes do teste. A seguir foram verificadas as respostas de esquiva inibitória: linha de base, esquiva 1 e esquiva 2 e de fuga: 1, 2 e 3. Cada exposição teve o tempo máximo de 300 s.

No teste de condicionamento ao lugar (Fig. 8A), primeiramente os animais passaram pela linha de base por 15 minutos na arena. No dia seguinte, foram administradas por via ip. solução salina ou cetamina. O animal foi, então, confinado em um dos quadrantes da arena para a sessão de condicionamento, que teve duração de 30 min. Então, no terceiro dia, foi realizado o teste de preferência/aversão condicionada ao lugar, durante 15 min, sem nenhuma administração.

No teste de catalepsia (Fig. 8A), os animais receberam cetamina ou salina e, 15 min depois, foi realizado o teste de catalepsia 1 seguido, 30 min depois, pelo teste de catalepsia 2.

Ademais, os sujeitos participantes do teste de preferência/aversão condicionada ao lugar foram os mesmos do teste de catalepsia. Os resultados de dois sujeitos foram retirados da análise do teste de preferência/aversão condicionada ao lugar, por causa de problemas nos vídeos deste teste, o que não influenciou os resultados dos mesmos animais no teste de catalepsia.

3.6 Análise de dados

Os dados são apresentados como média \pm EPM. Para a análise dos dados do LCE, foram utilizadas análises de variância (ANOVAs) de uma via para avaliar efeitos dos tratamentos (Salina \times Cet.10 \times Cet.20 \times Cet.30). Para análise dos dados do LTE, foram utilizadas ANOVAs de duas vias com medidas repetidas, com um fator para tratamentos (Salina \times Cet.10 \times Cet.20 \times Cet.30) e outro para fase do procedimento (Linha de base \times Esquiva inibitória 1 \times Esquiva inibitória 2; ou Fuga 1 \times Fuga 2 \times Fuga 3). Para a análise dos dados do teste de preferência/aversão condicionada ao lugar, foi utilizada ANOVA de duas vias com medidas repetidas, com um fator para tratamentos (Salina \times Cet.10 \times Cet.20 \times Cet.30) e outro para fase do procedimento (Linha de base \times Teste). Para a análise dos dados do teste de catalepsia, foi utilizada ANOVA de duas vias com medidas repetidas, com um fator para tratamentos (Salina \times Cet.10 \times Cet.20 \times Cet.30) e outro para fase do procedimento (15 min \times 45 min). Após as ANOVAs, havendo significância estatística, foi utilizado o teste *post hoc* de Tukey. Valores de p inferiores a 0,05 foram considerados significativos.

4. RESULTADOS

4.1 Labirinto em Cruz Elevado

A Figura 5 apresenta os resultados referentes à porcentagem de tempo de permanência nos braços abertos em relação ao total do teste (Fig. 5B), porcentagem de entradas nos braços abertos em relação ao total de entradas (Fig. 5C) e número de entradas nos braços fechados (Fig. 5D) do LCE. Todos os comportamentos foram avaliados durante 300 s de livre exploração pelo aparato, 30 min após a administração de salina (n = 10), ou cetamina 10 mg/kg (n = 11), 20 mg/kg (n = 11) ou 30 mg/kg (n = 11). A ANOVA de uma via revelou efeito significativo dos *tratamentos* para a porcentagem de tempo de permanência nos braços abertos ($F_{3,39} = 3,60$;

$p < 0,05$), porcentagem de entradas nos braços abertos ($F_{3,39} = 3,88$; $p < 0,05$) e número de entradas nos braços fechados ($F_{3,39} = 3,30$; $p < 0,05$). A análise *post hoc* com o teste de Tukey indicou que o grupo Cet. 10 mg/kg teve a porcentagem de tempo e de entradas nos braços abertos significativamente menores que o grupo tratado com salina ($p < 0,05$). Em relação às entradas nos braços fechados, o teste de Tukey não indicou diferença significativa dos *tratamentos* em relação ao grupo Salina ($p > 0,05$).

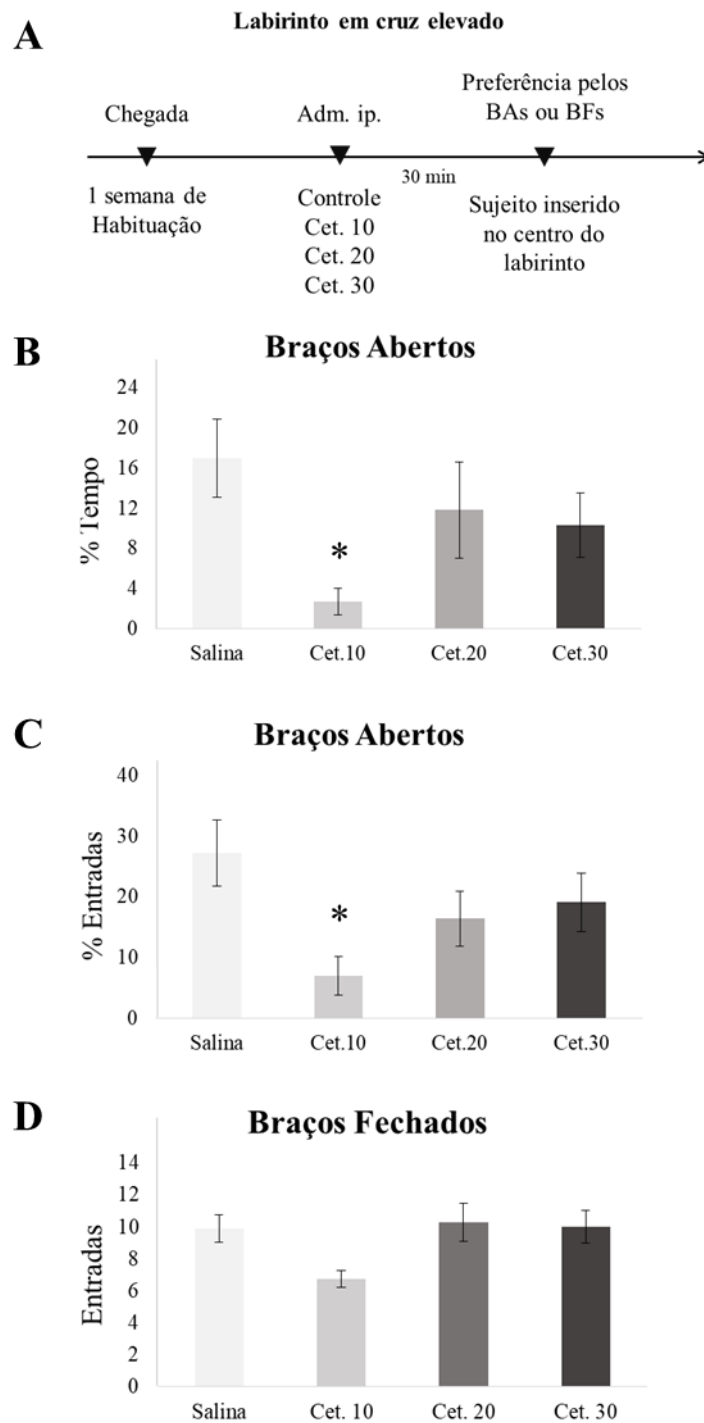


Figura 5. Efeitos da cetamina no teste de labirinto em cruz elevado – medidas tradicionais. Efeitos da administração intraperitoneal de cetamina nas doses de 10, 20 ou 30 mg/kg em relação ao grupo controle (salina) sobre os comportamentos avaliados durante 300 s no Labirinto em Cruz Elevado. **(A)** Delineamento experimental do teste de LCE; **(B)** Porcentagem de tempo de permanência nos braços abertos; **(C)** Porcentagem de número de entradas nos braços abertos; **(D)** Número de entradas nos braços fechados. Média \pm EPM, n=10-11. ANOVA de uma via seguida por Tukey. * diferente do grupo Salina. Fonte: Próprio autor.

A Figura 6 apresenta os resultados referentes ao tempo de autolimpeza (Fig. 6A), frequência de idas à extremidade do braço aberto (Fig. 6B), frequência de mergulhos (Fig. 6C), frequência de espreitamentos (Fig. 6D), frequência de levantamentos (Fig. 6E) e tempo de imobilidade (Fig. 6F) dos mesmos animais no LCE. A ANOVA de uma via não revelou efeito significativo dos *tratamentos* para a autolimpeza ($F_{3,39} = 0,57$; $p > 0,05$), idas às extremidades dos braços abertos ($F_{3,39} = 2,01$; $p > 0,05$), espreitamentos ($F_{3,39} = 1,89$; $p > 0,05$) e imobilidade ($F_{3,39} = 1,95$; $p > 0,05$), mas revelou efeito significativo para mergulhos ($F_{3,39} = 5,40$; $p < 0,05$) e levantamentos ($F_{3,39} = 9,49$; $p < 0,05$). A análise *post hoc* com o teste de Tukey indicou que o grupo Cet. 10 mg/kg mergulhou significativamente menos que o grupo Salina ($p < 0,05$). O teste de Tukey também indicou que os grupos Cet. 20 mg/kg e Cet. 30 mg/kg tiveram significativamente menos levantamentos que os grupos Cet. 10 mg/kg e Salina ($p < 0,05$).

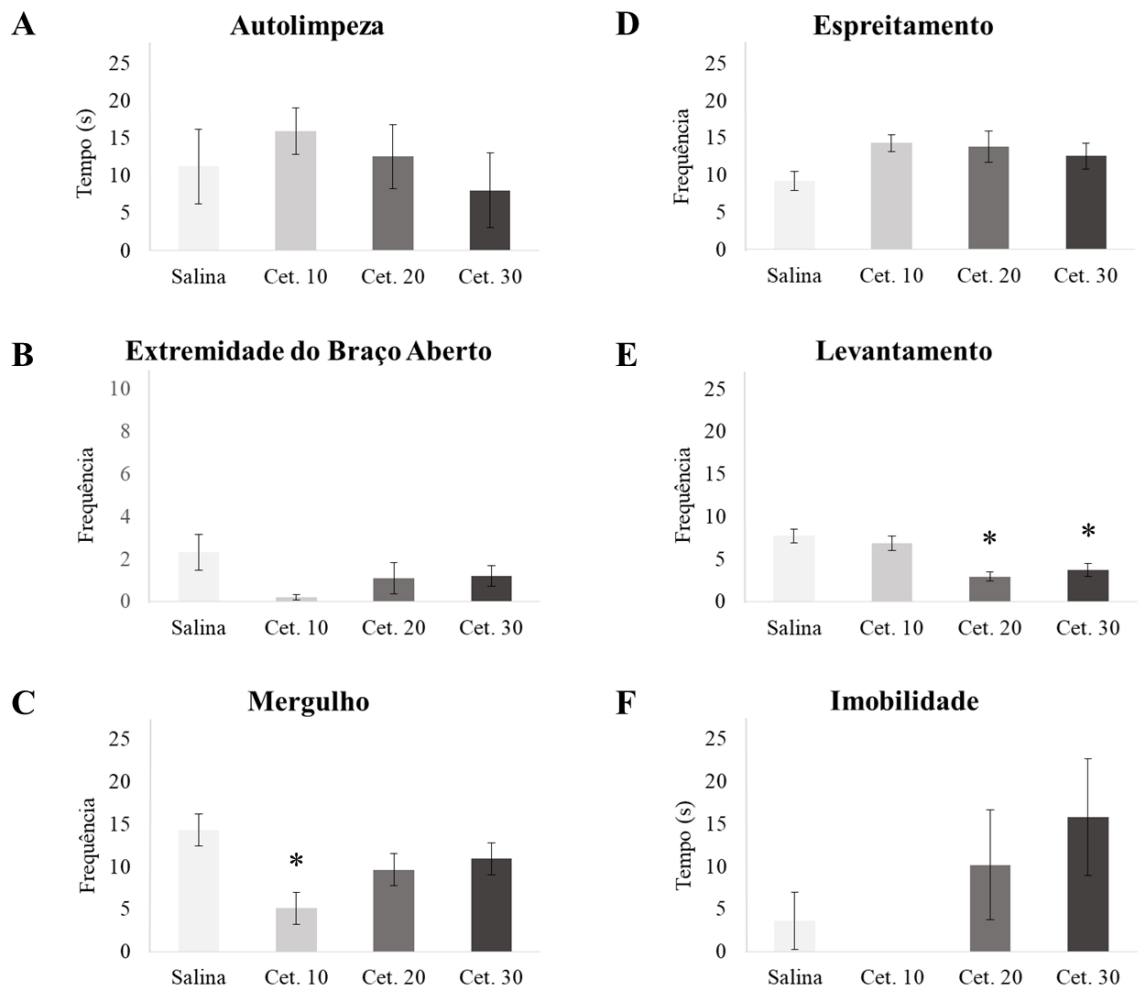


Figura 6. Efeitos da cetamina no teste de labirinto em cruz elevado – medidas complementares. Efeitos da administração intraperitoneal de cetamina nas doses de 10, 20 ou 30 mg/kg em relação ao grupo controle (salina) sobre os comportamentos avaliados durante 300 s no Labirinto em Cruz Elevado. (A) Tempo de autolimpeza. (B) Frequência de idas à extremidade do braço aberto. (C) Frequência de mergulhos. (D) Frequência de espreitamentos. (E) Frequência de Levantamentos. (F) Tempo de Imobilidade. Média ± EPM, n = 10-11. ANOVA de uma via seguida por Tukey. * diferente do grupo Salina. Fonte: Próprio autor.

4.2 Labirinto em T Elevado

A Figura 7 apresenta os resultados referentes às latências para esquia inibitória no braço fechado (Fig. 7B) e para fuga do braço aberto (Fig. 7C) no LTE. Os comportamentos foram observados em 3 tentativas de esquia inibitória e 3 tentativas de fuga, com duração máxima de 300 s para cada tentativa, 30 min após a administração de salina (n = 12), cetamina

10 mg/kg (n = 15), cetamina 20 mg/kg (n = 13), ou cetamina 30 mg/kg (n = 13). Para Esquiva, a ANOVA de duas vias com medidas repedidas não indicou efeito significativo para *tratamento* ($F_{3,49} = 0,54$; $p > 0,05$), indicou efeito significativo para *tentativa* ($F_{2,98} = 31,30$; $p < 0,05$), e não indicou efeito significativo para *interação* ($F_{6,98} = 0,17$; $p > 0,05$). A análise *post hoc* com o teste de Tukey revelou que a latência para esquiva na segunda tentativa foi maior do que na primeira tentativa ($p < 0,05$) e na terceira tentativa foi maior do que na primeira e segunda tentativas ($p < 0,05$), indicando aprendizagem ao longo do teste. Quanto à Fuga, a ANOVA de duas vias com medidas repetidas não indicou efeito significativo para *tratamento* ($F_{3,49} = 0,11$; $p > 0,05$), ou *interação* entre tratamento e tentativa ($F_{6,98} = 1,00$; $p > 0,05$), mas indicou efeito significativo para *tentativa* ($F_{2,98} = 3,34$; $p < 0,05$). A análise *post hoc* com o teste de Tukey não revelou efeito significativo para *tentativa* ao longo do teste ($p > 0,05$), apenas uma tendência de aumento pode ser observada entre a latência para fuga 3 em relação à fuga 2 ($p = 0,051$).

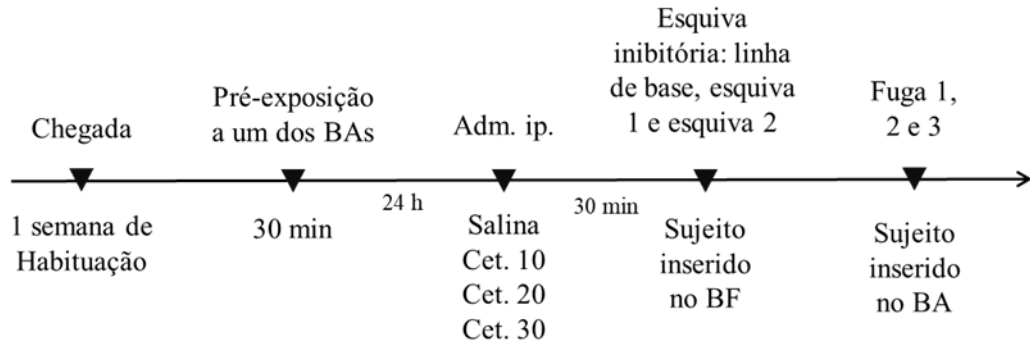
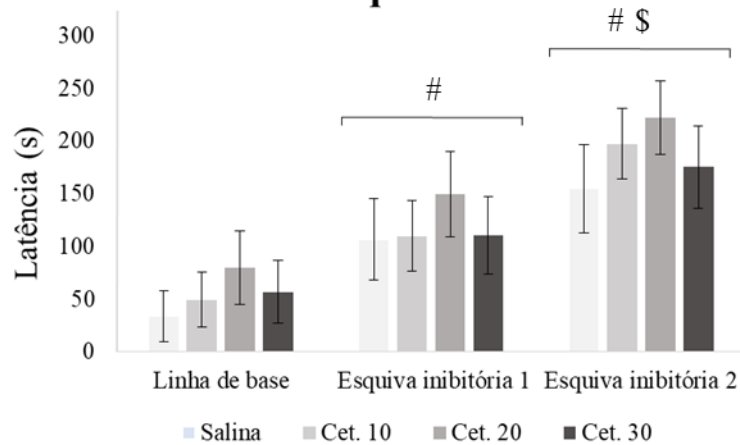
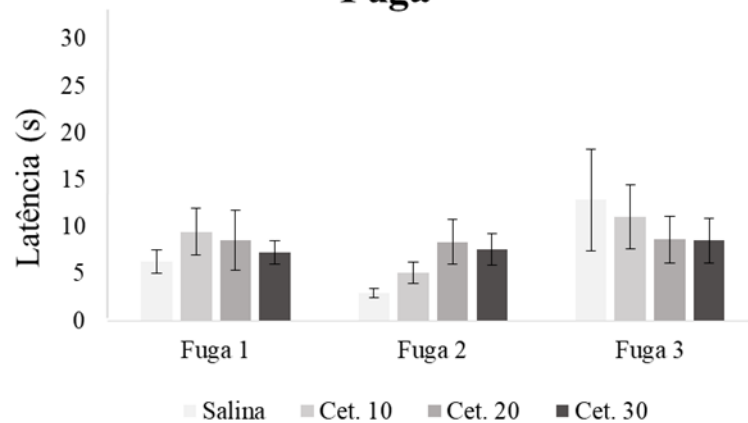
A**Labirinto em T elevado****B****Esquiva****C****Fuga**

Figura 7. Efeitos da cetamina no teste de labirinto em T elevado. Efeitos da administração intraperitoneal de cetamina nas doses de 10, 20 ou 30 mg/kg em relação ao grupo controle (salina) sobre os comportamentos avaliados durante 3 tentativas de esquiva e 3 tentativas de fuga, cada uma com no máximo 300 s. (A) Delineamento experimental do teste de LTE; (B) Latência para esquiva inibitória no braço fechado. (C) Latência para fuga do braço aberto. Média \pm EPM, $n = 12-15$. ANOVA de duas vias com medidas repetidas seguida por Tukey. # diferente da linha de base; \$ diferente da esquiva inibitória 1. Fonte: Próprio autor.

4.3 Preferência/aversão condicionada ao lugar

A Fig. 8B apresenta os resultados referentes à preferência ou aversão condicionada ao lugar (quadrante da arena) na sessão de linha de base e sessão de teste. Todos os comportamentos foram avaliados durante 900 s de livre exploração pelo aparato, 24 h antes e 24 h após a administração de salina (n = 11), cetamina 10 mg/kg (n = 13), cetamina 20 mg/kg (n = 12), ou cetamina 30 mg/kg (n = 11) e confinamento em um dos quadrantes da arena. A ANOVA de duas vias com medidas repetidas não revelou efeito significativo dos *tratamentos* para a permanência no quadrante alvo ($F_{3,43} = 1,50$; $p > 0,05$), também não revelou efeito significativo das *sessões* ($F_{1,43} = 0,93$; $p > 0,05$), ou *interação* entre tratamento e sessões ($F_{3,43} = 1,88$; $p > 0,05$).

4.4 Catalepsia

A Fig. 8C. apresenta os resultados referentes ao teste de catalepsia em duas tentativas, 15 e 45 min após a administração de salina (n = 12), cetamina 10 mg/kg (n = 13), cetamina 20 mg/kg (n = 12), ou cetamina 30 mg/kg (n = 12). A ANOVA de duas vias com medidas repetidas não revelou efeito significativo dos *tratamentos* ($F_{3,45} = 2,23$; $p > 0,05$), das *tentativas* ($F_{1,45} = 3,58$; $p > 0,05$), ou *interação* entre tratamento e tentativas ($F_{3,45} = 0,35$; $p > 0,05$).

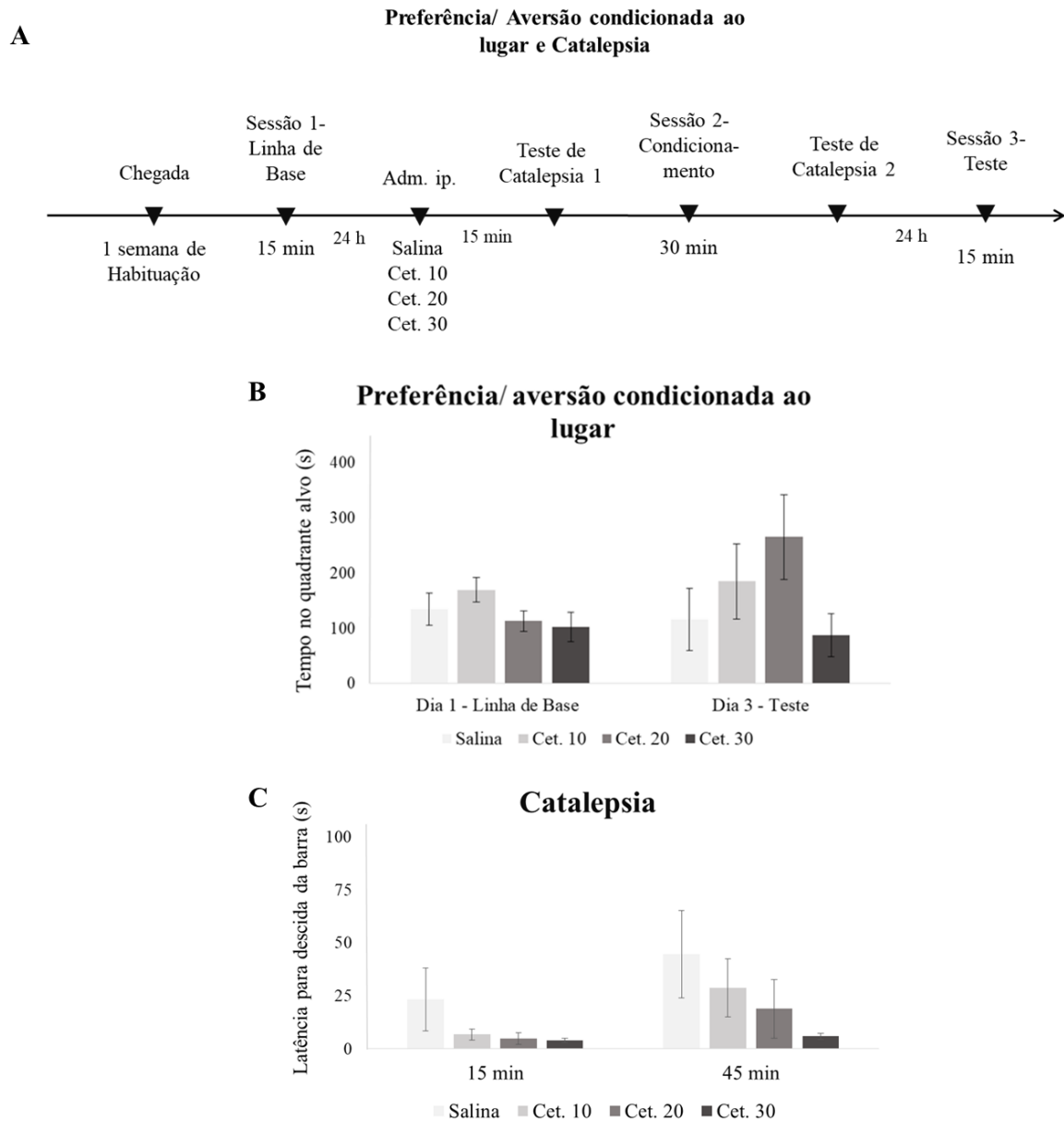


Figura 8. Efeitos da cetamina nos testes de preferência/aversão condicionada ao lugar e catalepsia. (A) Delineamento experimental dos testes de preferência/aversão condicionada ao lugar e catalepsia; (B) Efeitos da administração intraperitoneal de cetamina nas doses de 10, 20 ou 30 mg/kg em relação ao grupo controle (salina) sobre os comportamentos avaliados durante 2 sessões, uma de linha de base e uma de teste, ambas sessões com duração de 15 min. Média \pm EPM, $n = 11-13$. ANOVA de duas vias com medidas repetidas. (C) Efeitos da administração intraperitoneal de cetamina nas doses de 10, 20 ou 30 mg/kg em relação ao grupo controle (salina) sobre a latência de saída da posição imposta em 2 tentativas de teste de catalepsia, 15 e 45 min após a administração de cetamina ou salina. Média \pm EPM, $n = 11-13$. ANOVA de duas vias com medidas repetidas. Fonte: Próprio autor.

5. DISCUSSÃO

Este estudo teve como objetivo investigar os efeitos da administração de doses subanestésicas de cetamina em ratos Wistar nos testes do LCE, LTE, preferência/aversão condicionada ao lugar e catalepsia. Os resultados apontam para um efeito tipo-ansio gênico da cetamina na dose de 10 mg/kg, administrada 30 minutos antes da exposição ao LCE. Tal efeito tipo-ansio gênico da dose de 10 mg/kg de cetamina pôde ser observado por meio da diminuição da porcentagem de tempo e do número de entradas desse grupo nos braços abertos do labirinto. O mesmo efeito não pôde ser notado, no entanto, com as doses de 20 e 30 mg/kg, que não se diferiram significativamente do grupo salina. No teste do LTE, no que se refere às respostas de esquiva e fuga, não foram encontradas diferenças significativas entre os grupos para o tratamento. Sendo assim, a cetamina administrada 30 minutos antes do LTE não parece afetar os comportamentos relacionados ao pânico ou à ansiedade avaliados com esse aparato. No teste de preferência/aversão condicionada ao lugar, não houve preferência ou aversão em relação ao quadrante alvo após a administração de cetamina e confinamento. No teste de catalepsia, os ratos não apresentaram comprometimento motor com nenhuma das doses de cetamina administradas.

No LCE, o número de entradas e tempo de permanência nos braços abertos do grupo salina (controle), estão de acordo com outros trabalhos disponíveis na literatura (DE ALBRECHET-SOUZA et al., 2005; ALBRECHET-SOUZA et al., 2009; OLIVEIRA et al., 2014; SAITO, BRANDÃO, 2015), com uma média de 4 entradas nos braços abertos e tempo de permanência de cerca de 15% do tempo total do teste. Outro indicativo de que o protocolo para o LCE funcionou é que o número de entradas nos braços fechados e o tempo de permanência nesses braços foi maior do que nos braços abertos, o que é resultado da resposta

natural dos roedores de aversão a locais abertos evitando a exposição a possíveis predadores (GROSSEN, KELLY, 1972).

A diminuição da porcentagem de tempo e porcentagem do número de entradas nos braços abertos do LCE indica um efeito do tipo-ansio gênico da cetamina na dose de 10 mg/kg administrada 30 minutos antes do teste. Nossos achados estão de acordo com o estudo de Silvestre e colaboradores (1997), que obteve efeito tipo-ansio gênico com a dose de 7 mg/kg de cetamina no LCE. Outros estudos que avaliaram os efeitos comportamentais da cetamina também indicaram efeito tipo-ansio gênico em outros modelos animais (SILVESTRE et al., 1997, BABAR et al., 2001, JUVEN-WETZLER et al., 2014, CLIFTON et al., 2018, SAUR et al., 2017). Todavia, os resultados obtidos no LCE com cetamina são variados, com quantidade expressiva de efeitos tipo-ansiolíticos (HOU et al., 2018; ZHANG et al., 2015; ENGIN et al., 2001), incluindo trabalhos que usaram a dose de 10 mg/kg (KILIC et al., 2014; PAPP et al., 2017; JIANG et al., 2017); tipo-ansio gênicos (SILVESTRE et al., 1997; LOSS et al., 2012); e sem efeito (CARRIER, KABBAJ, 2013; JUVEN-WETZLER et al., 2014), inclusive com a dose de 10 mg/kg (MELO et al., 2015; HOULOBOVA et al., 2016; ENGIN et al., 2009) .

A dose de 20 mg/kg, em nosso estudo não foi capaz de produzir efeitos tipo-ansiolíticos ou tipo-ansio gênicos, o que está de acordo com o estudo de Hou e colaboradores (2018) que também não encontrou efeito no LCE, usando a dose 20 mg/kg de cetamina em ratos Sprague-Dawley machos. No entanto, Loss e colaboradores (2012), obteve efeito tipo-ansio gênico com a dose subanestésica de 22,5 mg/kg de cetamina no LCE. Já a dose de 30 mg/kg de cetamina, que em nossa investigação não produziu efeitos significativos, em estudos com camundongos no LCE, induziu efeitos tipo-ansiolítico (HAYASE et al., 2006; MASTRODONATO et al., 2018). Engin e colaboradores (2012) obtiveram efeito do tipo-ansiolítico usando a dose de 50 mg/kg em comparação com a dose de 10 mg/kg de cetamina, que resultou em efeito nulo no LCE. Talvez uma dose mais elevada do que as usadas no nosso estudo possa ser mais eficiente

para reduzir comportamentos ansiosos. Todavia, é difícil afirmar que tal efeito possa ser explicado apenas pela dose, já que muitas são as variáveis que podem interferir nesses resultados. Por exemplo, Engin e colaboradores (2012) utilizaram ratos Sprague-Dawley enquanto em nosso estudo usamos ratos Wistar. É possível que a variabilidade dos efeitos comportamentais induzidos pela administração de cetamina estejam relacionados com as doses da droga, a espécie/linhagem, idade ou sexo dos animais, se estes são ingênuos experimentalmente ou previamente condicionados, do modelo animal utilizado, o tipo de cetamina usada, o intervalo entre a administração da droga e o teste e o modelo animal empregado (SILOTE et al., 2020).

Também avaliamos os efeitos da cetamina sobre medidas comportamentais complementares observadas no LCE como: autolimpeza, exploração da extremidade do braço aberto, mergulho, espreitamento, levantamento e imobilidade (de acordo com COLE, RODGERS, 1993; ANSELONI et al., 1997; CRUZ-MORALES et al., 2002; NOSEK et al., 2008). Foi observada uma diminuição da frequência de mergulhos com a dose de 10 mg/kg de cetamina, o que indica um efeito do tipo-ansiógênico (COLE, RODGERS, 1993; RODGERS et al., 1997), corroborando os achados observados a partir das medidas tradicionais no LCE em nosso estudo. Outro resultado significativo estatisticamente, no LCE, foi a diminuição de frequência de levantamentos com as doses de 20 mg/kg e 30 mg/kg de cetamina. Esse resultado está de acordo com os achados de um estudo prévio de nosso laboratório (DE CASTRO, 2019), que também observou uma diminuição no número de levantamentos no LCE e no campo aberto com as doses de 20 mg/kg e 30 mg/kg de cetamina.

No LTE foi possível encontrar diferença significativa, estatisticamente, para as tentativas de esquiva do grupo salina (controle), como outros trabalhos usando o LTE já demonstraram (PINHEIRO et al., 2008; SANT'ANA et al., 2016; SILOTE et al., 2020; CHÍRICO et al., 2021). A latência para esquiva na segunda tentativa foi maior do que na

primeira; a latência para esquiva na terceira tentativa foi maior do que na primeira e segunda tentativas, o que demonstrou a aprendizagem dos animais entre as tentativas e que o protocolo de LTE foi, portanto, efetivo. Já para fuga, conforme esperado (ZANGROSSI, GRAEFF, 1997), não foram observadas diferenças significativas entre as tentativas para o grupo controle.

Em relação à cetamina, no LTE não foi encontrado, em nossa investigação, efeito do tipo-ansiolítico ou ansiogênico ou efeito tipo-panicolítico ou panicogênico. Até o presente momento, temos conhecimento de apenas dois estudos disponíveis na literatura que investigaram os efeitos de doses subanestésicas da cetamina no LTE (SILOTE et al., 2020, CHÍRICO et al., 2021). Nossos achados em relação ao LTE corroboram os resultados de Silote e colaboradores (2020), que também não encontraram efeitos significativos da cetamina com as doses de 10 e 30 mg/kg. No entanto, Chírigo e colaboradores (2021) encontraram efeito tipo-panicolítico da cetamina com doses de 40 e 80 mg/kg e efeito tipo-ansiolítico dois e sete dias após a administração de cetamina na dose anestésica de 80 mg/kg. Apesar do efeito tipo-panicolítico no LTE, Chírigo e colaboradores (2021) concluem que seu trabalho fornece evidências de que a cetamina induz o comportamento tipo-ansioso em ratos machos. Uma possível explicação seria que a resposta ambivalente (panicolítica e ansiogênica) induzida pela mesma dose de 80 mg/kg de cetamina no LTE, apresenta evidência de que as áreas e mecanismos encefálicos subjacentes às respostas de pânico e ansiedade são diferentes, apesar de se sobreporem de forma significativa (TOVOTE et al., 2015; ZANGROSSI, GRAEFF, 2014; CHIRICO et al., 2021). Ademais, sobre a dose de 40 mg/kg de cetamina que induziu o efeito tipo-panicolítico, é importante ressaltar que esta não alterou a atividade locomotora no campo aberto (CHIRICO et al., 2021).

Outro estudo recente (MARASCHIN et al., 2022) avaliou os efeitos da cetamina e da S(+)-cetamina, administradas intraperitonealmente, sobre comportamentos de pânico com ratos Wistar machos numa exposição aguda à uma câmara de hipóxia. Foi observado que as doses

subanestésicas de 1,25, 5, 10 e 20 mg/kg de cetamina racêmica (a mesma utilizada em nosso estudo e nas investigações de Silote e colaboradores (2020) e Chírico e colaboradores (2021)), não resultou em efeitos do tipo-panicolítico ou tipo-panicogênico, o que está de acordo com nossos resultados no LTE. Contudo, uma única dose de 20 mg/kg de S(+)-cetamina resultou em diminuição significativa do número de saltos na câmara de hipóxia, o que caracterizou um efeito do tipo-panicolítico que persistiu até sete dias após essa única administração. Esse efeito significativo e persistente da S(+)-cetamina pode indicar que uma dose mais elevada de cetamina, que teria maior concentração do enantiômero S, poderia resultar em efeito do tipo-panicolítico no teste do LTE. No entanto, uma dose mais alta também poderia resultar em alteração motora e influenciar o desempenho dos ratos no LTE. Por isso, pode ser muito interessante produzir mais investigações administrando a S(+)-cetamina no LTE para verificar se resultados similares aos de Maraschin e colaboradores (2022) serão obtidos.

O teste de preferência/aversão condicionada ao lugar foi realizado para verificar se a cetamina, nas doses utilizadas no presente estudo, se constituiria em um estímulo prazeroso ou aversivo, que evocaria respostas de preferência ou aversão ao lugar. Primeiramente, em relação ao grupo controle, não foram observadas alterações no tempo de permanência no quadrante alvo entre a linha de base e o teste. Outrossim, não foi observada diferença significativa, para o tempo de permanência no quadrante alvo, na sessão de linha de base, entre os grupos do nosso estudo, o que mostra que o protocolo para este teste estava funcionando adequadamente e está de acordo estudos anteriores (XU et al., 2006; ZANOVELI et al., 2007; PARISE et al., 2013; STRONG et al., 2017; SILVA-CARDOSO, NOBRE, 2021).

Em relação ao tratamento com a cetamina, verificamos que nas doses utilizadas no presente estudo não se constituiu em um estímulo que evocou respostas de aversão ou preferência condicionada ao lugar. Levando em consideração que a cetamina tem sido amplamente utilizada como droga de abuso (FREESE et al., 2002; SASSANO-HIGGINS et al.,

2016) ela poderia ser percebida como um estímulo apetitivo, com efeito hedônico, o que poderia indicar uma tendência ao abuso dessa droga. Por outro lado, o efeito tipo-ansio gênico observado no LCE poderia sugerir uma tendência à aversão condicionada ao lugar. Ambas situações, de preferência ou aversão da cetamina indicariam uma problemática na administração de tal droga, já que esta poderia levar ao uso abusivo para obter esse efeito hedônico, ou reduziria sua aceitabilidade geral diminuindo a probabilidade de seu uso após efeitos aversivos de sua administração. Sendo assim, é importante ressaltar, que como esperado, nenhuma das doses do nosso estudo resultaram em efeitos reforçadores ou aversivos *per se*. Portanto, possíveis efeitos reforçadores ou aversivos da cetamina não influenciaram os resultados do LCE e LTE. Além disso, nas sessões de linha de base e teste do condicionamento ao lugar, não havia administração de cetamina ou qualquer outra droga, o que elimina potenciais efeitos de alterações motoras ou sensoriais induzidas pela cetamina nesse teste.

De acordo com a revisão de Le e colaboradores (2022), que apresenta uma síntese de resultados para o teste de preferência/aversão condicionada ao lugar a partir da administração de cetamina, foram identificados apenas dois estudos que investigaram os efeitos da cetamina em ratos Wistar. Preferência ao lugar foi observada com a administração de 10 e 20 mg/kg de cetamina nestes dois estudos (XU et al., 2006; SILVA-CARDOSO, NOBRE, 2021). As diferenças nestes resultados dos nossos podem ser atribuídas a diferenças metodológicas, como por exemplo a administração repetida de cetamina em mais de uma sessão de condicionamento, ao contrário da nossa abordagem de administrar cetamina apenas uma vez em uma única sessão.

Para investigar se a cetamina em doses subanestésicas causaria alterações motoras, foi realizado o teste de catalepsia, que consiste em verificar se o animal é capaz de corrigir posturas impostas externamente (COLOMBO et al., 2013; BARROCA et al., 2019; WAKU et al., 2022). É importante avaliar possíveis alterações motoras induzidas pela administração da cetamina, que é um anestésico (CRAVEN, 2007). Em nosso estudo, não observamos efeitos motores

significativos da cetamina em relação ao grupo controle no LCE, apesar de uma pequena tendência de diminuição das entradas nos braços fechados poder ser observada. Desta forma, possíveis alterações da atividade motora induzidas pela cetamina também foram exploradas por meio do teste de catalepsia. Conforme esperado, esse teste não indicou alteração motora em nenhum dos grupos avaliados. Este achado está de acordo com o trabalho Silote e colaboradores (2020) que não encontrou prejuízo a atividade motora com as doses de 10 mg/kg e 30 mg/kg de cetamina no campo aberto e o estudo de Maraschin e colaboradores (2022) que não encontrou nenhuma alteração na atividade motora com a dose de 20 mg/kg ip. de cetamina na câmara de hipóxia. O já mencionado trabalho de Loss e colaboradores (2012) também não encontrou efeito motor nos grupos em que foi administrada cetamina na dose de 22,5 mg/kg no teste de campo aberto. Em outro estudo realizado em nosso laboratório, a cetamina nas doses de 10, 20 e 30 mg/kg diminuiu o número de levantamentos no campo aberto, mas não afetou o tempo de imobilidade e, inclusive, na dose de 30 mg/kg aumentou o número de cruzamentos realizados no aparato (DE CASTRO, 2019). Outro estudo (PATEL, CHAPIN, 1990), entretanto, relatou que a cetamina nas doses de 5, 10, 15 e 20 mg/kg im. produziu um comportamento inquieto-hiperativo em ratos enquanto doses de 30 mg/kg e 50 mg/kg im. produziram comportamento de catalepsia nos ratos - o que reforça a ideia de que doses mais elevadas da cetamina poderiam causar alterações motoras. Em nosso estudo, é possível afirmar que prejuízos na atividade motora não influenciaram os resultados dos testes de LCE e LTE.

Futuras investigações devem administrar cetamina em áreas encefálicas relacionadas ao medo e ansiedade como amígdala, córtex pré-frontal, hipocampo, substância cinzenta periaquedutal, colículos inferiores, e explorar potenciais efeitos no LCE e LTE. Além disso, é importante avaliar os efeitos diferenciais da cetamina e da S(+)-cetamina para machos e fêmeas, levando em consideração as fases do ciclo estral, já que alguns trabalhos apontam para um efeito tipo-antidepressivo ou tipo-ansiolítico mais pronunciado da cetamina em ratas

(CARRIER, KABBAJ, 2013; FRANCESCHELLI et al., 2015; GUARRACI et al., 2018; SALAND, KABBAJ, 2018; DOSSAT et al., 2018) e a produção para verificar os efeitos da cetamina em fêmeas ainda é limitada. Nesse sentido, vale evidenciar que as mulheres são mais afetadas pelos transtornos de ansiedade que os homens (CRASKE et al., 2017; SHANSKY, MURPHY, 2021). Dado os efeitos promissores da cetamina em sintomas depressivos, faz-se necessário também avançar a compreensão dos mecanismos pelos quais a cetamina exerce seus efeitos, para o desenvolvimento de fármacos com o mesmo mecanismo de ação, mas sem os efeitos colaterais da cetamina. O entendimento de como a cetamina funciona pode mudar a próxima geração de antidepressivos (ZANOS, GOULD, 2018).

Interessante acrescentar que, em consequência do viés de publicação, é possível que estudos sem efeitos significativos ou com efeito negativo da cetamina não tenham sido publicados, o que dificulta uma apreensão real acerca dos resultados e pode induzir ao viés em metanálises, produzindo uma distorção na literatura científica e levando pesquisadores ao erro, no que diz respeito ao entendimento dos reais efeitos provocados pela cetamina (SHARMA, VERNA, 2019). Nesse sentido, trabalhos como o nosso, que não apresentaram efeito significativo após a administração de cetamina são relevantes e precisam estar disponíveis na literatura afim de evitar o viés de publicação e os possíveis erros decorrentes deste.

Em resumo, encontramos efeito do tipo-ansiógênico no LCE, mas não encontramos efeitos significativos da cetamina no LTE. Também não observamos efeitos significativos da cetamina nos testes de catalepsia e preferência/aversão condicionada ao lugar. O efeito tipo-antidepressivo rápido e sustentado da cetamina parece um achado robusto e promissor (YILMAZ et al., 2002; ZARATE et al., 2006; GARCIA et al., 2008; MAENG et al., 2008; KOIKE et al., 2011, LI et al., 2011; LAI et al., 2014; FEDER et al., 2014; LOO et al., 2016; GLUE et al., 2020), já os efeitos da cetamina em modelos animais para ansiedade e pânico, por outro lado, são ainda contraditórios. Portanto, mais investigações são necessárias para explorar

potenciais efeitos tipo-ansiolítico e/ou tipo-panicolítico da cetamina, suas especificidades e mecanismos de ação.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALBRECHET-SOUZA, L., BORELLI, K. G., CARVALHO, M. C., BRANDÃO, M. L. The anterior cingulate cortex is a target structure for the anxiolytic-like effects of benzodiazepines assessed by repeated exposure to the elevated plus maze and Fos immunoreactivity. **Neuroscience**, v. 164(2), p. 387-397. 2009.
- ALBRECHET-SOUZA, L., OLIVEIRA, A. R., DE LUCA, M. C. Z., TOMAZINI, F. M., SANTOS, N. R., & BRANDÃO, M. L. A comparative study with two types of elevated plus-maze (transparent vs. opaque walls) on the anxiolytic effects of midazolam, one-trial tolerance and fear-induced analgesia. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, v. 29(4), p. 571-579. 2005.
- AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION (APA). Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, Fifth Edition (DSM-5). Arlington, VA: **American Psychiatric Association**, 2013.
- ANDREATINI, R., BOERNGEN-LACERDA, R., ZORZETTO FILHO, D. Tratamento farmacológico do transtorno de ansiedade generalizada: perspectivas futuras. **Revista Brasileira de Psiquiatria**, v. 23, p. 233-242. 2001.
- ANSELONI, V. Z., BRANDÃO, M. L. Ethopharmacological analysis of behaviour of rats using variations of the elevated plus-maze. **Behavioural Pharmacology**, v. 8(6), p. 533-540. 1997.
- AUTRY, A.E., ADACHI, M., NOSYREVA, E., NA, E. S., LOS, M. F., CHENG, P., MONTEGGIA, L. M. NMDA receptor blockade at rest triggers rapid behavioural antidepressant responses. **Nature**, v. 475(7354), p. 91-95. 2011.
- BABAR, E., ÖZGÜNEN, T., MELIK, E., POLAT, S., & AKMAN, H. Effects of ketamine on different types of anxiety/fear and related memory in rats with lesions of the median raphe nucleus. **European Journal of Pharmacology**, v. 431(3), p. 315-320. 2001.
- BANDELOW, B., MICHAELIS, S., WEDEKIND, D. Treatment of anxiety disorders. **Dialogues in Clinical Neuroscience**, v. 19, p. 93-107. 2017.
- BERGINK, V., VAN MEGEN H. J., WESTENBERG, H. G. Glutamate and anxiety. **European Neuropsychopharmacology**, v. 14(3), p. 175-183. 2004.
- BERMUDO-SORIANO, C., PEREZ-RODRIGUEZ, M. M., VAQUERO-LORENZO, C., BACA-GARCIA, E. New perspectives in glutamate and anxiety. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 100(4), p. 752-774. 2012.
- CAROBREZ, A. P., & BERTOGLIO, L. J. Ethological and temporal analyses of anxiety-like behavior: The elevated plus-maze model 20 years on. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 29(8), p. 1193-1205. 2005.
- CARRIER, N., & KABBAJ, M. Sex differences in the antidepressant-like effects of ketamine. **Neuropharmacology**, v. 70, p. 27-34. 2013.
- CARRIER, N., KABBAJ, M. Sex differences in the antidepressant-like effects of ketamine. **Neuropharmacology**, v. 70, p. 27-34. 2013.
- CHÍRICO, M. T. T., GUEDES, M. R., VIEIRA, L. G., REIS, T. O., DOS SANTOS, A. M., SOUZA, A. B. F., ... de Menezes, R. C. A. Lasting effects of ketamine and isoflurane administration on anxiety- and panic-like behavioral responses in Wistar rats. **Life Sciences**, v. 276, 119423. 2021.
- CLIFTON, N. E., THOMAS, K. L., HALL, J. The effect of ketamine on the consolidation and extinction of contextual fear memory. **Journal of Psychopharmacology**, v. 32(2), p. 156-162. 2018.
- COLE, J. C.; RODGERS, R. J. An ethological analysis of the effects of chlordiazepoxide and bretazenil (Ro 16-6028) in the murine elevated plus-maze. **Behavioural Pharmacology**, v. 4(6), p. 573-580. 1993.

- CRASKE, M. G., STEIN, M. B., ELEY, T. C., MILAD, M. R., HOLMES, A., RAPEE, R. M., & WITTCHEN, H.-U. Anxiety disorders. **Nature Reviews Disease Primers**, v. 3, p. 1-18. 2017.
- CRASKE, M. G., STEIN, M. B., ELEY, T. C., MILAD, M. R., HOLMES, A., RAPEE, R. M., WITTCHEN, H.-U. Anxiety disorders. **Nature Reviews Disease Primers**, v. 3, 17024. 2017.
- CRAVEN, R. Ketamine. **Anaesthesia**, v.62(s1), p. 48–53. 2007.
- CRUZ-MORALES, S., SANTOS, N., BRANDÃO, M. One-trial tolerance to midazolam is due to enhancement of fear and reduction of anxiolytic-sensitive behaviors in the elevated plus-maze retest in the rat. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 72(4), p. 973–978. 2002.
- DA SILVA, F. C. C., DANTAS, R. T., CITÓ, M. D DO C. DE O. DE VASCONCELOS, S. M. M., FONTELES, M. M. DE F., VIANA, G. S. DE B., & DE SOUSA, F. C. F. Ketamina, da anestesia ao uso abusivo. **Revista Neurociências**, v. 18(2), p. 227-237. 2010.
- DALY, E. J., SINGH, J. B., FEDGCHIN, M., COOPER, K., LIM, P., SHELTON, R. C., ... DREVETS, W. C. Efficacy and Safety of Intranasal Esketamine Adjunctive to Oral Antidepressant Therapy in Treatment-Resistant Depression. **JAMA Psychiatry**, v. 75(2), p. 139-148. 2018.
- DE CASTRO, A. **Efeitos da Cetamina sobre comportamentos defensivos e compulsivos em ratos**. Monografia (Graduação em Psicologia) – Universidade Federal de São Carlos. São Carlos. 2019.
- DE OLIVEIRA, A. R., COLOMBO, A. C., MUTHURAJU, S., ALMADA, R. C., BRANDÃO, M. L. Dopamine D2-Like Receptors Modulate Unconditioned Fear: Role of the Inferior Colliculus. **Plos One**, 9(8), e104228. 2014.
- DERAKHSHANIAN S., ZHOU M., RATH A., BARLOW R., BERTRAND S., DEGRAW C., LEE C., HASOON J., KAYE A. D. Role of Ketamine in the Treatment of Psychiatric Disorders. **Health Psychology Research**, v. 9(1), e25091. 2021.
- DOLZANI, S.D., BARATTA, M.V., MOSS, J.M., LESLIE, N.L., TILDEN, S.G., SORENSEN, A.T., WATKINS, L.R., LIN, Y., MAIER, S.F. Inhibition of a descending prefrontal circuit prevents ketamine-induced stress resilience in females. **Eneuro**. 2018.
- DOSSAT, A. M., WRIGHT, K. N., STRONG, C. E., KABBAJ, M. Behavioral and biochemical sensitivity to low doses of ketamine: Influence of estrous cycle in C57BL/6 mice. **Neuropharmacology**, v. 130, p. 30-41. 2018.
- DUCLLOT, F., PEREZ-TABOADA, I., WRIGHT, K. N., & KABBAJ, M. Prediction of individual differences in fear response by novelty seeking, and disruption of contextual fear memory reconsolidation by ketamine. **Neuropharmacology**, v. 109, p. 293–305. 2016.
- ELVANDER-TOTTIE, E., ERIKSSON T. M., SADIN J., OGREN S. O. N-methyl-D-aspartate receptors in the medial septal área have a role in spatial and emotional learning in the rat. **Neuroscience**, v. 142, p. 963-978. 2006.
- ENGIN, E., TREIT, D., DICKSON, C. T. Anxiolytic- and antidepressant-like properties of ketamine in behavioral and neurophysiological animal models. **Neuroscience**, v. 161(2), p. 359-369. 2009.
- FARBER, N. B., NEWCOMER, J. W., & OLNEY, J. W. Chapter 28 The glutamate synapse in neuropsychiatric disorders: Focus on schizophrenia and Alzheimer’s disease. **Progress in Brain Research**, v. 116, p. 421-37. 1998.
- FEDER, A., PARIDES, M. K., MURROUGH, J. W., PEREZ, A. M., MORGAN, J. E., SAXENA, S., CHARNEY, D. S. Efficacy of Intravenous Ketamine for Treatment of Chronic Posttraumatic Stress Disorder. **Jama Psychiatry**, v. 71(6), p. 681-688. 2014.
- FERNANDES, M. A., RIBEIRO, H. K. P., SANTOS, J. D. M., MONTEIRO, C. F. DE S., COSTA, R. DOS S., & SOARES, R. F. S. (2018). Prevalence of anxiety disorders as a cause of workers’ absence. **Revista Brasileira de Enfermagem**, v. 71, p. 2213-2220. 2018.
- FILE, S. E. The interplay of learning and anxiety in the elevated plus-maze. **Behavioural Brain Research**, v. 58(1-2), p. 199–202. 1993.

- FRAGA, D. B., OLESCOWICZ, G., MORETTI, M., SITENESKI, A., TAVARES, M. K., AZEVEDO, D., ... RODRIGUES, A. L. S. Anxiolytic effects of ascorbic acid and ketamine in mice. **Journal of Psychiatric Research**, v. 100, p. 16–23. 2018.
- FRANCESCHELLI, A., SENS, J., HERCHICK, S., THELEN, C., & PITYCHOUTIS, P. M. Sex differences in the rapid and the sustained antidepressant-like effects of ketamine in stress-naïve and “depressed” mice exposed to chronic mild stress. **Neuroscience**, v. 290, p. 49-60. 2015.
- FREESE, T. E., MIOTTO, K., & REBACK, C. J. The effects and consequences of selected club drugs. **Journal of Substance Abuse Treatment**, v. 23(2), p. 151-156. 2002.
- GARAKANI, A., MATHEW S. J., CHARNEY D. S. Neurobiology of anxiety disorders and implications for treatment. **Sinai Journal of Medicine**, v. 73, p. 941-949. 2006.
- GARAKANI, A., MATHEW S. J., CHARNEY D. S. Neurobiology of anxiety disorders and implications for treatment. **Sinai Journal of Medicine**, v. 73, p. 941-949. 2006.
- GARCIA, L. S. B., COMIM, C. M., VALVASSORI, S. S., RÉUS, G. Z., BARBOSA, L. M., ANDREAZZA, A. C., QUEVEDO, J. Acute administration of ketamine induces antidepressant-like effects in the forced swimming test and increases BDNF levels in the rat hippocampus. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, v. 32(1), p. 140-144. 2008.
- GLUE, P., MEDLICOTT, N. J., HARLAND, S., NEEHOFF, S., ANDERSON-FAHEY, B., LE NEDELEC, M., GRAY, A., & MCNAUGHTON, N. Ketamine's dose-related effects on anxiety symptoms in patients with treatment refractory anxiety disorders. **Journal of Psychopharmacology**, v. 31(10), p. 1302-1305. 2017.
- GLUE, P., MEDLICOTT, N. J., NEEHOFF, S., SURMAN, P., LAM, F., HUNG, N., & HUNG, C.-T. Safety and efficacy of extended release ketamine tablets in patients with treatment-resistant depression and anxiety: Open label pilot study. **Therapeutic Advances in Psychopharmacology**, v. 10, p. 1-6. 2020.
- GLUE, P., MEDLICOTT, N. J., SURMAN, P., LAM, F., HUNG, N., & HUNG, C. T. Ascending-dose study of controlled-release ketamine tablets in healthy volunteers: Pharmacokinetics, pharmacodynamics, safety, and tolerability. **Journal of Clinical Pharmacology**, v. 60(6), p. 751-757. 2020.
- GLUE, P., NEEHOFF, S. M., MEDLICOTT, N. J., GRAY, A., KIBBY, G., & MCNAUGHTON, N. Safety and efficacy of maintenance ketamine treatment in patients with treatment-refractory generalised anxiety and social anxiety disorders. **Journal of Psychopharmacology**, v. 32(6), p. 663-667. 2018.
- GLUE, P., NEEHOFF, S., SABADEL, A., BROUGHTON, L., LE NEDELEC, M., SHADLI, S., MCNAUGHTON, N., & MEDLICOTT, N. J. Effects of ketamine in patients with treatment-refractory generalized anxiety and social anxiety disorders: Exploratory double-blind psychoactive-controlled replication study. **Journal of Psychopharmacology**, v. 34(3), p. 267-272. 2020.
- GOULARTE, J. F., SERAFIM, S. D., COLOMBO, R., HOGG, B., CALDIERARO, M. A., & ROSA, A. R. COVID-19 and mental health in Brazil: Psychiatric symptoms in the general population. **Journal of Psychiatric Research**, v. 132, p. 32–37. 2021.
- GOUVEIA JR, A., ANTUNES, G., MAXIMINO, C., MORATO, S. The effects of diazepam on the elevated T-maze are dependent on the estrous cycle of rats. **Psychology & Neuroscience**, v. 2, p. 227-233. 2009.
- GRAEFF, F.G., NETTO, C.F., & ZANGROSSI JR., H. The elevated t-maze as an experimental model of anxiety. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, v. 23, p. 237-246. 1998.
- GRAEFF, F.G.; VIANA, M.B.; TOMAZ, C.A.B. The elevated T-maze, a new experimental model of anxiety and memory: effect of diazepam. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 26, p. 67-70. 1993.

- GROSSEN, N. E., KELLEY, M. J. Species-specific behavior and acquisition of avoidance behavior in rats. **Journal of Comparative and Physiological Psychology**, v. 81(2), p. 307-310. 1972.
- GUARRACI, F. A., GONZALEZ, C. M. F., LUCERO, D., WOMBLE, P. D., ABDEL-RAHIM, H., DEVORE, J., ... BOYETTE-DAVIS, J. The effects of ketamine on sexual behavior, anxiety, and locomotion in female rats. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 165, p. 36-44. 2018.
- GUO, R., TANG, Q., YE, Y., LU, X., CHEN, F., DAI, X., ... LIAO, L. Effects of gender on ketamine-induced conditioned place preference and urine metabonomics. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, v. 77, p. 263-274. 2016.
- HASENÖHRL R. U., OITZL, M. S., HUSTON, J. P. Conditioned place preference in the corral: a procedure for measuring reinforcing properties of drugs. **Journal of Neuroscience Methods**, v. 30 (2), p. 141-146. 1989.
- HANDLEY, S. L., MITHANI, S. Effects of alpha-adrenoceptor agonists and antagonists in a maze-exploration model of fear-motivated behaviour. **Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology**, v. 327, p. 1-5. 1984.
- HAYASE, T., YAMAMOTO, Y., YAMAMOTO, K. **BMC Neuroscience**, v. 7(1), p.25. 2006.
- HOGG, S. A review of the validity and variability of the Elevated Plus-Maze as an animal model of anxiety. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 54(1), p. 21–30. 1996.
- HOLUBOVA, K., KLETECKOVA, L., SKURLOVA, M., RICNY, J., STUHLIK, A., VALES, K. Rapamycin blocks the antidepressant effect of ketamine in task-dependent manner. **Psychopharmacology**, v. 233(11), p. 2077-2097. 2016.
- HOU, L., QI, Y., SUN, H., WANG, G., LI, Q., WANG, Y., ... SUN, L. Applying ketamine to alleviate the PTSD-like effects by regulating the HCN1-related BDNF. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, v. 86, p. 313-321. 2018.
- JANSEN, K. L. R. A Review of the Nonmedical Use of Ketamine: Use, Users and Consequences. **Journal of Psychoactive Drugs**, v. 32(4), p. 419-433. 2000.
- JIANG, Y., WANG, Y., SUN, X., LIAN, B., SUN, H., WANG, G., ... SUN, L. Short- and long-term antidepressant effects of ketamine in a rat chronic unpredictable stress model. **Brain and Behavior**, v. 7(8), e00749. 2017.
- JUVEN-WETZLER, A., COHEN, H., KAPLAN, Z., KOHEN, A., PORAT, O., ZOHAR, J. Immediate ketamine treatment does not prevent posttraumatic stress responses in an animal model for PTSD. **European Neuropsychopharmacology**, v. 24(3), p. 469-479. 2014.
- KATZMAN, M.A., BLEAU, P., BLIER, P. *et al.* Canadian clinical practice guidelines for the management of anxiety, posttraumatic stress and obsessive-compulsive disorders. **BMC Psychiatry**, v. 14, S1. 2014.
- KILIC, F. S., ISMAILOGLU, S., KAYGISIZ, B., & ONER, S. Effects of single and combined gabapentin use in elevated plus maze and forced swimming tests. **Acta Neuropsychiatrica**, v. 26(05), p. 307–314. 2014.
- KOEN, N., STEIN, D.J. Pharmacotherapy of anxiety disorders: a critical review. **Dialogues in Clinical Neuroscience**, v.13, p. 423-437. 2011.
- KOHR, R., & DURIEUX, M. E. Ketamine. **Anesthesia & Analgesia**, v. 87(5), p. 1186-1193. 1998.
- KOIKE, H., IJIMA, M., & CHAKI, S. Involvement of AMPA receptor in both the rapid and sustained antidepressant-like effects of ketamine in animal models of depression. **Behavioural Brain Research**, v. 224(1), p. 107-111. 2011.
- LADER, M. Benzodiazepines. **CNS Drugs**, v.1(5), p. 377-387. 1994.

- LAI, R., KATALINIC, N., GLUE, P., SOMOGYI, A. A., MITCHELL, P. B., LEYDEN, J., ... LOO, C. K. Pilot dose–response trial of i.v. ketamine in treatment-resistant depression. **World Journal of Psychiatry**, v. 15(7), p. 579-584. 2014.
- LE, T., CORDERO I. P., JAWAD, M. Y., SWAINSON, J., Di Vincenzo, J. D., JABERI S., PHAN L., LUI L. M.W., HO, R., ROSENBLAT J.D., MCINTYRE, R. S. The abuse liability of ketamine: A scoping review of preclinical and clinical studies. **Journal of Psychiatric Research**, v. 151, p. 476-496. 2022.
- LEDOUX, J. E., PINE, D. S. Using neuroscience to help understand fear and anxiety: a two-system framework. **American Journal of Psychiatry**, v. 173, p. 1083-1093. 2016.
- LEDOUX, Joseph E. Emotion, Memory and the Brain. **Scientific American**, v. 270(6), p. 50-57. 1994.
- LI, N., LIU, R.-J. DWYER, J. M., BANASR, M., LEE, B., SON, H., DUMAN, R. S. Glutamate N-methyl-D-aspartate Receptor Antagonists Rapidly Reverse Behavioral and Synaptic Deficits Caused by Chronic Stress Exposure. **Biological Psychiatry**, v. 69(8), p. 754-761. 2011.
- LISTER, R., Ethologically-based animal models of anxiety disorders. **Pharmacology & Therapeutics**, v. 46, p. 321–340. 1990.
- LOO, C. K., GÁLVEZ, V., O'KEEFE, E., MITCHELL, P. B., HADZI-PAVLOVIC, D., LEYDEN, J., ... GLUE, P. Placebo-controlled pilot trial testing dose titration and intravenous, intramuscular and subcutaneous routes for ketamine in depression. **Acta Psychiatrica Scandinavica**, v. 134(1), p. 48-56. 2016.
- LOSS, C. M., CÓRDOVA, S. D., DE OLIVEIRA, D. L. Ketamine reduces neuronal degeneration and anxiety levels when administered during early life-induced status epilepticus in rats. **Brain Research**, v. 1474, p. 110–117. 2012.
- LU, W., WANG, H., LIN, Y., & LI, L. Psychological status of medical workforce during the COVID-19 pandemic: A cross-sectional study. **Psychiatry Research**, v. 288, 112936. 2020.
- MACHADO-VIEIRA, R., SALVADORE, G., DIAZGRANADOS, N., & ZARATE, C. A. Ketamine and the next generation of antidepressants with a rapid onset of action. **Pharmacology & Therapeutics**, v. 123(2), p. 143-150. 2009.
- MAENG, S., ZARATE, C. A., DU, J., SCHLOESSER, R. J., MCCAMMON, J., CHEN, G., & MANJI, H. K. Cellular Mechanisms Underlying the Antidepressant Effects of Ketamine: Role of α -Amino-3-Hydroxy-5-Methylisoxazole-4-Propionic Acid Receptors. **Biological Psychiatry**, v. 63(4), p. 349-352. 2008.
- MARASCHIN, J. C., FRIAS, A. T., HERNANDES, P. M., BATISTELA, M. F., MARTINEZ, L. M... ZANGROSSI JR, H. Antipanic-like effect of esketamine and buprenorphine in rats exposed to acute hypoxia. **Behavioral Brain Research**, v. 418. 2022.
- MARTINEZ, R. C. R., RIBEIRO DE OLIVEIRA, A., BRANDÃO, M. L. Serotonergic mechanisms in the basolateral amygdala differentially regulate the conditioned and unconditioned fear organized in the periaqueductal gray. **European Neuropsychopharmacology**, v. 17(11), p. 717–724. 2007.
- MASTRODONATO, A., MARTINEZ, R., PAVLOVA, I. P., LAGAMMA, C. T., BRACHMAN, R. A., ROBISON, A. J., DENNY, C. A. (2018). Ventral CA3 Activation Mediates Prophylactic Ketamine Efficacy Against Stress-Induced Depressive-like Behavior. **Biological Psychiatry**, v. 84(11), p. 846-856. 2018.
- MELO, A., KOKRAS, N., DALLA, C., FERREIRA, C., VENTURA-SILVA, A. P., SOUSA, N., PÊGO, J. M. The positive effect on ketamine as a priming adjuvant in antidepressant treatment. **Translational Psychiatry**, v. 5(5), e573–e573. 2015.
- MENARD J., TREIT, D., Intra-septal infusions of excitatory amino acid receptor antagonists heva differential effects in two animal models of anxiety. **Behavioural Pharmacology**, v. 11, p.99-108. 2000.

- MILAK, M. S., RASHID, R., DONG, Z., KEGELES, L. S., GRUNEBAUM, M. F., OGDEN, R. T., ... MANN, J. J. Assessment of Relationship of Ketamine Dose With Magnetic Resonance Spectroscopy of Glx and GABA Responses in Adults With Major Depression. **JAMA Network Open**, v. 3(8), e2013211. 2020.
- MILLAN, M. J. The neurobiology and control of anxious states. **Progress in Neurobiology**, v. 70(2), p. 83-244. 2003.
- MOGHADDAM, B., ADAMS, B., VERMA, A., & DALY, D. Activation of Glutamatergic Neurotransmission by Ketamine: A Novel Step in the Pathway from NMDA Receptor Blockade to Dopaminergic and Cognitive Disruptions Associated with the Prefrontal Cortex. **The Journal of Neuroscience**, v. 17(8), p. 2921–2927. 1997.
- NOSEK, K., DENNIS, K., ANDRUS, B. M., AHMADIYEH, N., BAUM, A. E., WOODS, L., REDEI, E. E. Context and strain-dependent behavioral response to stress. **Behavioral and Brain Functions**, v. 4(1). 2008.
- PAPP, M., GRUCA, P., LASON-TYBURKIEWICZ, M., WILLNER, P. Antidepressant, anxiolytic and procognitive effects of subacute and chronic ketamine in the chronic mild stress model of depression. **Behavioural Pharmacology**, v. 28(1), p. 1–8. 2017.
- PARISE, E. M., ALCANTARA, L. F., WARREN, B. L., WRIGHT, K. N., HADAD, R., SIAL, O. K., ... BOLAÑOS-GUZMÁN, C. A. Repeated Ketamine Exposure Induces an Enduring Resilient Phenotype in Adolescent and Adult Rats. **Biological Psychiatry**, v. 74(10), p. 750–759. 2013.
- PATEL, ISHVARLAL M. MD; CHAPIN, JOHN K. PhD Efeitos da Cetamina em Neurônios Corticais Somato-sensoriais Únicos e no Comportamento em Ratos. **Anestesia e Analgesia**, v. 70 (6), p 635-644. 1990.
- PELLOW, S., CHOPIN, P., FILE, S.E., BRILEY, M. (1985) Validation of open: closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. **Jornal of Neuroscience Methods**, v. 14, p. 149-167. 1985.
- PHELPS, E. A., LEDOUX, J. E. Contributions of the Amygdala to Emotion Processing: From Animal Models to Human Behavior. **Neuron**, v. 48(2), p.175-187. 2005.
- PIETERSEN, C. Y., BOSKER, F. J., POSTEMA, F., FOKKEMA, D. S., KORF, J., & DEN BOER, J. A. Ketamine administration disturbs behavioural and distributed neural correlates of fear conditioning in the rat. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, v. 30(7), p. 1209-1218. 2006.
- PINHEIRO, S., DEL-BEN, C., ZANGROSSI, H., GRAEFF, F. Anxiolytic and panicolytic effects of escitalopram in the elevated T-maze. **Journal of Psychopharmacology**, v. 22(2), p. 132-137. 2008.
- POLLACK, M. H., OTTO, M. W., ROY-BYRNE, P. P., COPLAN, J. D., ROTHBAUM, B. O., SIMON, N. M., & GORMAN, J. M. Novel treatment approaches for refractory anxiety disorders. **Depression and Anxiety**, v. 25(6), p. 467–476. 2008.
- QUIBELL, R., FALLON, M., MIHALYO, M., TWYXCROSS, R., & WILCOCK, A. Ketamine. **Journal of Pain and Symptom Management**, v. 50(2), p. 268–278. 2015.
- QUIRK, G. J., MUELLER, D. Neural Mechanisms of Extinction Learning and Retrieval. **Neuropsychopharmacology**, v. 33(1), p. 56-72. 2007.
- RAVINDRAN, Lakshmi N., STEIN, Murray B. The Pharmacologic Treatment of Anxiety Disorders. **The Journal Of Clinical Psychiatry**, [s.l.], v. 71, n. 07, p.839-854, 2010.
- RODGERS, R. J., CAO, B.-J., DALVI, A., & HOLMES, A. Animal models of anxiety: an ethological perspective. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 30(3), p. 289-304. 1997.
- ROSSI, R., SOCCI, V., TALEVI, D., MENSI, S., NIOLU, C., PACITTI, F., ... DI LORENZO, G. COVID-19 Pandemic and Lockdown Measures Impact on Mental Health Among the General Population in Italy. **Frontiers in Psychiatry**, 11. 2020.

- SAITO, V. M., BRANDÃO, M. L. The benzodiazepine midazolam acts on the expression of the defensive behavior, but not on the processing of aversive information, produced by exposure to the elevated plus maze and electrical stimulations applied to the inferior colliculus of rats. **Neuropharmacology**, v. 88, p. 180-186. 2015.
- SALAND, S. K., KABBAJ, M. Sex differences in the pharmacokinetics of low-dose ketamine in plasma and brain of male and female rats. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, jpet.118.251652. 2018
- SANBERG, P. R., BUNSEY, M. D., GIORDANO, M., & NORMAN, A. B. The catalepsy test: Its ups and downs. **Behavioral Neuroscience**, v. 102(5), p. 748-759. 1988.
- SANT'ANA, A. B., WEFFORT, L. F., DE OLIVEIRA SERGIO, T., GOMES, R. C., FRIAS, A. T., MATTHIESEN, M., ... ZANGROSSI, H. Panic-modulating effects of alprazolam, moclobemide and sumatriptan in the rat elevated T-maze. **Behavioural Brain Research**, v. 315, p. 115-122. 2016.
- SASSANO-HIGGINS, S., BARON, D., JUAREZ, G., ESMALI, N., & GOLD, M. (2016). A review of ketamine abuse and diversion. **Depression and Anxiety**, v. 33(8), v. 718–727. 2016.
- SAUR, L., NEVES, L. T., GREGGIO, S., VENTURIN, G. T., JECKEL, C. M. M., COSTA DA COSTA, J., ... XAVIER, L. L. Ketamine promotes increased freezing behavior in rats with experimental PTSD without changing brain glucose metabolism or BDNF. **Neuroscience Letters**, v. 658, p. 6-11. 2017.
- SHADLI, M. S., KAWA, T., MARTIN, D., MCNAUGHTON, N., NEEHOFF, S., GLUE, P. Ketamine effects on EEG during therapy of treatment-resistant generalized anxiety and social anxiety. **International Journal of Neuropsychopharmacology**, v. 21, p. 717–724. 2018.
- SHANSKY, R. M., & MURPHY, A. Z. (2021). Considering sex as a biological variable will require a global shift in science culture. **Nature Neuroscience**, v. 24(4), p. 457–464. 2021.
- SHARMA H, VERMA S. Is positive publication bias really a bias, or an intentionally created discrimination toward negative results? **Saudi Journal of Anaesthesia**. v.13(4), p. 352-355. 2019.
- SHI, L., LU, Z.-A., QUE, J.-Y., HUANG, X.-L., LIU, L., RAN, M.-S., ... LU, L. Prevalence of and Risk Factors Associated With Mental Health Symptoms Among the General Population in China During the Coronavirus Disease 2019 Pandemic. **JAMA Network Open**, v. 3(7), e2014053. 2021.
- SILOTE, G. P., DE OLIVEIRA, S. F. S., RIBEIRO, D. E., MACHADO, M. S., Andreatini, R., Joca, S. R. L., & Bejjani, V. Ketamine effects on anxiety and fear-related behaviors: Current literature evidence and new findings. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, v. 100, p. 109878. 2020.
- SILVA-CARDOSO, G. K., & NOBRE, M. J. Context-Specific Tolerance and Pharmacological Changes in the Infralimbic Cortex-Nucleus Accumbens Shell Pathway Evoked by Ketamine. **Neurochemical Research**, v. 46(7), p. 1686–1700. 2021.
- SILVESTRE, J. S., NADAL, R., PALLARÈS, M., & FERRÈ, N. Acute effects of ketamine in the holeboard, the elevated-plus maze, and the social interaction test in Wistar rats. **Depression and Anxiety**, v. 5(1), p. 29-33. 1997.
- SMITH, K. M., LARIVE, L. L., ROMANELLI, F. Club drugs: methylenedioxymethamphetamine, flunitrazepam, ketamine hydrochloride, and gamma-hydroxybutyrate. **American Journal of Health-System Pharmacy**, v. 59(11), p. 1067-1076. 2002.
- STRAWN, J. R., GERACIOTI, L., RAJDEV, N., CLEMENZA, K., & LEVINE, A. Pharmacotherapy for generalized anxiety disorder in adult and pediatric patients: an evidence-based treatment review. **Expert Opinion on Pharmacotherapy**, v. 19(10), p. 1057–1070. 2018.
- STRONG, C. E., SCHOEPFER, K. J., DOSSAT, A. M., SALAND, S. K., WRIGHT, K. N., & KABBAJ, M. Locomotor sensitization to intermittent ketamine administration is associated with nucleus accumbens plasticity in male and female rats. **Neuropharmacology**, v. 121, p. 195–203. 2017.

- SUN, H. L., ZHOU, Z. Q., ZHANG G. F., YANG C., WANG, X. M., SHEN, J. C., HASHIMOTO, K., YANG, J. J. Role of hippocampal p11 in the sustained antidepressant effect of ketamine in the chronic unpredictable mild stress model. **Translation Psychiatry**, v. 6(2), e741. 2016.
- SWANSON, C. J., BURES, M., JOHNSON, M. P., LINDEN, A.-M., MONN, J. A., & Schoepp, D. D. Metabotropic glutamate receptors as novel targets for anxiety and stress disorders. **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 4, p. 131-144. 2005
- TAYLOR, J.H., LANDEROS-WEISENBERGER, A., COUGHLIN, C., MULQUEEN, J., JOHNSON, J.A., GABRIEL, D., REED, M.O., JAKUBOVSKI, E., BLOCH, M.H. Ketamine for social anxiety disorder: a randomized, placebo-controlled crossover trial. **Neuropsychopharmacology**, v. 43, p. 325–333. 2018.
- TOVOTE, P., FADOK, J. P., & LÜTHI, A. Neuronal circuits for fear and anxiety. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 16(6), p. 317–331. 2015.
- VAN DER KAM, E. L., DE VRY, J., & TZSCHENTKE, T. M. 2-Methyl-6(phenylethynyl)-pyridine (MPEP) potentiates ketamine and heroin reward as assessed by acquisition, extinction, and reinstatement of conditioned place preference in the rat. **European Journal of Pharmacology**, v. 606(1-3), p. 94-101. 2008.
- VAQUERO-LORENZO, C., RIAZA BERMUDO-SORIANO, C., PEREZ-RODRIGUEZ, M. M., DIAZ-HERNANDEZ, M., LÓPEZ-CASTROMÁN, J., FERNANDEZ-PIQUERAS, J., BACA-GARCIA, E. Positive association between SAT-1 –1415T/C polymorphism and anxiety. **American Journal of Medical Genetics Part B: Neuropsychiatric Genetics**, v. 150B(4), p. 515-519. 2009.
- VICENTE, B., KOHN, R., RIOSECO, P., SALDIVIA, S., LEVAV, I., & TORRES, S. Lifetime and 12-Month Prevalence of DSM-III-R Disorders in the Chile Psychiatric Prevalence Study. **American Journal of Psychiatry**, v. 163(8), p. 1362-1370. 2006.
- WAKU, I., MAGALHÃES, M. S., ALVES, C. O., & DE OLIVEIRA, A. R. Haloperidol-induced catalepsy as an animal model for parkinsonism: A systematic review of experimental studies. **European Journal of Neuroscience**, v. 53(11), p. 3743–3767. 2021.
- WALF, A. A., FRYE, C. A. The use of the elevated plus maze as an assay of anxiety-related behavior in rodents. **Nature Protocols**, v. 2(2), p. 322-328. 2007.
- WALKER, D. L., & DAVIS, M. Involvement of NMDA receptors within the amygdala in short- versus long-term memory for fear conditioning as assessed with fear-potentiated startle. **Behavioral Neuroscience**, v. 114, p.1019-1033. 2000.
- WANG, C., PAN, R., WAN, X., TAN, Y., XU, L., HO, C. S., & HO, R. C. Immediate Psychological Responses and Associated Factors during the Initial Stage of the 2019 Coronavirus Disease (COVID-19) Epidemic among the General Population in China. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 17(5), 1729. 2020.
- WILLETTS J., CLISSOLD D. B., HARTMAN T. L., BRANSGAARD R. R., HAMILTON G. S., FERKANY J. W. Behavioral pharmacology of NPC 17742, a competitive N-methyl- D- aspartate (NMDA) antagonist. **Journal of pharmacology and experimental therapeutics**, v. 265, p. 1055-1062. 1993.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Depression and other common mental disorders: global health estimates**. Geneva: CC BY-NC-SA 3.0 IGO, 2017.
- WU, C., WANG, Y., HE, Y., WU, S., XIE, Z., ZHANG, J., ... HE, L. Sub-anesthetic and anesthetic ketamine produce different long-lasting behavioral phenotypes (24 h post-treatment) via inducing different brain-derived neurotrophic factor (BDNF) expression level in the hippocampus. **Neurobiology of Learning and Memory**, v. 167, p. 107136. 2019.
- XU, D. D., MO, Z. X., YUNG, K. K. L., YANG, Y., & LEUNG, A. W. N. Individual and Combined Effects of Methamphetamine and Ketamine on Conditioned Place Preference and NR1 Receptor Phosphorylation in Rats. **Neurosignals**, v. 15(6), p. 322–331. 2006.

- YILMAZ, A., SCHULZ, D., AKSOY, A., & CANBEYLI, R. Prolonged effect of an anesthetic dose of ketamine on behavioral despair. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 71(1-2), p. 341-344. 2002.
- ZANGROSSI, H., GRAEFF, F. G. Behavioral Validation of the Elevated T-Maze, a New Animal Model of Anxiety. **Brain Research Bulletin**, v. 44(1), p. 1-5. 1997.
- ZANGROSSI, H., GRAEFF, F. G. Serotonin in anxiety and panic: Contributions of the elevated T-maze. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 46, p. 397-406. 2014.
- ZANGROSSI, H., VIANA, M. B., ZANOVELI, J., BUENO, C., NOGUEIRA, R. L., GRAEFF, F. G. Serotonergic regulation of inhibitory avoidance and one-way escape in the rat elevated T-maze. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 431(3), p. 637-645. 2001.
- ZANOS, P., GOULD, T. D. Mechanisms of ketamine action as an antidepressant. **Molecular Psychiatry**, v. 23(4), p. 801–811. 2018.
- ZANOVELI, J. M., FERREIRA-NETTO, C., & BRANDÃO, M. L. Conditioned place aversion organized in the dorsal periaqueductal gray recruits the laterodorsal nucleus of the thalamus and the basolateral amygdala. **Experimental Neurology**, v. 208(1), p. 127–136. 2007.
- ZARATE, C. A., SINGH, J. B., CARLSON, P. J. BRUTSCHE, N. E., AMELI, R., LUCKENBAUGH, D. A., MANJI, H. K. A Randomized Trial of an N-methyl-D-aspartate Antagonist in Treatment-Resistant Major Depression. **Archives of General Psychiatry**, v. 63(8), p. 856-864. 2006.
- ZHANG, L.-M., YAO, J.-Z., LI, Y., LI, K., CHEN, H.-X., ZHANG, Y.-Z., LI, Y.-F. Anxiolytic Effects of Flavonoids in Animal Models of Posttraumatic Stress Disorder. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2012, p. 1–10. 2012.
- ZHANG, L.-M., ZHOU, W.-W., JI, Y.-J., LI, Y., ZHAO, N., CHEN, H.-X., ... LI, Y.-F. Anxiolytic effects of ketamine in animal models of posttraumatic stress disorder. **Psychopharmacology**, v. 232(4), p. 663-672. 2014.

ANEXO A – Certificado da Comissão de Ética no Uso de Animais da UFSCar

Pró Reitoria
Pesquisa

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



CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "EFEITOS COMPORTAMENTAIS INDUZIDOS PELA CETAMINA EM RATOS EXPOSTOS AOS TESTES DE LABIRINTO EM T ELEVADO, AVERSÃO/PREFERÊNCIA CONDICIONADA AO LUGAR E CATALEPSIA", protocolada sob o CEUA nº 6822010420 (ID 001433), sob a responsabilidade de **Amanda Ribeiro de Oliveira e equipe; Hadassa Kéuly Sousa Felício** - 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 12/05/2020.

We certify that the proposal "BEHAVIORAL EFFECTS INDUCED BY KETAMINE IN RATS EXPOSED TO THE ELEVATED T MAZE, PLACE AVERSION/PREFERENCE AND CATALEPSY TESTS", utilizing 144 Heterogenics rats (144 males), protocol number CEUA 6822010420 (ID 001433), under the responsibility of **Amanda Ribeiro de Oliveira and team; Hadassa Kéuly Sousa Felício** - 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 05/12/2020.

Finalidade da Proposta: [Pesquisa](#)

Vigência da Proposta: de [05/2020](#) a [12/2022](#) Área: [Psicologia](#)

Origem: [Biotério Central da UFSCar](#)

Espécie: [Ratos heterogênicos](#)

sexo: [Machos](#)

idade: [60 a 90 dias](#)

N: [144](#)

Linhagem: [Wistar](#)

Peso: [250 a 290 g](#)

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

São Carlos, 12 de maio de 2020

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