

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

Dissertação de Mestrado

**EFEITOS DA META-CLOROFENILPIPERAZINA (mCPP) NA FLEXIBILIDADE
COMPORTAMENTAL AVALIADA NA TAREFA DE DESLOCAMENTO DE
REGRAS EM RATOS MACHOS E FÊMEAS**

Leonam Vinicius Barreto da Silva

Orientadora: Profa. Dra. Amanda Ribeiro de Oliveira

São Carlos - SP

2026

LEONAM VINICIUS BARRETO DA SILVA

**EFEITOS DA META-CLOROFENILPIPERAZINA (mCPP) NA FLEXIBILIDADE
COMPORTAMENTAL AVALIADA NA TAREFA DE DESLOCAMENTO DE
REGRAS EM RATOS MACHOS E FÊMEAS**

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

São Carlos - SP

Fevereiro/2026

da Silva, Leonam Vinicius Barreto

Efeitos da meta-clorofenilpiperazina (mCPP) na flexibilidade comportamental avaliada na tarefa de deslocamento de regras em ratos machos e fêmeas / Leonam Vinicius Barreto da Silva -- 2026. 89f.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de São Carlos, campus São Carlos, São Carlos
Orientador (a): Amanda Ribeiro de Oliveira
Banca Examinadora: Azair Liane Matos do Canto de Souza, Felipe Villela Gomes
Bibliografia

1. Flexibilidade comportamental. 2. Diferença sexual. 3. Meta-clorofenilpiperazina. I. da Silva, Leonam Vinicius Barreto. II. Título.

Ficha catalográfica desenvolvida pela Secretaria Geral de Informática (SIn)

DADOS FORNECIDOS PELO AUTOR

Bibliotecário responsável: Arildo Martins - CRB/8 7180

Folha de Aprovação

Defesa de Dissertação de Mestrado do(a) candidato(a) Leonam Vinicius Barreto da Silva, realizada em 06/03/2026.

Comissão Julgadora:

Prof(a). Dr(a). Amanda Ribeiro de Oliveira (UFSCar)

Prof(a). Dr(a). Azair Liane Matos do Canto de Souza (UFSCar)

Prof(a). Dr(a). Felipe Villela Gomes (USP)

APOIO FINANCEIRO

O presente trabalho foi financiado pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), por meio do fornecimento de Bolsa de Mestrado (Processo nº 2024/13317-7) e de reserva técnica destinada à aquisição de equipamentos e material de consumo, bem como à participação em eventos científicos nos quais versões preliminares deste estudo foram apresentadas.

A pesquisa também contou com apoio do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), por meio de Bolsa de Produtividade em Pesquisa (Processo no. 305541/2022-6), e da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), no âmbito do Programa de Excelência (PROEX; Código de Financiamento 001).

As opiniões, hipóteses, conclusões ou recomendações expressas neste material são de responsabilidade dos autores e não necessariamente refletem a visão das agências de fomento.

AGRADECIMENTOS

Os dois últimos anos foram repletos de desenvolvimentos pessoais que, anterior à entrada no Mestrado, eu pouco conseguia imaginar. O quanto eu pude desenvolver em minhas habilidades de pesquisa, incluindo não apenas a leitura mais crítica e a escrita mais técnica e fluida, mas também a capacidade de adaptação frente aos desafios da experimentação prática e da estatística, me fornece, hoje, a noção de mudança que eu tive. Todas essas habilidades, dentre outras que muito custaria às páginas escrever, foram fomentadas e construtivamente avaliadas por minha orientadora, Amanda Ribeiro de Oliveira, a quem os agradecimentos aqui escritos são ainda poucos.

Os maiores agradecimentos vão, sobretudo, aos meus pais, Maura Cristina e Manoel Torquato, a quem eu devo toda a minha trajetória acadêmica, visto que sem eles eu não teria tido a formação e o gosto pelo estudo que tenho hoje; aos meus tios, Marcus e César, por muito estimularem, desde criança, o meu ensino e busca por novas informações; e aos meus avós, Graça, Ubiratan, Aldeyde e Manoel, por terem confiado em meu potencial desde cedo.

Muitíssimo devo à minha noiva, Laura Durans, companheira, amiga leal, e amor da minha vida, por estar a todos os momentos ao meu lado, me levantando em todos os momentos de fraquejo. Sem ela eu provavelmente nunca teria tido as experiências que tive hoje e os conhecimentos, acadêmicos e de vida, que pude tirar delas.

Por fim, mas não menos importante, muito obrigado aos amigos de longa data, particularmente João Rios, por mais de uma década de amizade e por permanecer do meu lado mesmo quando eu me tornei afastado devido aos estresses da vida adulta, e aos meus amigos Soraia e Isaías, que desde a graduação se tornaram um ponto de aconchego em que eu sempre posso restaurar a minha sanidade. Agradeço, ainda, aos meus recentes amigos e colegas de trabalho que muito auxiliaram em minha pesquisa, de forma prática e teórica, além de me acolherem muito bem em seu laboratório, o LPA. Obrigado, principalmente, à Isabelle, por me ensinar toda a base e um pouco mais de tudo o que eu precisei para realizar esta pesquisa, e ao Raphael, por sua companhia em longas jornadas de experimento, e seus conhecimentos de neurociência serem um motivador para meu constante aprendizado.

da SILVA, L. V. B. (2026). *Efeitos da meta-clorofenilpiperazina (mCPP) na flexibilidade comportamental avaliada na tarefa de deslocamento de regras em ratos machos e fêmeas*. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-Graduação em Psicologia, Universidade Federal de São Carlos. 89 pp.

RESUMO

A flexibilidade comportamental, habilidade de adaptar rapidamente o comportamento a alterações no ambiente, é um componente central do funcionamento cognitivo e encontra-se frequentemente comprometida em condições neurológicas e psiquiátricas. A investigação de suas bases neurais busca ampliar sua compreensão e aprimorar as intervenções terapêuticas. A tarefa de deslocamento de regras (*set-shifting*) é amplamente utilizada para estudar a flexibilidade comportamental, explorando a capacidade de ajustar o comportamento em resposta a demandas ambientais dinâmicas. Dentre os fatores que influenciam essa habilidade, a serotonina desempenha importante papel, particularmente via receptores 5-HT_{2C}. A meta-clorofenilpiperazina (mCPP), um agonista serotoninérgico não seletivo com alta afinidade por receptores 5-HT_{2C}, tem sido frequentemente empregada em pesquisas; contudo, sua influência na tarefa de deslocamento de regras ainda não havia sido explorada. Esta pesquisa investigou os efeitos de diferentes doses de mCPP (0; 0,5; 1; 2 mg/kg) sobre a flexibilidade comportamental de ratos Wistar machos e fêmeas adultos, visando caracterizar possíveis diferenças sexuais e sua modulação farmacológica. Conforme esperado, a mCPP prejudicou a flexibilidade comportamental em machos e fêmeas, porém com um padrão de efeitos complexo e sexualmente dimórfico. Nos machos, os principais efeitos ocorreram com a dose de 0,5 mg/kg, que reduziu a acurácia e aumentou as omissões e os erros perseverativos. As fêmeas mostraram maior sensibilidade à dose de 2,0 mg/kg, com prejuízos caracterizados pelo aumento do tempo de reação e das omissões, sem comprometimento da acurácia. Diferenças basais entre os sexos foram observadas, sugerindo maior flexibilidade na tarefa nos machos, padrão que se manteve após o tratamento com mCPP. Em conjunto, os resultados indicam que a mCPP reduz a flexibilidade afetando diferencialmente o desempenho de machos e fêmeas, com implicações para a compreensão de diferenças sexuais em condições psiquiátricas caracterizadas por inflexibilidade comportamental.

Palavras-chave: Serotonina, Receptores 5-HT_{2C}, *Set-shifting*, Flexibilidade cognitiva, Diferenças Sexuais.

da SILVA, L. V. B. (2026). *Effects of meta-chlorophenylpiperazine (mCPP) on behavioral flexibility assessed in a set-shifting task in male and female rats*. Master's Dissertation. Graduate Program in Psychology, Federal University of São Carlos. 89 pp.

ABSTRACT

Behavioral flexibility, the ability to rapidly adapt behavior to changes in the environment, is a central component of cognitive functioning and is frequently impaired in neurological and psychiatric conditions. Investigating its neural bases aims to broaden its understanding and improve therapeutic interventions. The set-shifting task is widely used to assess behavioral flexibility, examining the ability to adjust behavior in response to dynamic environmental demands. Among the factors influencing this ability, serotonin plays an important role, particularly via 5-HT_{2C} receptors. Meta-chlorophenylpiperazine (mCPP), a non-selective serotonergic agonist with high affinity for 5-HT_{2C} receptors, has been frequently employed in research; however, its influence on set-shifting performance had not yet been explored. The present study investigated the effects of different doses of mCPP (0; 0.5; 1; 2 mg/kg) on the behavioral flexibility of adult male and female Wistar rats, aiming to characterize potential sex differences and their pharmacological modulation. As expected, mCPP impaired behavioral flexibility in both males and females, albeit with a complex and sexually dimorphic pattern of effects. In males, the main effects occurred at 0.5 mg/kg dose, which reduced accuracy and increased omissions and perseverative errors. Females showed greater sensitivity to the 2.0 mg/kg dose, with impairments characterized by increased reaction time and omissions, without reduced accuracy. Baseline sex differences were observed, suggesting greater task flexibility in males, a pattern that persisted following mCPP treatment. Taken together, the results indicate that mCPP reduces behavioral flexibility, differentially affecting performance in males and females, with implications for understanding sex differences in psychiatric conditions characterized by behavioral inflexibility.

Keywords: Serotonin, 5-HT_{2C} receptors, Set-shifting, Cognitive flexibility, Sex differences.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Número de ratos por sexo e tratamento.....	21
Tabela 2. Síntese das comparações entre as doses de mCPP (0,5; 1,0 e 2,0 mg/kg) e o grupo controle (salina) e entre machos e fêmeas.....	44

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Caixa operante utilizada no protocolo de deslocamento de regras para avaliação da flexibilidade comportamental.....	22
Figura 2. Delineamento experimental geral para o protocolo de deslocamento de regras.....	26
Figura 3. Ilustração experimental das etapas do protocolo de deslocamento de regras anteriores às sessões de treino e teste.....	27
Figura 4. Distribuição da acurácia por tratamento e sexo.....	29
Figura 5. Distribuição do tempo de reação por tratamento e sexo.....	31
Figura 6. Distribuição da frequência de omissões por tratamento e sexo.....	33
Figura 7. Distribuição do tempo total para finalizar a sessão por tratamento e sexo.....	35
Figura 8. Distribuição do total de tentativas por sessão por tratamento e sexo.....	37
Figura 9. Distribuição de erros totais por tratamento e sexo.....	39
Figura 10. Distribuição de erros perseverativos por tratamento e sexo.....	41
Figura 11. Distribuição de erros regressivos por tratamento e sexo.....	43
Figura A1. Distribuição da acurácia por sexo e sessão.....	87
Figura A2. Distribuição do tempo de reação por sexo e sessão.....	88
Figura A3. Distribuição do tempo total para finalizar a sessão por sexo e sessão.....	89

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	10
1.1 Flexibilidade comportamental.....	10
1.2 Modulação serotoninérgica.....	13
1.3 Meta-clorofenilpiperazina (mCPP).....	15
1.4 Diferenças sexo-dependentes.....	16
1.5 Hipóteses.....	18
2. OBJETIVOS.....	19
2.1 Objetivos específicos.....	19
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	20
3.1 Animais.....	20
3.2 Drogas.....	21
3.3 Protocolo de deslocamento de regras.....	21
3.4 Análise de dados.....	25
3.5 Delineamento experimental.....	25
4. RESULTADOS.....	28
4.1 Acurácia.....	28
4.2 Tempo de reação.....	30
4.3 Omissões.....	32
4.4 Tempo total por sessão.....	34
4.5 Total de tentativas por sessão.....	36
4.6 Erros totais.....	38
4.7 Erros Perseverativos.....	40
4.8 Erros Regressivos.....	42
4.9. Síntese dos Resultados.....	43
5. DISCUSSÃO.....	45
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	59
7. REFERÊNCIAS.....	60
APÊNDICE A – Análise das sessões de treino.....	85
ANEXO A – Certificado da Comissão de Ética no Uso de Animais da UFSCar.....	90

1. INTRODUÇÃO

1.1 Flexibilidade comportamental

A flexibilidade comportamental possui uma aplicabilidade extensiva na literatura, mesmo entre os estudos de cognição comparada, todavia, apresenta definição inconsistente (Lea et al., 2020). De uma maneira mais geral e abrangente, adequada ao que este estudo se propõe, podemos abordar a flexibilidade comportamental como a capacidade de adaptar prontamente o comportamento em resposta a alterações no ambiente (Hurtubise & Howland, 2017). Essa capacidade desempenha um papel de destaque, principalmente em animais que habitam ambientes notoriamente instáveis. Nestes casos, a capacidade de se ajustar de maneira eficaz às mudanças torna-se crucial para a sobrevivência e adaptação ao ambiente (Erdsack, Dehnhardt & Hanke, 2022). Organismos sofrem alterações comportamentais em decorrência de eventos ambientais naturais ou por atividades humanas em seus habitats, estando tal mudança associada a questões fisiológicas e anatômicas individuais, mas também genéticas populacionais (Wright et al., 2010). No contexto humano, muito da flexibilidade comportamental é guiada através de pistas sociais, influenciando a forma como o indivíduo age no meio (Toelch et al., 2011). A flexibilidade comportamental deriva de diversos mecanismos cognitivos, estando bem associada ao tamanho encefálico em diversas espécies animais, sugerindo esta ser uma limitação (van Schaik, 2013).

Esta habilidade, contudo, encontra-se afetada em diversas condições psiquiátricas e neurológicas humanas, um objeto de estudo de importância, especialmente considerando que, de modo geral, uma maior flexibilidade comportamental foi associada com maiores índices de saúde psicológica (Palm Reed, Cameron, Ameral, 2018). Exemplos de condições em que esta habilidade se mostra negativamente impactada são o Transtorno do Espectro Autista (TEA), o Transtorno do Déficit de Atenção com Hiperatividade (TDAH), e o Transtorno

Obsessivo-Compulsivo (TOC), além de transtornos de humor e esquizofrenia (American Psychiatric Association, 2013; D’Cruz et al., 2013; Gruner & Pittenger, 2017; van den Boom et al., 2019; Uddin, 2021). No caso específico do TOC, devido aos erros perseverativos e repetições demonstradas, as dificuldades em protocolos com alterações de regras podem ser compreendidas como características centrais (Chamberlain et al., 2005), não sendo incomum que pacientes com este transtorno apresentem significativos prejuízos quando avaliados sob esses tipos de tarefas (Kim et al., 2022). Portanto, a investigação aprofundada das bases neurobiológicas da flexibilidade comportamental tem o potencial de ser útil para a compreensão da fisiopatologia dessas condições e para abrir caminhos para o desenvolvimento de potenciais abordagens terapêuticas (Izquierdo et al., 2017).

Na literatura encontramos diferentes maneiras, envolvendo diferentes espécies, para avaliação da flexibilidade comportamental, dentre as quais pode-se citar a tarefa de deslocamento de regras (*set-shifting task*). Essa tarefa inclui a aprendizagem reversa, em que classicamente o sujeito experimental é treinado para discriminar entre dois estímulos (visuais, por exemplo), sendo um recompensado e outro não, o que é posteriormente invertido (Tait et al., 2018; Izquierdo et al., 2017), e a mudança de regras extradimensional (Heisler et al., 2015), em que o sujeito inicialmente responde a um dos estímulos e, então, deve o ignorar e responder a outro tipo de estímulo agora relevante (Tait, Chase & Brown, 2014), como ocorre na mudança de regra lado-luz, por exemplo.

Na avaliação da flexibilidade comportamental usando a tarefa de deslocamento de regras, a regra (*set*) consiste em um estímulo de uma determinada dimensão, de modo que o protocolo promove a mudança (*shifting*) atencional de um estímulo dimensional (por exemplo, luz) para outra dimensão (por exemplo, lado), sendo uma mudança extradimensional (entre diferentes dimensões perceptuais), ao passo que a aprendizagem reversa exige que o animal se adapte a uma mudança intradimensional (dentro da mesma

dimensão) (Floresco, Block & Tse, 2008; Scheggia & Papaleo, 2016), como entre lados diferentes (direito e esquerdo). No paradigma experimental mais utilizado em humanos (*Wisconsin Card Sorting Task, WCST*), os sujeitos devem equiparar uma dada carta a outras quatro cartas-chave de acordo com três dimensões perceptuais (cor, forma e número), de modo que deve organizá-las corretamente baseado em uma resposta de tentativa e erro, ao passo que, durante o teste, o princípio de ordenamento se altera, constituindo a tarefa de deslocamento de regras (Oh et al., 2014).

Algumas estruturas neurais, particularmente regiões do córtex pré-frontal (PFC), têm sido associadas à flexibilidade comportamental (Dias, Robbins & Roberts, 1996), com destaque para o córtex orbitofrontal. Essa região está relacionada ao aprendizado associativo e ao TOC, por estar envolvida na inibição de respostas prepotentes e no aprendizado mediado por reforço negativo (Ghahremani et al., 2009). Lesões nessa estrutura estão associadas a pior desempenho em tarefas de flexibilidade comportamental em humanos e roedores, dentre outros animais (Thorpe, Rolls & Maddison, 1983; Murray, O'Doherty & Schoenbaum, 2007). Ragozzino (2007) demonstrou que a inativação da região pré-límbica afeta o aprendizado quando o rato precisa aprender a alterar entre diferentes dimensões de estímulos, em seu estudo, a olfativa e a espacial, indicando que a mesma está associada à flexibilidade comportamental neste tipo de condição de deslocamento de regras, mas não na aprendizagem reversa. Sendo uma tarefa complexa, outras regiões também se mostram envolvidas, como a amígdala basolateral, cuja lesão implica na falha de adaptação quando o valor da recompensa previamente conhecida é alterado (Pickens et al., 2003); o estriado dorsomedial, cuja inativação, apesar de não afetar a aquisição do aprendizado no deslocamento de regras ou aprendizagem reversa, afeta a etapa de mudança de regra e reversão, respectivamente (Ragozzino, 2007); e o núcleo accumbens, em que a administração de quimpirole, um agonista dopaminérgico de receptores do tipo D₂, afeta os protocolos de aprendizagem

reversa e deslocamento de regras (Haluk & Floresco, 2009), além de sua inativação contribuir para o aumento de erros regressivos e erros não recompensados (Piao et al., 2017).

1.2 Modulação serotoninérgica

Diversos fatores neuroquímicos parecem influenciar a flexibilidade comportamental como, por exemplo, a serotonina. A serotonina, também conhecida como 5-hidroxitriptamina (5-HT), é uma molécula com funções diversas no sistema nervoso, incluindo ação neurotransmissora e hormonal (Mohammad-Zadeh, Moses & Gwaltney-Brant, 2008), podendo seus receptores serem subdivididos em pelo menos 16 diferentes subtipos, ionotrópicos e metabotrópicos, a depender da família de receptor estudada (Roth, 1994; Yohn, Gergues & Samuels, 2017; Ligneul & Mainen, 2023). Essa molécula, sintetizada a partir do aminoácido triptofano, tem os núcleos da rafe como as principais regiões de origem de suas vias no sistema nervoso central (Chase & Murphy, 1973; Mohammad-Zadeh, Moses & Gwaltney-Brant, 2008; Jonnakuty, Gagnoli, 2008), mas seus receptores estão presentes em todo o corpo, podendo atuar em diferentes funções, como no comportamento e regulação neuroendócrina (Moore, Halaris & Jones, 1978; Barnes & Sharp, 1999), tanto no sistema nervoso central quanto periférico (Ligneul & Mainen, 2023).

Concentrações maiores de serotonina no PFC – induzidas pelo inibidor seletivo de recaptação de serotonina, citalopram – impactam negativamente no desempenho de pacientes saudáveis do sexo masculino em tarefas de aprendizagem probabilística, havendo mais erros cometidos até que o critério seja atingido. Isso é explicado por um possível efeito excessivo na disponibilidade de serotonina na região, visto que a concentração ótima de serotonina parece ser dada por uma função em U invertido, em que valores muito baixos ou altos podem afetar negativamente a aprendizagem (Chamberlain et al., 2006). Soma-se a isso outro estudo, realizado por Clarke et al. (2007), que demonstrou que a redução, por lesões na inervação, de

serotonina no córtex orbitofrontal em primatas não humanos aumentou o número de erros perseverativos em um teste de aprendizagem reversa, isto é, aumentou a tendência de manutenção de uma mesma escolha sem reforçamento em oposição a alteração da escolha, indicando uma inflexibilidade comportamental. Curiosamente, Clarke et al. (2005) indicaram que a redução da serotonina no PFC em macacos saguis prejudica a performance em uma tarefa de reversão, mas não de deslocamento de regras, o que realça o entendimento de que há uma sensibilidade diferente entre funções pré-frontais distintas à modulação serotoninérgica. Por exemplo, ratos e camundongos knockout para 5-HTT (5-HTT^{-/-}), o transportador de serotonina, demonstram não apenas comportamentos semelhantes à ansiedade e depressão aumentados, mas também melhor desempenho em tarefas de aprendizagem reversa e deslocamento de regras, o que poderia estar relacionado com a alteração funcional do córtex orbitofrontal e do PFC medial, respectivamente (Nonkes et al., 2012). Lapiz-Bluhm et al. (2009), indicam, ainda, que o tratamento com escitalopram, um inibidor seletivo da recaptação de serotonina, apesar de atenuar os efeitos prejudiciais do estresse crônico, induz um déficit basal na tarefa de deslocamento de regras.

Os receptores de serotonina têm sido extensivamente investigados no contexto da aprendizagem e memória, além de outros processos como humor, interação social, sono e atividade motora (Alvarez, Morales & Amodeo, 2021; Bacqué-Cazenave et al., 2020). No geral, um aumento na densidade desses receptores no encéfalo tem mostrado melhorar o desempenho cognitivo, enquanto a sua redução tem o efeito oposto (Glikmann-Johnston et al., 2015; Švob Štrac, Pivac & Mück-Šeler, 2016). Esses receptores, que se subdividem em pelo menos 14 subtipos, estão distribuídos por diversas regiões tanto no sistema nervoso central quanto no periférico. Entre suas diversas subclasses, os receptores pertencentes à família 5-HT_{2C} têm recebido particular atenção devido ao seu papel na memória e na modulação neural (Khaliq et al., 2012).

1.3 Meta-clorofenilpiperazina (mCPP)

A meta-clorofenilpiperazina (mCPP) é um agonista serotoninérgico não seletivo, com ação predominante nos receptores 5-HT_{1A}, 5-HT_{2C} e 5-HT_{1D}. Além disso, exibe atividade agonista parcial nos receptores 5-HT_{2B} e antagonista pós-sináptica nos receptores 5-HT_{2A} (Gaillard et al., 2013). Esta é uma substância estudada no contexto de diversos transtornos mentais. Em pacientes com TOC, por exemplo, sua administração tipicamente resulta em exacerbação dos sintomas (Zohar & Insel, 1987; Broocks et al., 1998; Erzegovesi et al., 2001; Gross-Isseroff et al., 2004). Em estudos com roedores, podemos citar o aumento de comportamentos associados à ansiedade em camundongos após administração aguda de mCPP, o que pode ser avaliado em um teste de enterramento de esferas, de modo que apesar de maiores doses reduzirem o número de esferas enterradas, doses menores de mCPP aumentaram, um efeito interpretado como pró-compulsivo (Nardo et al. 2014). Isso se soma a dados na literatura que indicam o aumento de comportamentos semelhantes ao TOC após administração de mCPP, além de efeitos ansiogênicos em altas doses, redução de apetite (Kennedy et al., 1993; Harada et al., 2006), melhora da memória referente a conteúdo emocional (Thomas et al., 2014), e redução da atividade locomotora (Kennedy et al., 1993; Kennet et al., 1994; Bhutada et al., 2013; Reimer et al., 2018).

Dentre os receptores serotoninérgicos, os subtipos 5-HT₁ e 5-HT₂ demonstram uma distribuição regional em áreas do sistema nervoso central classicamente associadas à aprendizagem e memória. A mCPP se liga a uma variedade desses receptores, mas possui alta afinidade aos receptores 5-HT_{2C} (Meneses, Hong, 1997). Um estudo realizado por Khaliq et al. (2012) indicou que a administração de mCPP resultou em prejuízos nas habilidades de aprendizado e na formação de memórias de curto e longo prazos em ratos. Já quando administrada em conjunto com a mesulergina, um antagonista não seletivo de receptores

5-HT_{2C}, observou-se redução nos efeitos prejudiciais induzidos pela mCPP. Isso sugere que a mesulergina – que por si só não teve quaisquer efeitos sobre a memória – foi provavelmente capaz de bloquear os receptores 5-HT_{2C}, inibindo a ligação da mCPP aos mesmos e, portanto, atenuando seus impactos sobre as funções de memória.

Dessa forma, considerando os efeitos da mCPP no aumento de comportamentos relacionados à ansiedade e compulsão, frequentemente associados ao TOC, e seus impactos na memória, torna-se importante compreender como a mCPP afeta a flexibilidade comportamental. Tal avaliação pode auxiliar na discussão sobre o uso da mCPP em roedores, em variados testes comportamentais, como um modelo animal para o estudo do TOC. Essa abordagem pode oferecer novas perspectivas sobre os mecanismos neurobiológicos subjacentes a esse e outros transtornos e, potencialmente, abrir caminhos para o desenvolvimento de estratégias terapêuticas mais eficazes.

1.4 Diferenças sexo-dependentes

Um número crescente de estudos evidencia diferenças sexuais, tanto em humanos, quanto em ratos e camundongos, em testes de flexibilidade comportamental, com possível explicação advinda dos hormônios sexuais (Zhang et al., 2023; Lefner, Dejeux & Wanat, 2022; Knight et al., 2021; Keiser, Wood & 2019; Dalla & Shors, 2009). O estudo de Philippe et al. (2022) indica variação comportamental entre sexos, em ratos, a partir da estimulação de receptores 5-HT_{1A} com o agonista 8-OH-DPAT. Ainda, Petterson, Hagsater & Eriksoon (2016) demonstram influência sexo-dependente dos mecanismos serotoninérgicos em comportamentos defensivos, de modo que apenas machos apresentam redução no congelamento após condicionamento contextual induzido por exposição a choques após administração do inibidor da síntese de serotonina, para-clorofenilalanina (PCPA).

Há suporte na literatura indicando que a diferença sexual pode influenciar a performance em tarefas de deslocamento de regras. Embora não haja consenso, alguns estudos apontam a inexistência de diferenças sexuais, enquanto outros, particularmente sobre a memória de trabalho, sugerem que machos possuem habilidades espaciais superiores às fêmeas, possivelmente devido às diferenças hormonais referentes aos esteróides gonadais, especialmente a testosterona (Gaillard, Fehring & Rossell, 2021). Em uma tarefa no labirinto de Barnes, ratos que passaram por cirurgia de remoção de testículos tiveram melhora na aprendizagem e memória após a reposição de estrogênio e testosterona (Locklear & Kritzer, 2014), ao passo que, em uma tarefa de navegação aquática de Morris, altas doses crônicas de estrogênio ou de testosterona prejudicaram o aprendizado e a memória, enquanto doses menores de testosterona trouxeram o efeito oposto (Mohammadi-Farani et al., 2015). Para tarefas de memória de reconhecimento, fêmeas apresentaram uma performance pior no reconhecimento de objetos durante fases de baixa concentração de estrogênio (metaestro/diestro) em relação às fases de alto estrogênio (estro/proestro) em ratos, indicando um efeito do ciclo estral (van Goethem et al., 2012). Ainda, para a flexibilidade comportamental, particularmente na aprendizagem reversa, ratas na fase de proestro cometeram mais erros do que em outras fases do ciclo, e a ovariectomia reduziu a flexibilidade (Koszalka, Lustyk & Pytka, 2023). Há de se considerar que, além dos hormônios sexuais, o tipo de tarefa e protocolo utilizados podem também afetar os resultados.

Apesar da crescente evidência de diferenças sexuais em diversos comportamentos, o número de estudos com fêmeas é ainda muito limitado, especialmente na pesquisa básica em neurociências. Isso pode comprometer a compreensão completa dos mecanismos subjacentes a processos psicológicos básicos e aos transtornos a eles relacionados, tornando essencial investigar tanto machos quanto fêmeas na tarefa de deslocamento de regras. Essa abordagem

visa garantir que as descobertas sejam aplicáveis a ambos os sexos, proporcionando um entendimento mais abrangente e preciso da flexibilidade comportamental.

1.5 Hipóteses

Embora diversos efeitos tenham sido descritos para manipulações de mecanismos serotoninérgicos na flexibilidade comportamental, a influência de diferentes doses de mCPP na tarefa de deslocamento de regras em machos e fêmeas ainda não foi estudada, o que possibilita um ambiente adequado para novos estudos. Considerando os prejuízos na flexibilidade observados em pacientes com TOC (Fontenelle et al., 2001), somado aos efeitos pró-aversivos da mCPP e aumento de comportamentos associados ao TOC (da Silva et al., 2022; Kreiss et al., 2013; Gross-Isseroff et al., 2004), assim como prejuízos da memória e atividade motora em ratos (Khaliq et al., 2008), há a expectativa de que a mCPP prejudique o desempenho na tarefa de deslocamento de regras.

No que diz respeito às diferenças sexuais, a literatura se apresenta inconsistente, com muitas das diferenças relatadas sendo associadas aos hormônios gonadais (Dalla & Shors, 2009). Considerando que parece haver diferenças associadas à flexibilidade comportamental entre machos e fêmeas, ainda que, em alguns estudos, não tenha sido observada diferença em testes de deslocamentos de regras extradimensionais (Gargiulo et al., 2022), espera-se que haja uma diferença significativa no desempenho de machos e fêmeas no presente estudo.

2. OBJETIVOS

O objetivo geral da pesquisa é investigar os efeitos do fármaco meta-clorofenilpiperazina (mCPP) sobre a flexibilidade comportamental em ratos machos e fêmeas.

2.1 Objetivos específicos

- a) Avaliar os efeitos da administração intraperitoneal de diferentes doses de mCPP no desempenho na tarefa de deslocamento de regras.
- b) Investigar potenciais diferenças de desempenho de ratos machos e fêmeas na tarefa de deslocamento de regras.
- c) Explorar a presença de diferenças sexo-dependentes nos efeitos da mCPP sobre a flexibilidade comportamental nos grupos avaliados.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Animais

Para a realização do estudo, foram utilizados 96 ratos adultos (60-90 dias de idade) da linhagem Wistar, divididos em dois grupos: 48 machos (250-350 g) e 48 fêmeas (190-280 g). Os animais foram fornecidos pelo Biotério Central da Universidade Federal de São Carlos e transferidos para o biotério setorial do Laboratório de Psicologia da Aprendizagem (LPA). No biotério setorial, os animais foram inicialmente alojados em grupos de quatro em gaiolas de polipropileno com dimensões 40 × 33 × 25 cm, forradas com maravalha e tiveram livre acesso à comida e água. O ambiente foi caracterizado por um ciclo claro-escuro 12:12 h, com luzes ligadas às 07h00 e temperatura controlada entre 23-25°C. Antes do início dos procedimentos, os ratos foram habituados às gaiolas por um período mínimo de 7 dias. Após a habituação à gaiola e antes do início dos procedimentos seguintes, os ratos passaram por restrição alimentar, sendo alojados em duplas e separados por uma divisória de acrílico. Para esse propósito, os animais receberam uma quantidade controlada de ração por dia até que seu peso corporal fosse reduzido para 85-90% do original (aproximadamente após 3-4 dias de restrição alimentar). A partir do fim dessa restrição inicial, os ratos foram mantidos sob uma quantidade reduzida de ração para que os pesos fossem mantidos sem redução adicional, até a conclusão do protocolo experimental. Ou seja, durante todas as etapas do protocolo, os animais permaneceram sob restrição alimentar, com peso mantido constante entre 85-90% de seu peso inicial, com o intuito de auxiliar na motivação do animal para o aprendizado e realização das tarefas, assim como realizado por literatura prévia (de Oliveira et al., 2021). Os animais passaram pelos experimentos durante a fase clara do ciclo e o procedimento buscou evitar ao máximo efeitos potenciais de estresse e sofrimento aos animais, de acordo com as normas estabelecidas pelo Conselho Nacional de Controle e Experimentação Animal (CONCEA). Os experimentos foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais

da Universidade Federal de São Carlos (CEUA-UFSCar, protocolo nº 8756050624, Anexo A).

3.2 Drogas

Os grupos de machos e fêmeas foram subdivididos em quatro subgrupos (Tabela 1), de acordo com o tratamento recebido. Para os ratos pertencentes aos subgrupos farmacológicos, foi utilizada a meta-clorofenilpiperazina (mCPP), um agonista serotoninérgico não seletivo. A mCPP foi administrada intraperitonealmente nas doses de 0,5, 1 e 2 mg/kg, em volume constante de 1 ml/kg. Os animais dos grupos controle receberam injeção de solução salina fisiológica (1 ml/kg). As administrações ocorreram 20 min antes de cada uma das sessões teste. Os animais de cada grupo (ratos machos e ratos fêmeas) foram alocados de forma randomizada para os grupos controle e farmacológicos. As doses da droga foram escolhidas com base em estudos anteriores (Reimer et al., 2018; da Silva et al., 2022).

Tabela 1. Número de ratos por sexo e tratamento.

Grupo / Subgrupo	Ratos machos	Ratos fêmeas
Controle	12	12
mCPP 0,5 mg/kg	12	12
mCPP 1 mg/kg	12	12
mCPP 2 mg/kg	12	12
Total	48	48

3.3 Protocolo de deslocamento de regras

O experimento foi conduzido em uma caixa de condicionamento operante, medindo 25 × 29 × 25 cm, havendo, na parede esquerda, três módulos de resposta e correspondência integrados idênticos (*nosepokes*), referentes aos lados direito, centro e esquerdo. Em cada

módulo há luzes acopladas que são ligadas ou desligadas durante as tarefas, atuando como estímulos discriminativos. Sensores infravermelhos foram utilizados para detectar a ativação, pelo animal, de cada módulo. Na parede oposta, há uma calha liberadora de péletes de sacarose (45 mg), que atuaram como recompensa durante as tarefas (Figura 1). A apresentação e sequenciamento dos estímulos foram controlados por software apropriado, com o comportamento do animal durante as tarefas sendo gravado por uma câmera de vídeo montada no topo da caixa.

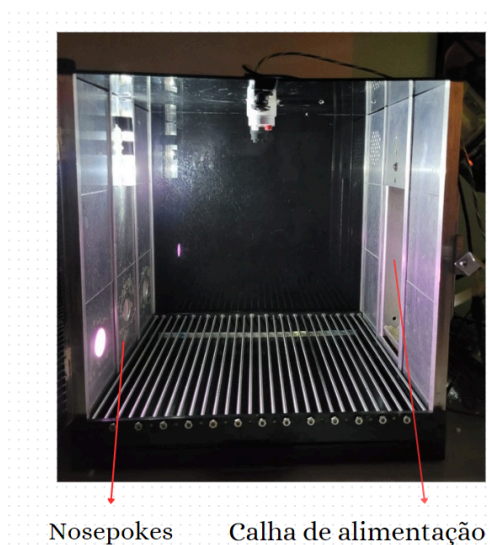


Figura 1. Caixa operante utilizada no protocolo de deslocamento de regras para avaliação da flexibilidade comportamental.

Previamente ao experimento, os ratos foram habituados à caixa operante durante 2 dias consecutivos, consistindo em 20 minutos de habituação cada. A habituação foi referente à aclimatação à caixa e aos péletes de recompensa. Durante a primeira habituação, os ratos foram colocados na caixa operante e, imediatamente, receberam 10 péletes de recompensa na calha de alimentação. Passaram para a fase seguinte os ratos que consumiram ao menos 50% dos péletes; caso contrário, o animal deveria refazer a etapa no dia seguinte. Na segunda habituação, os ratos receberam péletes em intervalos de 30 segundos, contando a partir do consumo da última recompensa recebida. Na segunda habituação, foram aprovados apenas os

animais que consumiram uma quantidade igual ou superior à 50% da quantidade máxima (20 de 40) de péletes possíveis durante o período de 20 minutos. Caso contrário, o animal deveria refazer a etapa no dia seguinte.

Na sequência, os ratos passaram pelo processo de modelagem (*shaping*) de 4 dias consecutivos, no qual os ratos foram modelados para aprender as regras de lado e luz referentes ao procedimento de deslocamento de regras. No primeiro dia, o rato deveria inserir o focinho no *nosepoke* central para receber a recompensa, estando os outros fechados. Para todos os dias seguintes de condicionamento, o rato iniciou cada teste com a inserção do focinho no *nosepoke* central. No segundo dia, o rato aprendeu a regra do lado esquerdo, devendo inserir seu focinho na ordem “*nosepoke* central - *nosepoke* esquerdo” para receber a recompensa, enquanto a inserção no lado esquerdo ou no lado direito sem antes ter inserido no *nosepoke* central, a inserção apenas no *nosepoke* central, ou a inserção na ordem “*nosepoke* central - *nosepoke* direito” não resultaram em recompensa. O terceiro dia foi semelhante ao anterior, mas visando a aprendizagem da regra de luz, em que o animal deveria inserir seu focinho no *nosepoke* central seguido pelo *nosepoke* lateral (direito ou esquerdo) em que a luz estivesse acesa. O quarto dia consistiu na regra do lado direito, seguindo a ordem “*nosepoke* central - *nosepoke* direito” para receber a recompensa. A modelagem inicial, referente ao *nosepoke* central, foi caracterizada por duração máxima de 45 minutos, ou até que o animal conseguisse atingir o critério de 10 tentativas corretas consecutivamente. Para todos os outros dias de modelagem, a duração máxima do procedimento foi de 1 hora e 30 minutos, ou até que o animal atingisse o critério de 10 tentativas corretas consecutivamente. Omissões foram contadas sempre que, após iniciar uma tentativa (inserir o focinho no *nosepoke* central), o animal não realizasse a inserção em qualquer dos outros *nosepokes* nos 15 segundos seguintes, o que reiniciava a tentativa. Caso o animal não

obtivesse o resultado esperado no prazo estipulado para o procedimento, ele deveria refazer a sessão no dia seguinte, seguindo para a próxima etapa apenas após obter sucesso.

No sétimo dia (ou no dia posterior ao fim do *shaping* para os ratos repetentes), os ratos iniciaram a fase de treino, que consistiu em 5 dias com duração máxima de 1 hora e 30 minutos cada. O treino foi caracterizado por sete padrões distintos (blocos) de tarefa em que, em cada um deles, o animal deveria acertar 6 tentativas consecutivas para seguir ao próximo. Os blocos de regra (luz e lado), já previamente definidos, foram pseudorandomizados. Após finalizar 6 acertos consecutivos em dado bloco, o rato seguia para o seguinte. Por exemplo, no primeiro bloco o rato respondia corretamente a 6 tentativas com regra de luz, de forma consecutiva, a partir do que seguia para o próximo bloco, com regra de lado.

Após o fim da quinta sessão de treino, o rato iniciava a fase de teste, semelhante à etapa de treino, mas com a administração do fármaco para os grupos farmacológicos ou da salina para os grupos controle, 20 minutos antes de cada sessão teste. O teste consistiu em 4 dias consecutivos com no máximo 1 hora e 30 minutos de duração cada.

Tanto nas sessões de treino quanto nas de teste, apenas respostas corretas à regra de lado ou luz foram recompensadas, em razão 1:1, desde que emitidas dentro do tempo de reação esperado (tempo de omissão) de 10 segundos para o treino e 5 segundos para o teste. Após a inserção do focinho em um dos *nosepokes* laterais após o início da tentativa (inserção do focinho no *nosepoke* central), sendo o correto ou não, a luz interna a este módulo era apagada, sendo a luz do módulo central ligada novamente após 7 segundos para que o animal pudesse iniciar uma nova tentativa. Inserções do focinho realizadas entre esse intervalo de tentativas não foram contabilizadas.

3.4 Análise de dados

Foram avaliados os seguintes dados: acurácia (razão entre o número de acertos e o total de tentativas, em porcentagem), tempo de reação (latência para a emissão da resposta após iniciar a tentativa com inserção do focinho no *nosepoke* central), tempo total na tarefa (duração total da sessão), número de omissões (falhas em responder dentro do tempo limite). Além disso, foi avaliado o número total de tentativas realizadas pelo animal e o total de erros. Estes últimos foram subdivididos em erros perseverativos (caracterizados pela insistência na resposta anteriormente recompensada após a mudança da regra) e erros regressivos (caracterizados pelo retorno do animal à escolha errada após já ter realizado um acerto em nova regra), contabilizados separadamente.

A acurácia foi calculada como $100 \times (\text{número de respostas corretas} / \text{número total de tentativas})$. Para todas as análises foram utilizados modelos mistos generalizados (GLMMs) para levar em conta as medidas repetidas e a distribuição não gaussiana dos dados. Especificamente, para a acurácia foi utilizado GLMM com distribuição beta e função de ligação logit; para o tempo de reação, foi utilizado GLMM com distribuição Gamma e função de ligação de identidade; para o número de omissões, de tentativas e de erros, foi utilizado GLMM com distribuição binomial negativa; e para o tempo total, foi utilizado GLMM com distribuição Gamma e função de ligação log. Todas as análises foram realizadas por meio do software R 4.5.1 (R Core Team, 2025).

3.5 Delineamento experimental

O delineamento experimental do estudo pode ser visualizado nas Figura 2 e 3. Os ratos chegaram ao biotério setorial e foram aclimatados por um período mínimo de sete dias ao local, sendo agrupados em quatro animais por gaiola. Com o início dos procedimentos experimentais, os animais foram separados em grupos de dois em gaiolas iguais às anteriores,

mas com uma divisória. O experimento foi conduzido em uma caixa de condicionamento operante, na qual os ratos foram habituados durante dois dias por um período de 20 minutos diários.

Os ratos então foram treinados para as tarefas de condicionamento *nosepoke*-recompensa e seguiram para as fases de treino e teste, sendo cinco sessões para treino e quatro para teste. As sessões de teste ocorreram em quatro dias consecutivos e cada uma consistiu em 1 hora e 30 minutos de duração ou até que o animal atingisse o critério de cada sessão. Vinte minutos antes das sessões de teste, o tratamento foi administrado intraperitonealmente (solução salina ou dose de mCPP), a depender do respectivo grupo de tratamento do animal.

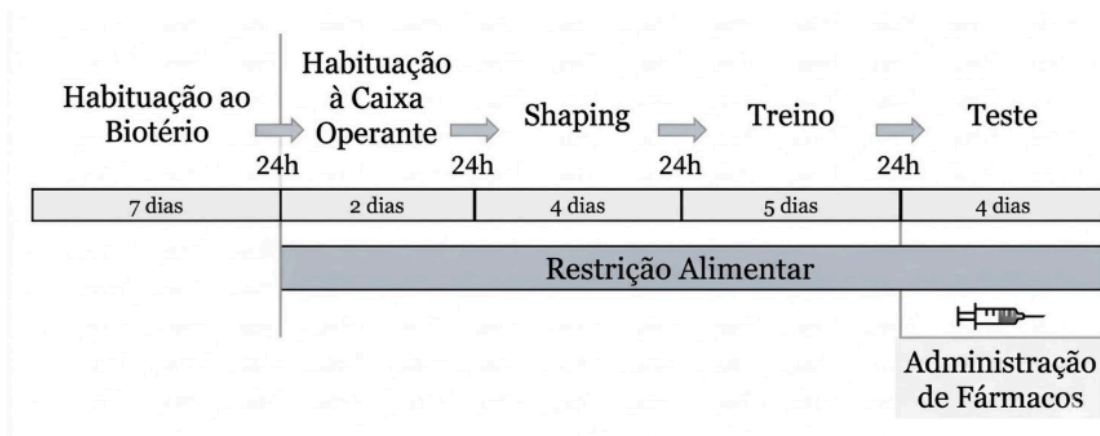


Figura 2. Delineamento experimental geral para o protocolo de deslocamento de regras.

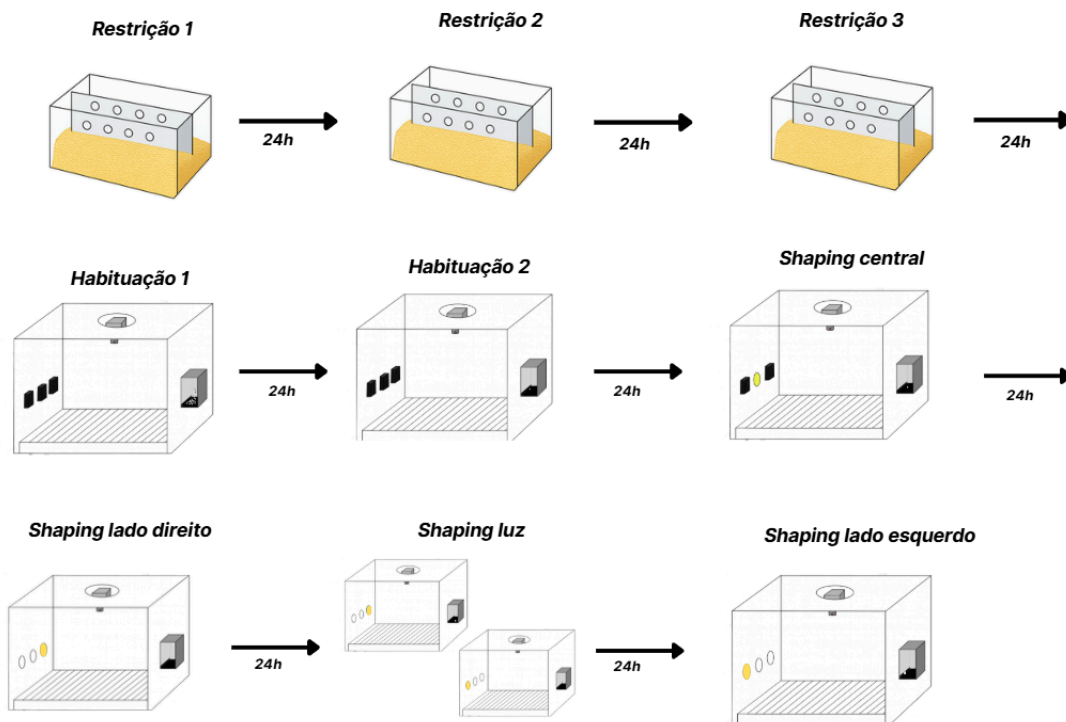


Figura 3. Ilustração experimental das etapas do protocolo de deslocamento de regras anteriores às sessões de treino e teste.

4. RESULTADOS

4.1 Acurácia

A Figura 4 ilustra os efeitos do tratamento com mCPP sobre a acurácia de ratos machos e fêmeas na tarefa de deslocamento de regras. A análise por GLMM (distribuição beta, função de ligação logit), incluindo sexo e tratamento como efeitos fixos e animal como efeito aleatório, revelou resultados distintos entre os sexos nas comparações planejadas de cada dose de mCPP em relação ao controle. Em machos, apenas a dose de 0,5 mg/kg de mCPP reduziu a acurácia em relação ao controle (OR = 0,825, $p = 0,001$). As doses de 1,0 mg/kg (OR = 0,892, $p = 0,058$) e 2,0 mg/kg (OR = 0,933, $p = 0,253$) não tiveram efeitos significativos em relação à salina. Em fêmeas, as doses de 0,5 mg/kg (OR = 1,057, $p = 0,352$), 1,0 mg/kg (OR = 1,100, $p = 0,111$), e 2,0 mg/kg (OR = 0,944, $p = 0,341$) não apresentaram efeitos significativos em relação à salina.

A análise exploratória das diferenças entre sexos dentro de cada tratamento revelou que, no grupo salina, os machos apresentaram acurácia significativamente maior que as fêmeas (OR = 0,855; $p = 0,009$), padrão que se repetiu para a dose de 2,0 mg/kg de mCPP (OR = 0,866; $p = 0,017$). Nenhuma diferença significativa entre sexos foi observada para as doses de 0,5 mg/kg (OR = 1,095; $p = 0,128$) e 1,0 mg/kg de mCPP (OR = 1,055; $p = 0,374$).

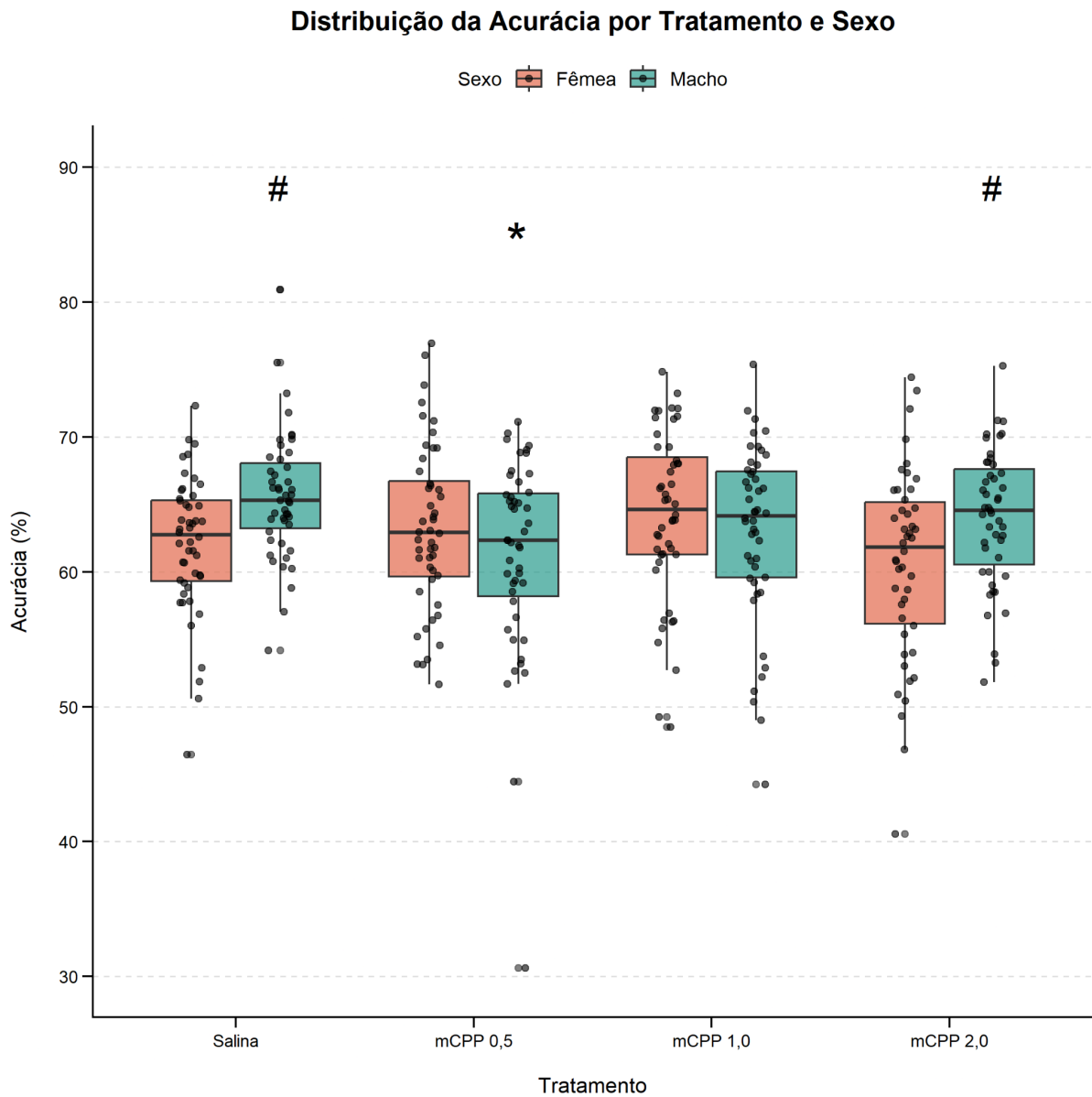


Figura 4. Distribuição da acurácia por tratamento e sexo. A acurácia foi calculada como $100 \times (\text{número de respostas corretas} / \text{número total de tentativas})$. As distribuições foram calculadas por sessão; cada ponto representa a acurácia em uma sessão individual. Machos ($n = n \text{ animais}/n \text{ sessões}$): Salina ($n = 12/47$); mCPP 0,5 ($n = 12/47$); mCPP 1,0 ($n = 12/48$); mCPP 2,0 ($n = 12/47$); Fêmeas: Salina ($n = 12/48$); mCPP 0,5 ($n = 12/48$); mCPP 1,0 ($n = 12/48$); mCPP 2,0 ($n = 12/46$). GLMM com distribuição beta e função de ligação logit. # $p < 0,05$ comparado às fêmeas no mesmo tratamento; * $p < 0,05$ comparado ao respectivo grupo salina.

4.2 Tempo de reação

A Figura 5 ilustra os efeitos do tratamento com mCPP sobre o tempo de reação de ratos machos e fêmeas na tarefa de deslocamento de regras. A análise por GLMM (distribuição Gamma, função de ligação identidade), incluindo sexo e tratamento como efeitos fixos e animal como efeito aleatório, revelou um efeito principal de tratamento, no qual a dose de 2,0 mg/kg de mCPP, em fêmeas, aumentou significativamente o tempo de reação em relação ao seu grupo controle ($\beta = 0,256 \pm 0,126$; $p = 0,042$). As doses de 0,5 mg/kg ($\beta = 0,088 \pm 0,127$; $p = 0,490$) e 1,0 mg/kg ($\beta = -0,007 \pm 0,127$; $p = 0,956$) não produziram efeitos significativos em relação ao controle. No que diz respeito aos machos, não houve diferenças significativas entre as doses de mCPP e seu grupo salina: mCPP 0,5 mg/kg ($\beta = 0,198 \pm 0,129$; $p = 0,125$), 1,0 mg/kg ($\beta = -0,006 \pm 0,130$; $p = 0,966$) e 2,0 mg/kg ($\beta = 0,196 \pm 0,129$; $p = 0,128$).

Além disso, foi identificado um efeito principal de sexo, de modo que machos tiveram menores tempos de reação do que as fêmeas para salina ($\beta = 0,316 \pm 0,129$; $p = 0,014$), 1,0 mg/kg ($\beta = 0,315 \pm 0,129$; $p = 0,014$) e 2,0 mg/kg ($\beta = 0,376 \pm 0,126$; $p = 0,003$) de mCPP. Todavia, não houve diferença entre machos e fêmeas para a dose de 0,5 mg/kg de mCPP ($\beta = 0,206 \pm 0,128$; $p = 0,107$).

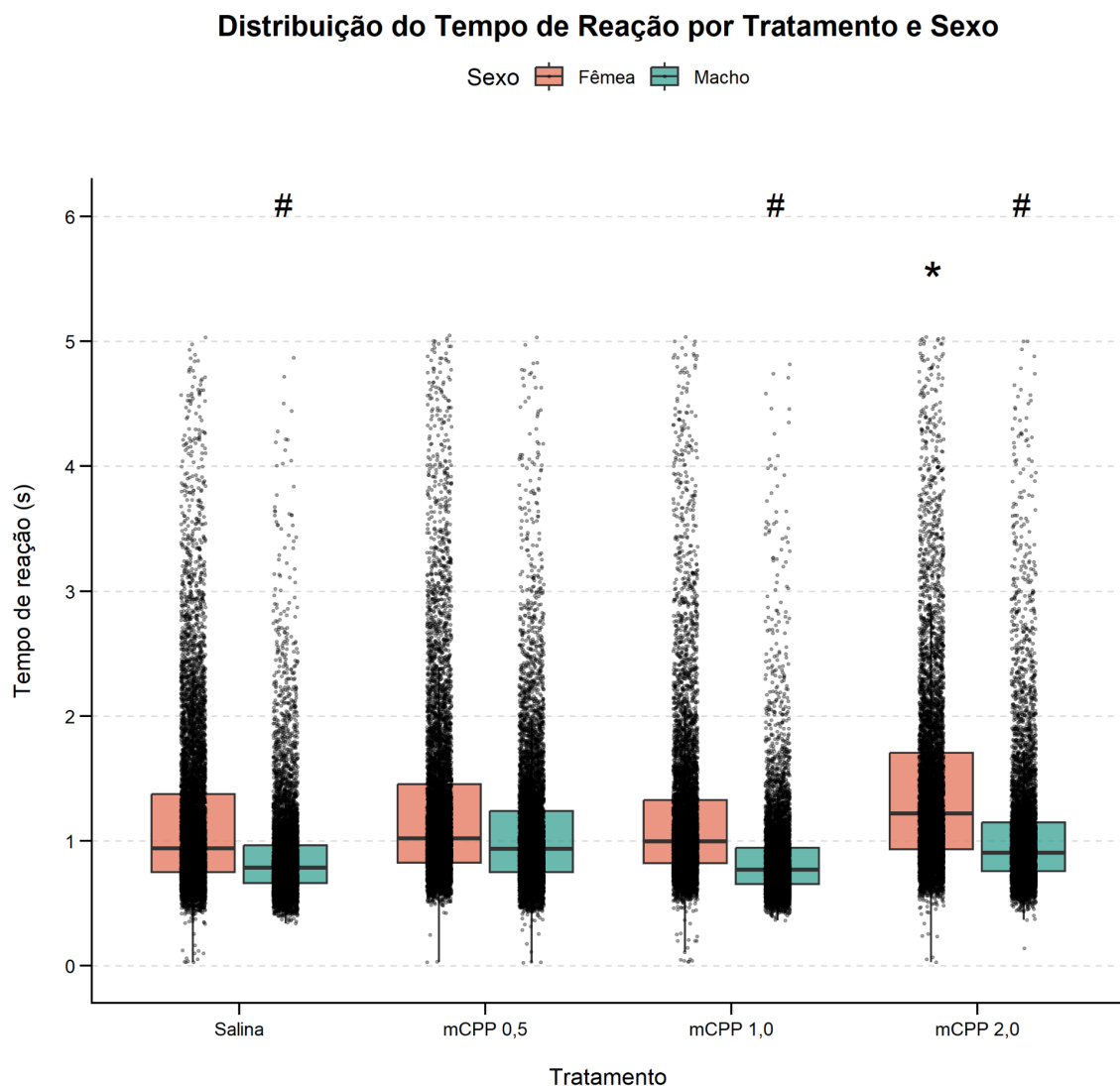


Figura 5. Distribuição do tempo de reação por tratamento e sexo. As distribuições foram calculadas por tentativa; cada ponto representa o tempo de reação em uma tentativa individual. Machos (n = n animais/n tentativas): Salina (n = 12/8353); mCPP 0,5 (n = 12/8477); mCPP 1,0 (n = 12/8090); mCPP 2,0 (n = 12/7507); Fêmeas: Salina (n = 12/9621); mCPP 0,5 (n = 12/8254); mCPP 1,0 (n = 12/7574); mCPP 2,0 (n = 12/7221). GLMM com distribuição Gamma e função de ligação identidade. # p < 0,05 comparado às fêmeas no mesmo tratamento; * p < 0,05 comparado ao respectivo grupo salina.

4.3 Omissões

A Figura 6 ilustra os efeitos do tratamento com mCPP sobre a frequência de omissões em ratos machos e fêmeas na tarefa de deslocamento de regras. A análise por GLMM (distribuição binomial negativa, função de ligação log) revelou um efeito principal de tratamento em fêmeas no qual a dose de 2,0 mg/kg de mCPP levou a um aumento significativo de omissões em comparação ao seu grupo controle (razão = 6,563; aumento de 556,3%; $p = 0,001$), mas sem efeito significativo nas doses de 0,5 mg/kg (razão = 1,321; aumento de 32,1%; $p = 0,639$) e 1,0 mg/kg (razão = 2,064; aumento de 106,4%; $p = 0,216$). Quanto aos machos, houve diferença significativa nas doses de 0,5 mg/kg (razão = 4,930; aumento de 393%; $p = 0,016$) e 2,0 mg/kg (razão = 6,712; aumento de 571,2%; $p = 0,004$) de mCPP, com aumento nas omissões, mas sem efeitos significativos para 1,0 mg/kg (razão = 0,866; diminuição de 13,4%; $p = 0,843$).

No que diz respeito às diferenças sexuais, houve significância estatística para salina (razão = 4,969; $p = 0,015$), 1,0 mg/kg (razão = 11,837; $p < 0,001$) e 2,0 mg/kg (razão = 4,859; $p = 0,005$) de mCPP, com as fêmeas apresentando mais omissões que os machos, mas sem diferença entre os sexos para a dose de 0,5 mg/kg (razão = 1,332; $p = 0,629$).

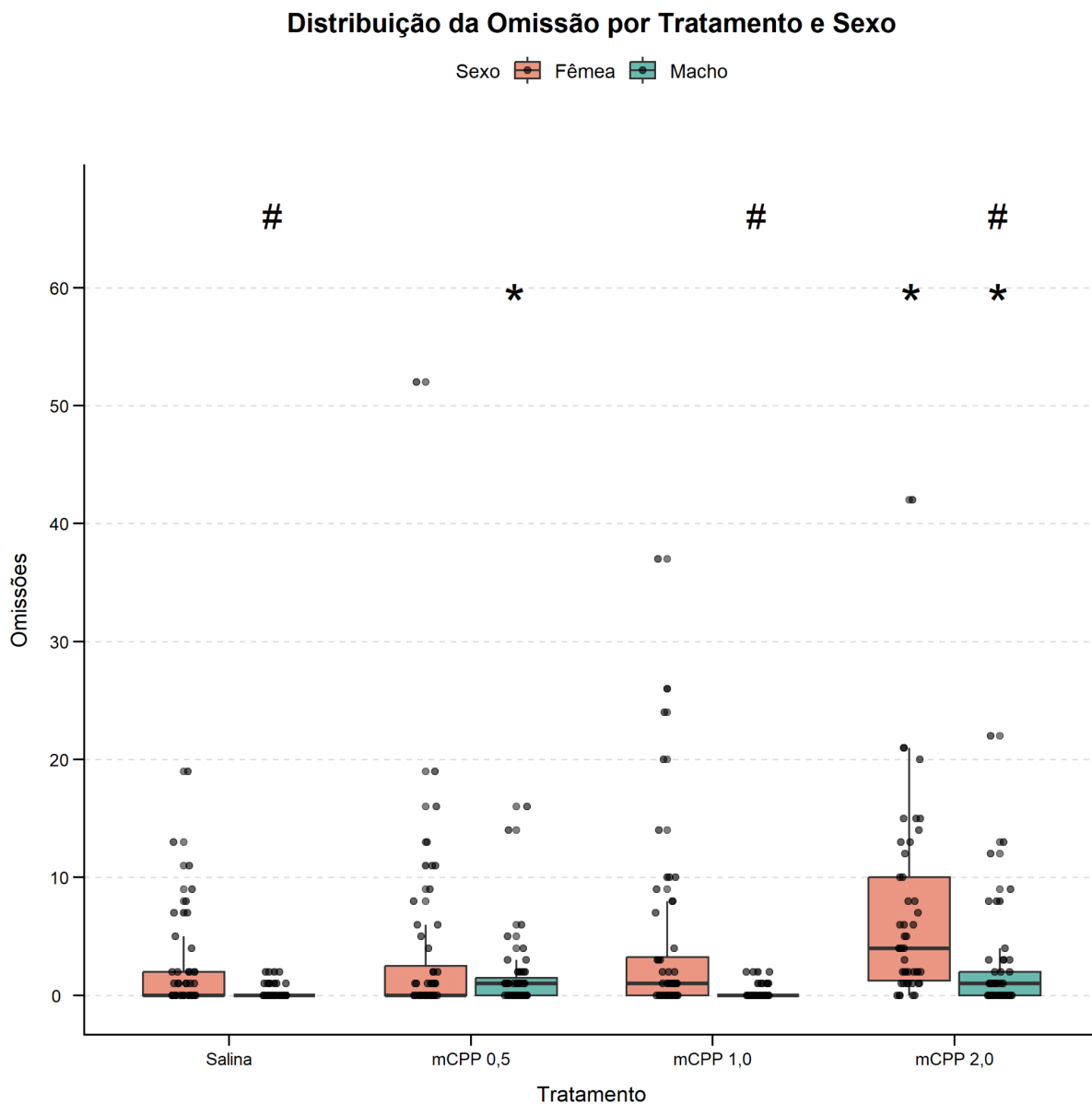


Figura 6. Distribuição da frequência de omissões por tratamento e sexo. As distribuições foram calculadas por sessão; cada ponto representa a frequência de omissões em uma sessão individual. Machos (n = n animais/n sessões): Salina (n = 12/47); mCPP 0,5 (n = 12/47); mCPP 1,0 (n = 12/48); mCPP 2,0 (n = 12/47); Fêmeas: Salina (n = 12/48); mCPP 0,5 (n = 12/48); mCPP 1,0 (n = 12/48); mCPP 2,0 (n = 12/46). GLMM com distribuição binomial negativa. # $p < 0,05$ comparado às fêmeas no mesmo tratamento; * $p < 0,05$ comparado ao respectivo grupo salina.

4.4 Tempo total por sessão

A Figura 7 ilustra os efeitos de tratamento com mCPP sobre o tempo total por sessão para ratos machos e fêmeas na tarefa de deslocamento de regras. A análise por GLMM (distribuição Gamma, função de ligação log) nas comparações planejadas de cada dose de mCPP em relação ao controle não revelou nenhuma alteração significativa no tempo para completar a sessão, tanto em machos: 0,5 mg/kg (razão = 1,074; aumento de 7,4%; $p = 0,518$), 1,0 mg/kg (razão = 1,040; aumento de 4,0%, $p = 0,718$) e 2,0 mg/kg (razão = 1,110; aumento de 11%; $p = 0,343$); quanto em fêmeas: 0,5 mg/kg (razão = 1,025; aumento de 2,5%; $p = 0,823$), 1,0 mg/kg (razão = 0,874; redução de 12,6%, $p = 0,220$) e 2,0 mg/kg (razão = 1,141; aumento de 14,1%; $p = 0,230$).

A análise exploratória das diferenças entre sexos dentro de cada tratamento revelou que as fêmeas apresentaram tempos para completar a sessão significativamente superiores para salina (razão = 1,431; $p = 0,001$), 0,5 mg/kg (razão = 1,366; $p = 0,005$) e 2,0 mg/kg (razão = 1,470; $p < 0,001$) de mCPP. Para a dose de 1,0 mg/kg de mCPP não houve significância estatística (razão = 1,201; $p = 0,095$).

Distribuição do Tempo Cumulativo por Tratamento e Sexo

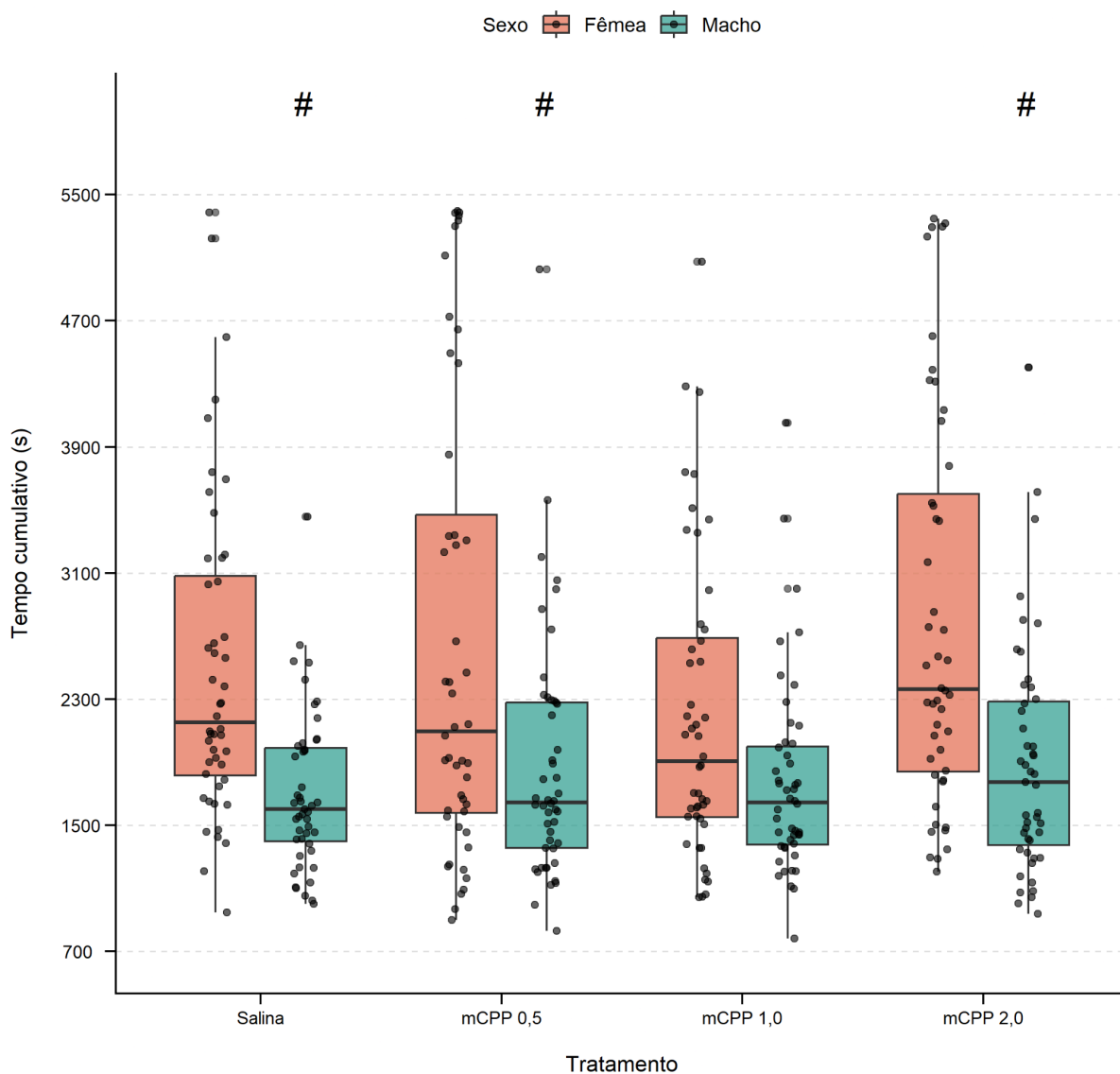


Figura 7. Distribuição do tempo total para finalizar a sessão por tratamento e sexo. As distribuições foram calculadas por sessão; cada ponto representa o tempo acumulado em uma sessão individual. Machos (n = n animais/n sessões): Salina (n = 12/47); mCPP 0,5 (n = 12/48); mCPP 1,0 (n = 12/48); mCPP 2,0 (n = 12/47); Fêmeas: Salina (n = 12/48); mCPP 0,5 (n = 12/48); mCPP 1,0 (n = 12/48); mCPP 2,0 (n = 12/48). GLMM com distribuição Gamma e função de ligação log. # p < 0,05 comparado às fêmeas no mesmo tratamento.

4.5 Total de tentativas por sessão

A Figura 8 ilustra os efeitos de tratamento com mCPP sobre o total de tentativas realizadas por sessão por ratos machos e fêmeas na tarefa de deslocamento de regras. A análise por GLMM (distribuição binomial negativa, função de ligação log) revelou que, para as comparações planejadas em fêmeas, houve diferença significativa nas doses de 0,5 mg/kg (razão = 0,862; redução de 13,8%; $p = 0,029$), 1,0 mg/kg (razão = 0,798; redução de 20,2%; $p = 0,001$) e 2,0 mg/kg (razão = 0,772; redução de 22,8%; $p < 0,001$) em comparação com o grupo controle, com redução na quantidade total de tentativas. No caso dos machos, não houve significância para as doses de 0,5 mg/kg (razão = 0,950; redução de 5%; $p = 0,456$), 1,0 mg/kg (razão = 0,948; redução de 5,2%; $p = 0,431$) ou 2,0 mg/kg (razão = 0,891; redução de 10,9%; $p = 0,092$).

A análise exploratória das diferenças entre sexos dentro de cada tratamento não revelou diferenças sexuais: salina (razão = 1,140; $p = 0,055$), 0,5 mg/kg (razão = 1,034; $p = 0,626$), 1,0 mg/kg (razão = 0,960; $p = 0,547$) e 2,0 mg/kg de mCPP (razão = 0,988; $p = 0,860$).

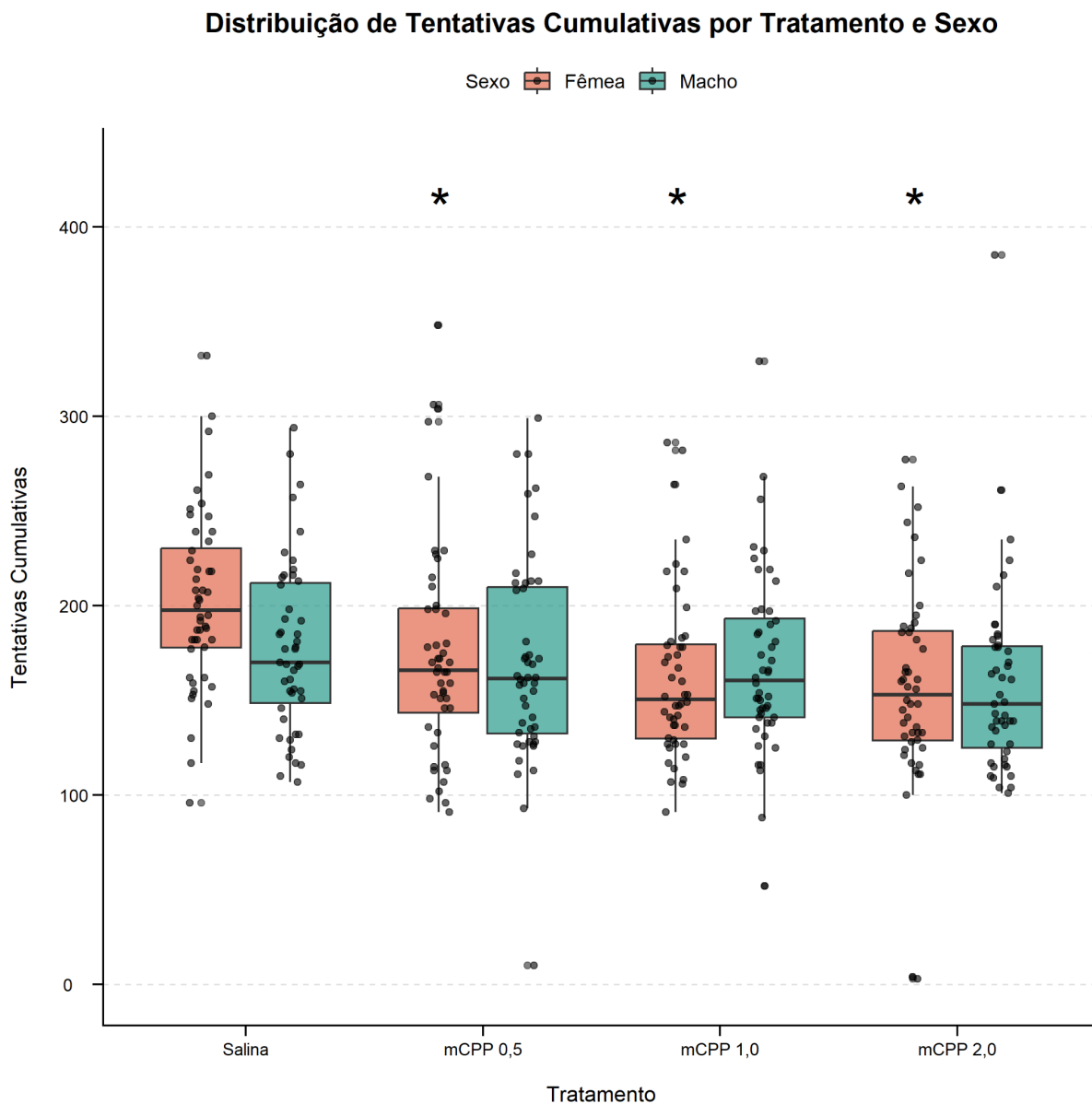


Figura 8. Distribuição do total de tentativas por sessão por tratamento e sexo. As distribuições foram calculadas por sessão; cada ponto representa as tentativas acumuladas em uma sessão individual. Machos (n = n animais/n sessões): Salina (n = 12/47); mCPP 0,5 (n = 12/48); mCPP 1,0 (n = 12/48); mCPP 2,0 (n = 12/47); Fêmeas: Salina (n = 12/48); mCPP 0,5 (n = 12/48); mCPP 1,0 (n = 12/48); mCPP 2,0 (n = 12/48). GLMM com distribuição binomial negativa. * $p < 0,05$ comparado ao respectivo grupo salina.

4.6 Erros totais

A Figura 9 indica os efeitos de tratamento com mCPP sobre os erros totais na sessão por ratos machos e fêmeas na tarefa de deslocamento de regras. A análise por GLMM (distribuição binomial negativa, função de ligação log) revelou que, entre as comparações planejadas de cada dose de mCPP em relação ao controle, apenas as fêmeas tiveram diferença significativa, com as doses de 0,5 mg/kg (razão = 0,818; diminuição de 18,2%; $p = 0,013$), 1,0 mg/kg (razão = 0,718; diminuição de 28,2%; $p < 0,001$) e 2,0 mg/kg (razão = 0,740; diminuição de 26%; $p < 0,001$) promovendo uma redução no total de erros. No caso dos machos, nenhuma dose promoveu diferença significativa em relação ao grupo controle: 0,5 mg/kg (razão = 1,103; aumento de 10,3%; $p = 0,229$), 1,0 mg/kg (razão = 1,005; aumento de 0,5%; $p = 0,955$), e 2,0 mg/kg (razão = 0,909; diminuição de 9,1%; $p = 0,245$).

A análise exploratória das diferenças sexuais em cada tratamento indica diferença entre sexos apenas no grupo salina, de modo que as fêmeas apresentaram 22,9% mais erros em relação aos machos (razão = 1,229; $p = 0,011$). Para as doses de mCPP 0,5 mg/kg (razão = 0,911; $p = 0,253$), 1,0 mg/kg (razão = 0,879; $p = 0,113$) e 2,0 mg/kg (razão = 1,000; $p = 0,996$) não foram observadas diferenças significativas entre sexos.

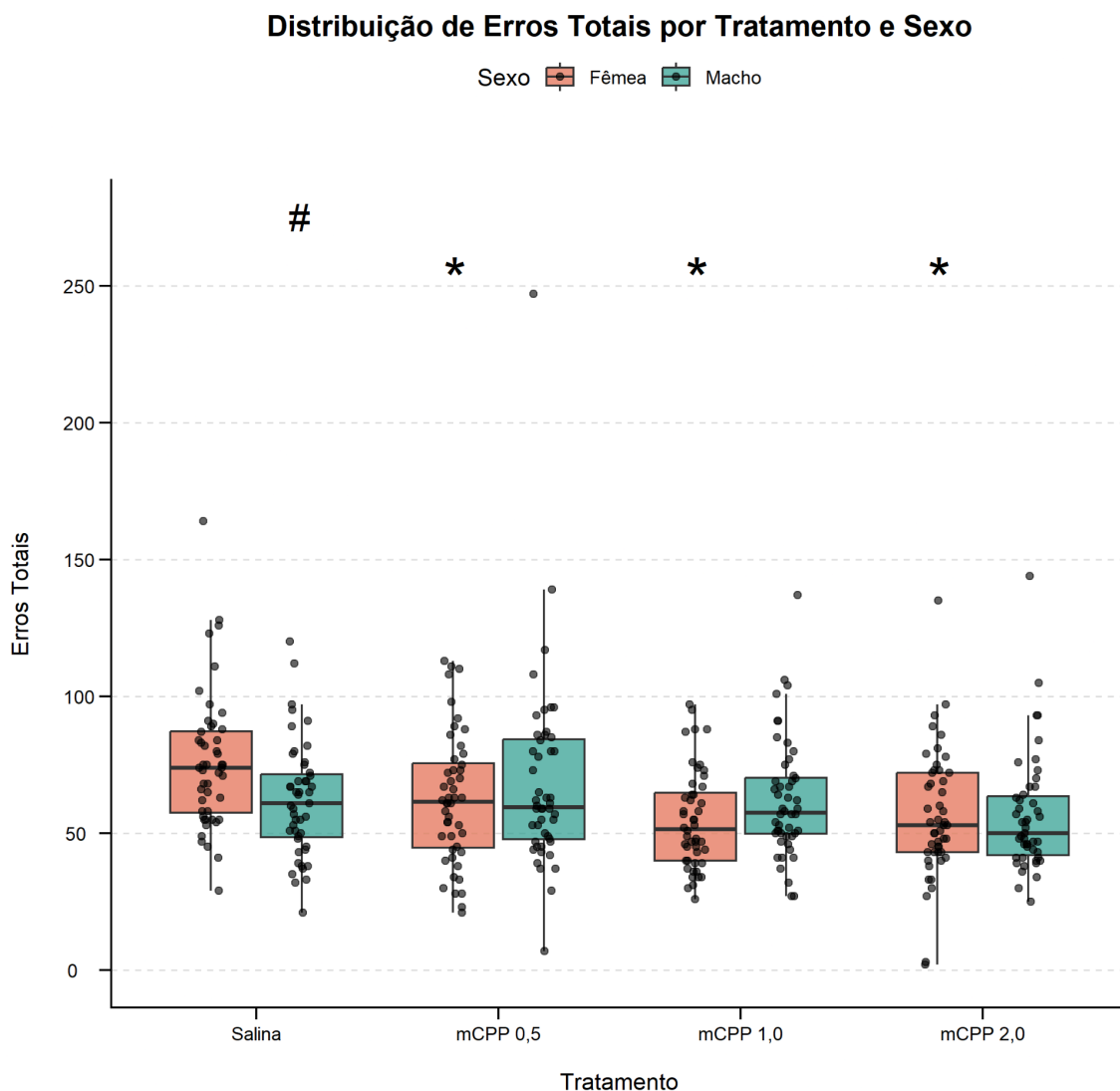


Figura 9. Distribuição de erros totais por tratamento e sexo. As distribuições foram calculadas por sessão; cada ponto representa os erros totais em uma sessão individual. Machos ($n = n$ animais/ n sessões): Salina ($n = 12/47$); mCPP 0,5 ($n = 12/48$); mCPP 1,0 ($n = 12/48$); mCPP 2,0 ($n = 12/47$); Fêmeas: Salina ($n = 12/48$); mCPP 0,5 ($n = 12/48$); mCPP 1,0 ($n = 12/48$); mCPP 2,0 ($n = 12/48$). GLMM com distribuição binomial negativa. # $p < 0,05$ comparado às fêmeas no mesmo tratamento; * $p < 0,05$ comparado ao respectivo grupo salina.

4.7 Erros Perseverativos

A Figura 10 ilustra os efeitos do tratamento com mCPP sobre os erros perseverativos por sessão de ratos machos e fêmeas na tarefa de deslocamento de regras. A análise por GLMM (distribuição binomial negativa, função de ligação log) revelou resultados distintos entre os sexos nas comparações planejadas dentro de cada dose de mCPP em relação ao controle. Em machos, apenas a dose de 0,5 mg/kg apresentou diferença significativa em relação à salina (razão = 1,342; aumento de 34,2%; $p = 0,004$), ao passo que as doses de 1,0 mg/kg (razão = 1,125; aumento de 12,5%; $p = 0,254$) e 2,0 mg/kg (razão = 0,961; diminuição de 3,9%; $p = 0,699$) não apresentaram diferenças significativas em relação ao controle. Em fêmeas, as doses de 0,5 mg/kg (razão = 0,792; diminuição de 20,8%; $p = 0,021$) e 1,0 mg/kg (razão = 0,703; diminuição de 29,7%; $p = 0,001$) apresentaram diferença significativa em relação à salina, enquanto na dose de 2,0 mg/kg (razão = 0,824; diminuição de 17,6%; $p = 0,056$) não houve diferença significativa.

A análise exploratória das diferenças entre sexos dentro de cada tratamento revelou que, no grupo salina, as fêmeas apresentaram 37,9% mais erros perseverativos em relação aos machos (razão = 1,379; $p = 0,002$), ao passo que para a dose de 0,5 mg/kg, os machos apresentaram 18,6% mais erros perseverativos em relação às fêmeas (razão = 0,814; $p = 0,043$). Nenhuma diferença significativa foi observada para as doses de 1,0 mg/kg (razão = 0,863; $p = 0,149$) e 2,0 mg/kg (razão = 1,184; $p = 0,101$).

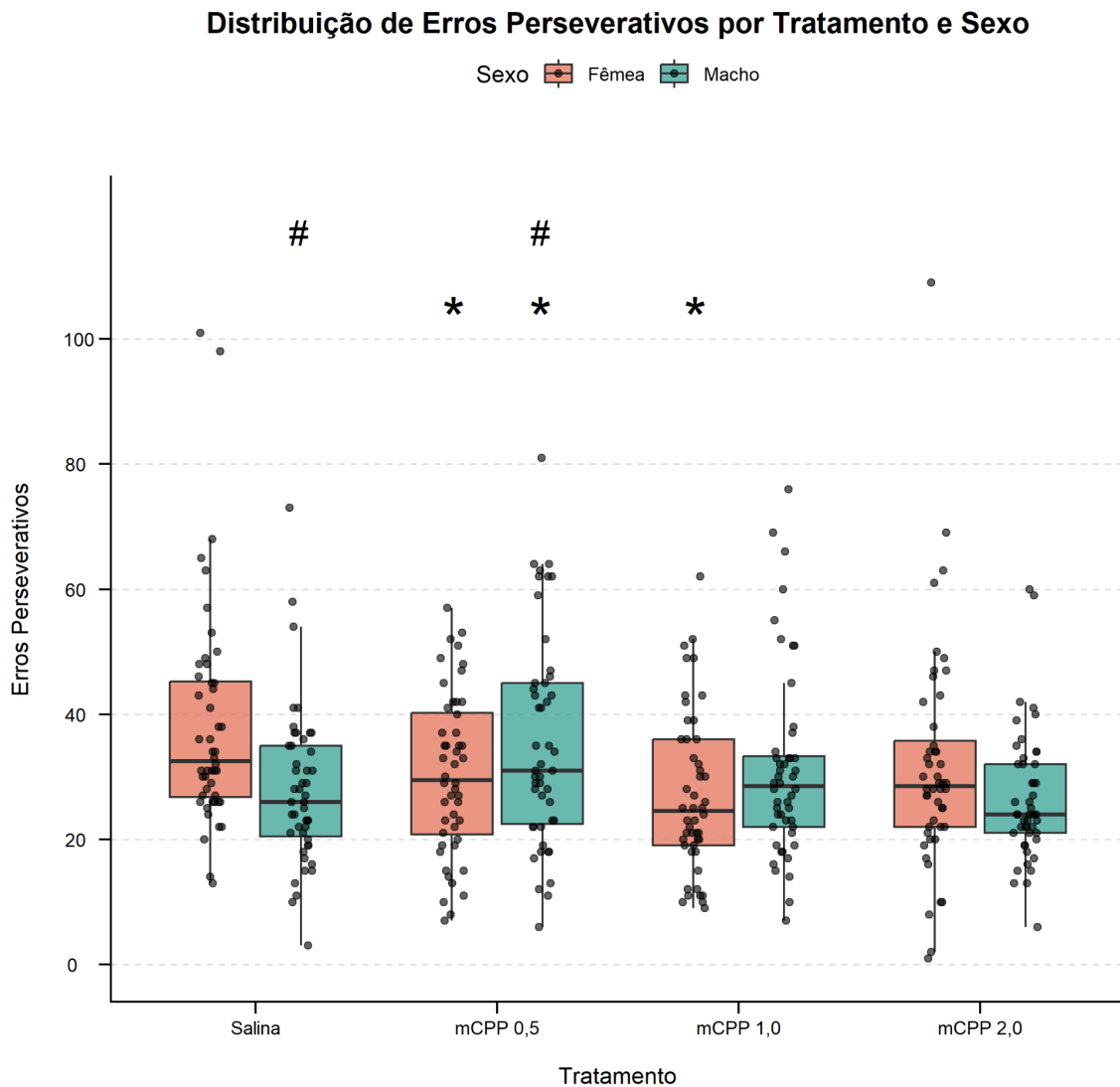


Figura 10. Distribuição de erros perseverativos por tratamento e sexo. As distribuições foram calculadas por sessão; cada ponto representa os erros perseverativos em uma sessão individual. Machos (n = n animais/n sessões): Salina (n = 12/47); mCPP 0,5 (n = 12/48); mCPP 1,0 (n = 12/48); mCPP 2,0 (n = 12/47); Fêmeas: Salina (n = 12/48); mCPP 0,5 (n = 12/48); mCPP 1,0 (n = 12/48); mCPP 2,0 (n = 12/48). GLMM com distribuição binomial negativa. # $p < 0,05$ comparado às fêmeas no mesmo tratamento; * $p < 0,05$ comparado ao respectivo grupo salina.

4.8 Erros Regressivos

A Figura 11 ilustra os efeitos de tratamento com mCPP sobre os erros regressivos na sessão por ratos machos e fêmeas na tarefa de deslocamento de regras. A análise por GLMM (distribuição binomial negativa, função de ligação log), para a comparação planejada em fêmeas, mostrou diminuição significativa dos erros regressivos em comparação à salina para as doses de 1,0 mg/kg (razão = 0,729; redução de 27,1%; $p = 0,002$) e 2,0 mg/kg (razão = 0,642; redução de 35,8%; $p < 0,001$) de mCPP, mas não para a dose de 0,5 mg/kg (razão = 0,830; redução de 17,0%; $p = 0,065$). No caso dos machos, as doses de 0,5 mg/kg (razão = 0,898; redução de 10,2%; $p = 0,291$), 1,0 mg/kg (razão = 0,893; redução de 10,7%; $p = 0,265$) e 2,0 mg/kg (razão = 0,859; redução de 14,1%; $p = 0,138$) não promoveram diferenças significativas em comparação à salina.

A análise exploratória das diferenças sexuais não apontou diferenças para a salina (razão = 1,110; $p = 0,300$), 0,5 mg/kg (razão = 1,026; $p = 0,802$), 1,0 mg/kg (razão = 0,907; $p = 0,340$) e 2,0 mg/kg (razão = 0,830; $p = 0,072$) de mCPP.

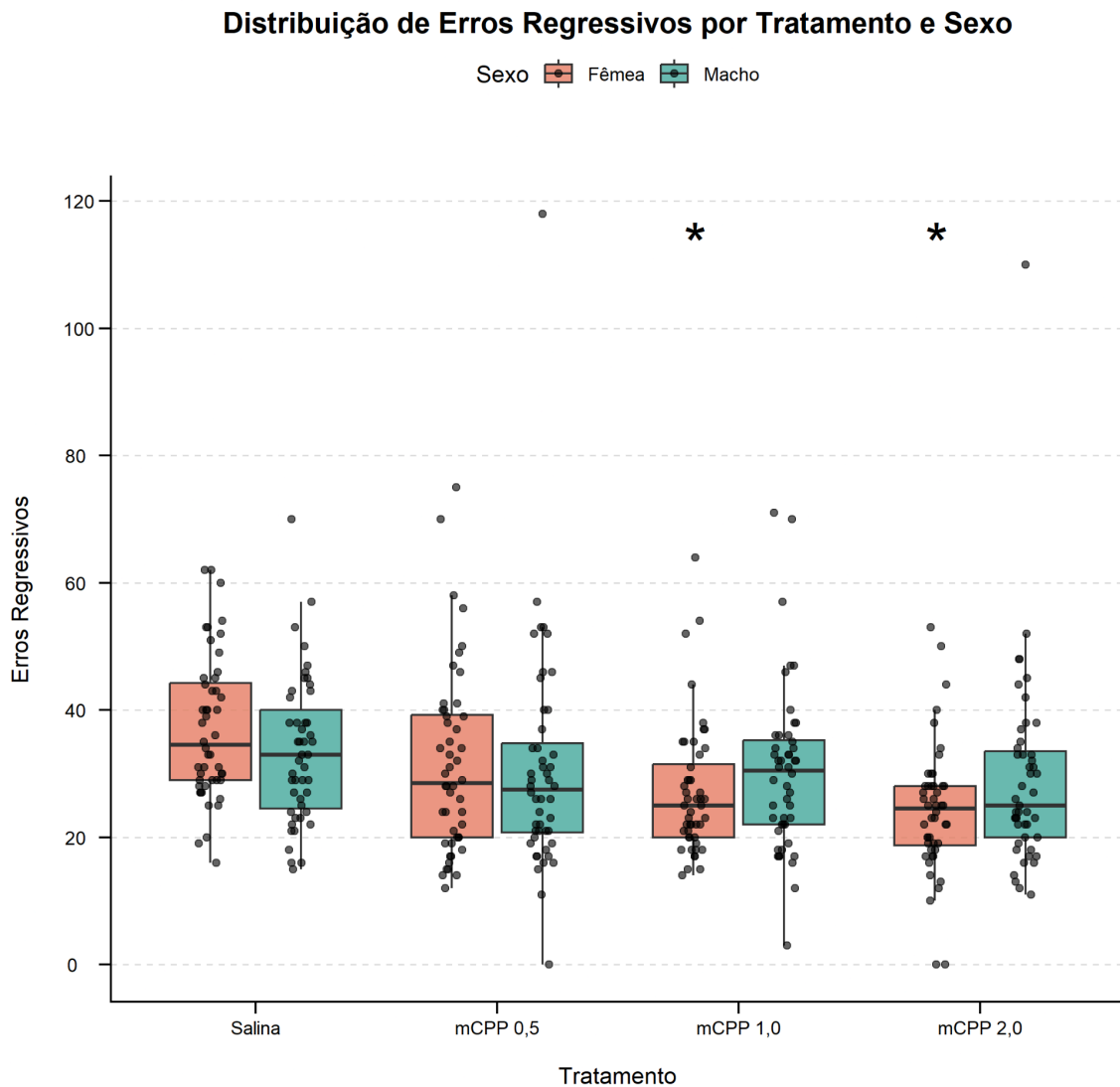


Figura 11. Distribuição de erros regressivos por tratamento e sexo. As distribuições foram calculadas por sessão; cada ponto representa o total de erros regressivos em uma sessão individual. Machos (n = n animais/n sessões): Salina (n = 12/47); mCPP 0,5 (n = 12/48); mCPP 1,0 (n = 12/48); mCPP 2,0 (n = 12/47); Fêmeas: Salina (n = 12/48); mCPP 0,5 (n = 12/48); mCPP 1,0 (n = 12/48); mCPP 2,0 (n = 12/48). GLMM com distribuição binomial negativa. * $p < 0,05$ comparado ao respectivo grupo salina.

4.9. Síntese dos Resultados

Com o intuito de auxiliar na interpretação dos resultados, foi elaborada uma tabela reunindo os mesmos, incluindo as comparações entre machos e fêmeas, assim como as comparações entre cada dose de mCPP e o grupo controle (Tabela 2).

Tabela 2. Síntese das comparações entre as doses de mCPP (0,5; 1,0 e 2,0 mg/kg) e o grupo controle (salina) e entre machos e fêmeas. *n.s.*: ausência de significância estatística ($p > 0,05$); ↓ redução significativa ($p < 0,05$); ↑ aumento significativo ($p < 0,05$). Nas comparações entre sexos (Machos vs. Fêmeas), as setas indicam o desempenho dos machos em relação às fêmeas.

Tratamento	Machos (mCPP vs. Sal)			Fêmeas (mCPP vs. Sal)			Machos vs. Fêmeas			
	0,5	1,0	2,0	0,5	1,0	2,0	Sal	0,5	1,0	2,0
Acurácia	↓	n.s	n.s	n.s	n.s	n.s	↑	n.s	n.s	↑
Tempo de reação	n.s	n.s	n.s	n.s	n.s	↑	↓	n.s	↓	↓
Omissões	↑	n.s	↑	n.s	n.s	↑	↓	n.s	↓	↓
Tempo total	n.s	n.s	n.s	n.s	n.s	n.s	↓	↓	n.s	↓
Tentativas	n.s	n.s	n.s	↓	↓	↓	n.s	n.s	n.s	n.s
Erros totais	n.s	n.s	n.s	↓	↓	↓	↓	n.s	n.s	n.s
Erros perseverativos	↑	n.s	n.s	↓	↓	n.s	↓	↑	n.s	n.s
Erros regressivos	n.s	n.s	n.s	n.s	↓	↓	n.s	n.s	n.s	n.s

5. DISCUSSÃO

Os objetivos do presente estudo foram avaliar os efeitos da administração intraperitoneal de mCPP sobre a flexibilidade comportamental de ratos submetidos ao protocolo de deslocamento de regras em uma caixa de condicionamento operante, considerando a influência da dose e do sexo nestes efeitos. A hipótese inicial propunha que a mCPP, especialmente em sua dose mais elevada, prejudicaria o desempenho dos animais na tarefa, independente de sexo. Além disso, previa-se que haveria diferenças sexuais para as variáveis analisadas, embora não houvesse expectativa clara quanto a uma maior ou menor sensibilidade ao fármaco para cada sexo. De modo geral, os resultados indicaram que a mCPP apresenta efeitos complexos e sexualmente dimórficos na tarefa de deslocamento de regras, com impacto negativo observado principalmente sob a menor dose nos machos (0,5 mg/kg) e maior dose nas fêmeas (2,0 mg/kg). Além disso, as análises de diferenças sexuais demonstraram que os machos apresentaram melhor desempenho na tarefa em comparação às fêmeas.

O protocolo experimental utilizado demonstrou ser eficaz e adequado para a avaliação da flexibilidade comportamental. Isso se confirmou pela capacidade dos animais em aprender consistentemente as regras espaciais e visuais durante a etapa de modelagem. Adicionalmente, os cinco dias de treino foram suficientes para que os sujeitos experimentais executassem a tarefa de forma eficaz. Um bom funcionamento do protocolo é indicado pela aquisição das regras pelos animais, manifestada por um aumento da acurácia, redução do tempo de reação e do tempo total nas sessões de treino, o que foi observado para machos e fêmeas (Apêndice A). Essa performance de base dos animais serve como uma referência crucial, confirmando que a tarefa era compreensível e realizável, e que o tempo de

treinamento estabelecido foi adequado para a consolidação do aprendizado antes da introdução dos tratamentos.

No que diz respeito ao fármaco utilizado, a mCPP apresenta um tempo de meia-vida entre 1h e 1,2h para ratos (Nacca et al., 1998), período que engloba o suficiente para que o teste possa ser realizado conforme o estipulado e garante que os efeitos da mCPP não estarão presentes no dia posterior durante o teste.

Em relação às diferenças sexuais no teste, os machos apresentaram melhor desempenho basal em acurácia, tempo de reação, número de omissões, tempo total por sessão e quantidade de erros totais e perseverativos. Esse padrão de desempenho também se manteve de maneira geral sob tratamento com mCPP. As únicas variáveis em que não houve diferença sexual foram o total de tentativas por sessão e os erros regressivos. A ausência de diferenças no número de tentativas entre sexos, apesar das diferenças observadas entre outras variáveis, pode ser explicada pelo aumento de omissões e, por consequência, maior latência de respostas nas fêmeas. Esse padrão reduz a densidade de respostas ao longo da sessão, o que pode impedir que o maior número de erros se traduza proporcionalmente em mais tentativas. Assim, o total de tentativas pode ter permanecido semelhante entre os sexos em razão do padrão global de desempenho menos eficiente observado nas fêmeas. Por sua vez, a ausência de diferenças sexuais nos erros regressivos sugere que, uma vez adquirida a regra, machos e fêmeas apresentam capacidades semelhantes de manutenção do padrão de respostas, de modo que as diferenças sexuais observadas são predominantes nos processos iniciais de adaptação e mudança de estratégia, caracterizadas por erros perseverativos. Nota-se, ainda, que nas análises exploratórias a única variável em que o desempenho dos machos foi inferior ao das fêmeas foi a de erros perseverativos. Nessa condição, sob a dose de 0,5 mg/kg, os machos apresentaram 18,6% mais erros, indicando prejuízo da flexibilidade comportamental neste grupo, aspecto que será discutido adiante.

Assim, como previsto em nossas hipóteses, verificou-se uma diferença sexual significativa, de modo que os machos apresentaram maior flexibilidade comportamental na tarefa em questão. A literatura, entretanto, revela que essas diferenças variam amplamente dependendo da espécie e do tipo de tarefa. Em diferentes grupos animais, as direções das diferenças nem sempre são consistentes. Por exemplo, em abelhas mamangavas (*Bambus terrestris*), machos mostram-se mais exploratórios e flexíveis em tarefas de aprendizagem reversa do que fêmeas (Chow et al., 2025). Em contraste, em peixes lebistes (*Poecilia reticulata*), fêmeas apresentam maior flexibilidade (Lucon-Xiccato & Bisazza, 2014). Quando se observa mamíferos não humanos, os dados também são variados. Em macacos sagui, por exemplo, fêmeas necessitam de mais tentativas para adquirir a reversão em um protocolo de aprendizagem reversa, alinhando-se com achados em humanos (LaClair et al., 2019). Contudo, sob o protocolo de deslocamento de regras, essa diferença sexual não foi observada nesses primatas (LaClair et al., 2019). No que tange aos humanos, estudos indicam desempenho superior masculino em tarefas que envolvam memória de trabalho espacial, incluindo deslocamento de regras (Gaillard, Fehring & Rossel, 2021), além de melhor habilidade de flexibilidade estratégica (Nazareth et al., 2019).

Em roedores, por sua vez, há ampla diversidade nos resultados. Há trabalhos que indicam maior flexibilidade nos machos (Gargiulo et al., 2022), nas fêmeas (Glewwe et al., 2025) e ausência de diferenças significativas entre os sexos (Zhang et al., 2023; Stoppiglia, da Silva & de Oliveira, 2026). As variações experimentais, tanto nos protocolos quanto nos estímulos apresentados, dificultam a consolidação de um padrão claro. Por exemplo, no protocolo de aprendizagem reversa, fêmeas testadas no inverno tiveram melhor desempenho que machos avaliados no verão (Rochais, Hotte & Pillay, 2021). Em tarefas de reversão Go/NoGo, embora o aprendizado final seja semelhante entre os sexos, fêmeas demoraram mais para atingir o platô de desempenho (Zhang et al., 2023). Sob estresse agudo, fêmeas

apresentaram mais omissões e erros perseverativos (Gargiulo et al., 2022). Em testes de reversão com labirinto em T, por sua vez, há indicação de ausência de diferenças significativas entre os sexos (Stoppiglia, da Silva & de Oliveira, 2026) e de aprendizado mais rápido em fêmeas, o qual desaparece com tratamento com testosterona (Guillamón et al., 1986).

Mais especificamente para o protocolo de deslocamento de regras, as incertezas persistem. Em roedores, há relatos tanto de maior flexibilidade em fêmeas (Glewwe et al., 2025) quanto em machos (Bissonette et al., 2012a), além de estudos que não evidenciaram diferenças significativas em grupos controle (Monaikul et al., 2017; Kipp, Nunes & Savage, 2021). Apesar da ausência de um padrão rígido na literatura indicando flexibilidade comportamental superior para o sexo masculino, são diversas as evidências de que, tanto na aprendizagem reversa quanto no deslocamento de regras, as fêmeas necessitam de mais tempo para atingir o desempenho dos machos (Bissonette et al., 2012b; Zhang et al., 2023). Essa tendência implicaria, em machos, um menor tempo de reação, tempo por sessão, e número de erros, conforme observado no presente estudo.

Para além das diferenças basais entre machos e fêmeas, a mCPP produziu efeitos marcantes e sexualmente dimórficos sobre a flexibilidade comportamental no presente estudo. Observou-se redução da acurácia, aumento de omissões e aumento de erros perseverativos em machos, especialmente na dose de 0,5 mg/kg. Ou seja, nos machos, os efeitos foram restritos e específicos. Nas fêmeas, por sua vez, a mCPP aumentou o tempo de reação e as omissões, mas diminuiu o total de tentativas e os erros totais, perseverativos e regressivos. Ou seja, nas fêmeas os efeitos do tratamento foram mais amplos e generalizados, envolvendo múltiplos parâmetros comportamentais e ocorrendo para todas as doses utilizadas, apesar dos prejuízos se concentrarem sob dose de 2,0 mg/kg. Esse conjunto de resultados sugere um padrão dose-dependente de diferenças sexuais, caracterizado por efeitos

mais pontuais na menor dose em machos e por alterações mais disseminadas no desempenho das fêmeas, com maior magnitude na dose mais elevada.

A mCPP tem sido utilizada em diversos estudos como ferramenta farmacológica para modular aspectos associados ao TOC, uma vez que pode induzir aumento de comportamentos repetitivos e sintomas obsessivo-compulsivos em humanos (Zohar & Insel, 1987; Erzegovesi et al., 2001; Gross-Isseroff et al., 2004) e roedores (Kreiss et al., 2013; Nardo et al., 2014; Reimer et al., 2018; Chen et al., 2021); contudo, a avaliação de diferenças sexuais ainda tem sido pouco explorada (da Silva et al., 2022). Por exemplo, a mCPP tem sido associada em roedores com o aumento do comportamento de autolimpeza (Graf et al., 2003; Georgiadou et al., 2012; Reimer et al., 2018), aumento do comportamento de enterrar esferas (Bhutada et al., 2013; Nardo et al., 2014), diminuição da interação social (Kennedy et al., 1993; Bristow et al., 2000), e diminuição da alternância espacial reforçada (Tsaltas et al., 2005; Kontis et al., 2008). Apesar dos resultados da literatura não apresentarem consistência plena, a mCPP é reconhecida por apresentar um efeito geral associado ao aumento de comportamentos defensivos e compulsivos (da Silva et al., 2022).

Particularmente nos estudos de alternância espacial mencionados, a mCPP foi também associada à piora no tempo de reação e quantidade de omissões (Stoppiglia, da Silva & de Oliveira, 2026), além da redução da capacidade de adaptação a novas contingências (Tsaltas et al., 2005; Kontis et al., 2008), o que se alinha ao conceito de inflexibilidade observada no TOC (Chamberlain et al., 2021). Esses efeitos convergem para um perfil farmacológico que afeta não apenas comportamentos repetitivos, mas a flexibilidade comportamental em uma dimensão mais geral, dimensão que, no presente estudo, mostrou-se prejudicada, o que se mostra embasado na literatura.

Neste contexto, a dissociação entre os tipos de erros oferece uma avaliação mais específica dos componentes cognitivos da flexibilidade comportamental, permitindo isolar

processos distintos envolvidos na adaptação às novas regras. Sob esta análise, os erros perseverativos se destacaram dos erros regressivos por não sofrerem efeito da maior dose de mCPP testada, mas sim das doses menores: 0,5 mg/kg e 1,0 mg/kg. Erros perseverativos são associados à incapacidade do animal em abandonar uma escolha prévia, já não mais reforçada, ao passo que erros regressivos são associados à incapacidade de se manter em uma escolha, ainda que seja reforçada, retornando à anterior (Brady & Floresco, 2015). Sob as duas menores doses, as fêmeas tiveram uma redução no número de erros perseverativos comparados ao controle, dado indicativo de melhora na mudança de regras e inibição de respostas não-reforçadas nas fêmeas (Cox et al., 2016; Knauft et al., 2021), o que pode refletir a menor quantidade de tentativas, a qual foi afetada pelas mesmas doses, sem necessariamente implicar em melhora na flexibilidade. Os machos, por outro lado, tiveram um aumento de erros perseverativos para a dose de 0,5 mg/kg quando comparados ao controle. Acrescido à redução da acurácia e ao aumento de omissões observados nesta dose, os resultados apontam para o prejuízo da flexibilidade comportamental em machos. Adicionalmente, o padrão observado é compatível com efeitos já descritos na literatura para a mCPP nessa dose, incluindo o aumento de comportamentos compulsivos e a redução da atividade locomotora (Kennedy et al., 1993; Meert et al., 1997; Kontis et al., 2008; Reimer et al., 2018), os quais podem contribuir para o padrão comportamental observado. Por sua vez, a ausência de efeitos em erros regressivos em machos indica que não houve influência do fármaco sob a capacidade de manutenção de regra aprendida (Biró, Lasztóczy & Klasberger, 2019), algo que ocorreu em fêmeas para as duas maiores doses testadas.

De todo modo, os efeitos gerais da mCPP apontam para um prejuízo na tarefa. Embora tal efeito tenha sido, em grande parte, esperado, o mesmo não se pode afirmar sobre as diferenças dos efeitos da mCPP entre machos e fêmeas. Verificou-se que as fêmeas foram mais influenciadas pela mCPP, apresentando efeitos mais amplos e inespecíficos, sobre quase

todas as variáveis analisadas, com exceção da acurácia e do tempo por sessão. Essa influência esteve majoritariamente associada à dose de 2,0 mg/kg, sendo que apenas os erros totais e perseverativos não tiveram efeito nessa dose. Nos machos, por sua vez, os efeitos do tratamento foram mais restritos e específicos, manifestando-se apenas na acurácia e nos erros perseverativos sob a dose de 0,5 mg/kg, bem como na quantidade de omissões, que foi afetada pelas doses de 0,5 mg/kg e 2,0 mg/kg.

A literatura apresenta resultados que indicam diferenças sexo-dependentes em relação à mCPP, embora com diferentes comportamentos ou efeitos fisiológicos avaliados. Por exemplo: aumento do hormônio de crescimento (GH) em adolescentes do sexo masculino após a infusão de 0,1 mg/kg de mCPP, sem efeito em mulheres (Ghaziuddin, Welch & Greden, 2003); efeito inverso em adultos saudáveis com a mesma dose, no qual mulheres apresentaram maior aumento da concentração sanguínea de GH e também maior elevação de prolactina (Charney et al., 1987); facilitação do comportamento copulatório em fêmeas Sprague-Dawley e inibição em machos ao utilizar 1,0 mg/kg do fármaco (Mendelson & Gorzalka, 1990); e prejuízo na extinção do medo em tarefa de medo condicionado ao contexto, utilizando 3,0 mg/kg de mCPP, o que afetou apenas fêmeas desta linhagem de ratos (Reimer et al., 2018). Ainda no estudo de Reimer et al. (2018), na análise dos primeiros 10 minutos de um teste de campo aberto, a dose de 0,5 mg/kg de mCPP reduziu a mobilidade e o número de entradas na área central apenas em fêmeas. Um estudo recente de nosso laboratório, entretanto, apontou, para a dose de 2,0 mg/kg de mCPP, o aumento de omissões e tempo de reação tanto em machos quanto em fêmeas ao se avaliar a aprendizagem reversa em uma tarefa utilizando o labirinto em T (Stoppiglia, da Silva & de Oliveira, 2026). Esses achados sugerem uma tendência, ainda que não consistente e dependente da variável analisada, de maior sensibilidade à mCPP em fêmeas.

Embora a idade seja um fator que pode auxiliar na compreensão de diferenças sexo-dependentes de efeitos farmacológicos, tanto em humanos (como previamente mencionado) quanto em ratos (Freo, Rapoport & Socrant, 1990; Lefever et al., 2007), não se espera que tenha contribuído neste estudo, visto que todos os animais estavam na faixa etária de 60-90 dias. A influência hormonal, por outro lado, pode apresentar maior associação com os resultados observados. Há abundantes evidências de que flutuações hormonais modulam tanto a cognição quanto a flexibilidade comportamental. Em roedores, por exemplo, observa-se variação comportamental nas fêmeas ao longo do ciclo estral. No protocolo de medo condicionado ao contexto, a dose de 3,0 mg/kg de mCPP reduziu a extinção do medo apenas em fêmeas na fase de metaestro/diestro, mas não em proestro/estro (Reimer et al., 2018). Algumas fases, como o proestro, associada a maiores concentrações de estrogênio, já foram relacionadas à menor flexibilidade em comparação a machos em protocolos de deslocamento de regras lado-luz (Gargiulo et al., 2022). Além disso, alterações hormonais também afetam machos, como concentrações elevadas de testosterona reduzindo a flexibilidade comportamental em tarefas de deslocamento de regras e aprendizagem reversa, efeito revertido pela inibição de sua síntese (Wallin & Wood, 2015; Tomm et al., 2022).

A flutuação dos hormônios sexuais em roedores fêmeas depende tanto da fase do ciclo reprodutivo quanto do horário do dia, com alterações significativas entre manhã, tarde e noite (Yoshinaga, Hawkins & Stocker, 1969; Alvord, Kantra & Pendergast, 2022). Essa variação afeta não apenas comportamentos sexuais, mas também comportamentos apetitivos e motivacionais (Yoest, Cummings & Becker, 2019). Embora não tenham sido encontradas evidências diretas de efeito da mCPP sobre hormônios sexuais, há relatos de sua ação sobre outros hormônios, particularmente prolactina e cortisol (Silverstone et al., 1994; Ghaziuddin, Welch & Greden, 2003). Esses dados reforçam a hipótese de que flutuações hormonais podem influenciar a modulação neuroendócrina e comportamental exercida pela mCPP. Tal

aspecto é particularmente relevante, dado que o protocolo experimental utilizado tem duração mínima de 18 dias, período no qual temos ampla variação hormonal associada ao ciclo estral. Além disso, a condução dos quatro dias de teste em sequência, combinada com a longa e variada duração de cada sessão, inviabiliza o controle e a padronização das fases do ciclo estral das fêmeas em grupos experimentais distintos. Assim, por mais que haja chance de que cada fêmea tenha sido testada ao longo de todas as fases do ciclo estral, o controle sobre oscilações hormonais representa uma limitação intrínseca ao protocolo aqui empregado.

Os mecanismos discutidos, em conjunto à literatura que indica desempenhos distintos entre machos e fêmeas em tarefas de flexibilidade comportamental, podem contribuir para esclarecer as diferenças basais e de tratamento observadas entre machos e fêmeas. Todavia, uma consideração prévia relevante diz respeito à possível participação de mecanismos adicionais aos estritamente cognitivos, em particular aqueles relacionados à função motora e à motivação. Essa hipótese pode ser avaliada principalmente a partir das variáveis de tempo total por sessão, quantidade de omissões e de tentativas totais por sessão. Embora não tenham sido observadas diferenças em nenhum dos sexos no tempo total por sessão em função das doses de mCPP, machos e fêmeas apresentaram aumento das omissões sob a dose de 2,0 mg/kg. No mais, observou-se que apenas as fêmeas apresentaram redução no total de tentativas por sessão em todas as doses testadas, variável que pode ser interpretada como um indicativo adicional de alteração na função motora ou no engajamento com a tarefa nesse sexo.

Um aumento no número de omissões, e até mesmo no tempo de reação, pode indicar redução da motricidade, possivelmente decorrente de comprometimento induzido pela dose mais alta de mCPP. Embora a função motora não tenha sido diretamente avaliada no presente estudo, a literatura apresenta evidências consistentes de que a mCPP reduz a locomoção em roedores (Ulrichsen, Partilla & Dax, 1992; Kennedy et al., 1993; Kennett et al., 1994;

Kennett, Curzon, 1988; Yamauchi et al., 2004; Zafar et al., 2019), inclusive em doses próximas às aqui utilizadas, como 1,0 mg/kg (Khaliq et al., 2008) e 2,5 mg/kg (Freo et al., 1990). No entanto, essa interpretação é desafiada pelo fato de que a maioria dos estudos que indicam comprometimento motor induzido pela mCPP foi realizada apenas em machos.

Outra explicação possível para o aumento do tempo de reação e de omissões é a redução da motivação alimentar. A mCPP é reconhecida por diminuir o apetite e a ingestão alimentar tanto em humanos (Halford et al., 2007; Thomas et al., 2018) quanto em roedores (Kennedy et al., 1993; Kennett & Curzon, 1988; Hikiji et al., 2004; Stark et al., 2006). Thomas et al. (2018) relataram que a administração de mCPP em mulheres reduziu a atividade cerebral, medida por fMRI BOLD, diante de imagens de alimentos, em regiões associadas ao sistema de recompensa, incluindo a ínsula, o córtex cingulado anterior e o PFC dorsolateral, e o núcleo caudado. Apesar deste resultado ser embasado em ratos fêmeas (Clifton, Barnfield & Curzon, 1993; Thomas et al., 2014), há dados de um grau similar de hipofagia em ambos os sexos (Cowen et al., 1995, Wright et al., 2014).

Em contraponto, uma função motora afetada geraria tempos de reações maiores, mas também maior tempo para completar a tarefa, resultando em sessões mais longas. Isso não foi observado em nenhum dos sexos. Por sua vez, um déficit motivacional é condizente com maior número de omissões e menor quantidade de tentativas por sessão, mas por sua vez, também tenderia a estar associado a sessões mais longas. Há a possibilidade, então, de que haja uma modulação de tomada de decisão adotada pelas fêmeas durante a tarefa. A literatura aponta que as fêmeas apresentam maior aversão ao risco, com preferência a uma estratégia mais cautelosa, indicando que a tomada de decisão é sexo-dependente em roedores (Jolles et al., 2015; Orsini et al., 2017; Georgiou et al., 2018). No mais, as fêmeas apresentam mais responsividade, atualizando constantemente a informação conforme o ambiente varia, mas, em compensação, necessitando de mais tempo para adquirir informação (Ruud van den Bos

et al., 2012), o que poderia estar implicado nas tentativas em que houve omissão e maior tempo de reação. Somadas, essas estratégias típicas das fêmeas poderiam explicar um aumento significativo nas omissões com ausência de efeito sob o tempo total por sessão. Isso aparenta ficar mais claro quando se somam os dados de acurácia, que não sofreu mudança com a mCPP em fêmeas.

Apesar de os resultados não serem consensuais, o ciclo estral em roedores parece refletir as diferenças sexo-dependentes na tomada de decisão (Orcini & Setlow, 2017), além da mudança de estratégias de aprendizagem (Warren & Juraska, 1997; Korol et al., 2004; Johnston et al., 2025). No mais, o ciclo estral em ratas parece influenciar os efeitos da mCPP, como indicado pela retenção diminuída da extinção no protocolo de medo condicionado ao contexto (Reimer et al., 2018). Por sua vez, a mCPP está associada ao aumento de comportamentos defensivos (Bilkei, Gyertyán & Lévy, 1998; Bristow et al., 2000; Buczek et al., 1994; Saito & Brandão, 2016), o que poderia dar suporte à hipótese de tomada de decisão, apesar de ainda não explicar o porquê do efeito apenas sob a maior dose aqui utilizada, enquanto a literatura aponta tais efeitos também em doses inferiores. Dado que para a maior dose testada de mCPP não houve modificações para a acurácia ou tempo total, há um possível indicador que os efeitos causados pela dose de 2,0 mg/kg de mCPP nas fêmeas não estejam afetando diretamente a flexibilidade comportamental ou efeitos motores e motivacionais, mas estratégias de tomada de decisão.

Por outro lado, para os machos, ainda que sejam efeitos isolados em comparação à gama de influências da mCPP nas fêmeas, a redução da acurácia e o aumento de erros perseverativos sob dose de 0,5 mg/kg são os dados que melhor apontam para um efeito mais direto da mCPP sobre a flexibilidade comportamental. Assim, afirmar tal efeito direto é mais simples para os machos, ao passo que nas fêmeas se torna mais complexo em decorrência de potenciais outros efeitos, como na locomoção, na motivação ou nas estratégias de tomada de

decisão. Todavia, os resultados se mostraram, no geral, consistentes, com a mCPP afetando negativamente as variáveis no que diz respeito ao desempenho em ambos os sexos.

Vale destacar que ainda que a mCPP apresente alta afinidade a determinados receptores, como o 5-HT_{2C}, permanece um agonista serotoninérgico não seletivo (Walker et al., 2005), podendo atuar sobre uma gama de receptores em diferentes regiões encefálicas. Somado a isso, há evidências de diferenças bioquímicas entre sexos para o sistema serotoninérgico, com fêmeas apresentando maior concentração de serotonina, ácido 5-hidroxi-indolacético e triptofano em ratos, não limitado a regiões encefálicas específicas (Carlsoon & Carlsoon, 1988). Além da concentração de serotonina, a densidade de seus receptores parece variar conforme o sexo, com mulheres apresentando maior densidade de receptores 5-HT_{1A} em regiões corticais e subcorticais (Jovanovic et al. 2008), densidade inferior no hipocampo (Schiller, Jhkel & Ohler, 2006), e menor densidade de receptores 5-HT_{2A} no córtex frontal de camundongos fêmeas (Sierra et al., 2022) em comparação com o sexo masculino.

Há, ainda, uma importância da região neuroanatômica em que as modulações, não exclusivamente associadas à serotonina, ocorrem. O desempenho em tarefas de flexibilidade comportamental está associado a regiões encefálicas específicas, em particular, o PFC, cuja integridade e atividade são essenciais para o desempenho em tarefas de deslocamento de regras. De modo mais amplo, o PFC desempenha papel central nesse processo, sendo que a sua inativação prejudica a flexibilidade em ratos e camundongos (Floresco, Block & Tse, 2008; Nakayama, Ibañez-Tallon & Heintz, 2018). No caso mais específico do PFC medial (mPFC), lesões (Joel, Weiner & Feldon, 1997; Li & Shao, 1998), inibição farmacológica (Floresco et al., 2006; Beas et al., 2017) ou manipulação genética (Ma et al., 2015) frequentemente resultam em comprometimento dessa habilidade.

Por outro lado, evidências defendem que o aumento da atividade no mPFC está relacionado à melhor desempenho na flexibilidade comportamental. Exemplos incluem a estimulação quimiogénica do circuito mPFC-núcleo accumbens em ratos (Duan et al., 2025); estimulação transcraniana por corrente contínua com polo anódico sobre o mPFC em humanos saudáveis (Panitz et al., 2022); exposição a estímulos novos em camundongos, o que promove maior adaptação comportamental através de aumento na conectividade do circuito área tegmental ventral-hipocampo ventral-mPFC (Park, 2023); e ativação quimiogénica de astrócitos do mPFC em ratos (Brockett et al., 2018). Esses achados reforçam a relevância do mPFC para a flexibilidade comportamental em roedores (Kosaki & Watanabe, 2012; Izquierdo et al., 2017; Klune, Jin & DeNardo, 2021), sugerindo que diferentes tipos de modulação nessa área podem influenciar o desempenho na tarefa.

Embora haja poucos estudos nesse aspecto, já foi avaliado que a mCPP pode reduzir a atividade neuronal no mPFC por meio da ativação de receptores 5-HT_{2C} (Bergqvist, Dong & Blier, 1999). Esses resultados, apesar de obtidos em pacientes com TOC, estão alinhados com os achados do presente estudo, especialmente no que se refere ao aumento do tempo de reação em fêmeas e à redução da acurácia em machos tratados com mCPP. Uma dificuldade advinda do estudo com mCPP, todavia, é referente à sua seletividade, de modo que a droga pode agir não apenas sobre receptores serotoninérgicos como agonista e antagonista, a depender do receptor (Hamik & Peroutka, 1989; Robertson et al., 1992), mas também sobre outras neurotransmissões, como a neuro-adrenérgica e a dopaminérgica (Invernizzi et al., 1981; Hamik & Peroutka, 1989).

Em síntese, a mCPP no presente estudo revelou resultados consistentes com o prejuízo na flexibilidade comportamental quando avaliada no teste de deslocamento de regras em machos e fêmeas, embora com um padrão de efeitos complexo e sexualmente dimórfico. Adicionalmente, evidenciou-se uma diferença basal entre sexos, com machos exibindo

melhor desempenho, o que pode ser associado a uma tendência de maior flexibilidade comportamental no protocolo de deslocamento de regras na caixa de condicionamento operante. No âmbito clínico, esses resultados reforçam a importância de investigar as diferenças sexuais em condições psiquiátricas caracterizadas por inflexibilidade comportamental. No mais, em condições de pesquisa, este trabalho expõe a necessidade de avaliar a flexibilidade em ambos os sexos, visto que a mesma pode sofrer variação a depender do protocolo metodológico utilizado pelo estudo.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O protocolo de deslocamento de regras utilizado demonstrou ser efetivo para a avaliação da flexibilidade comportamental e comparação entre machos e fêmeas. Os resultados obtidos indicaram que os animais de sexo masculino apresentaram uma flexibilidade basal superior às fêmeas. A mCPP promoveu prejuízos no desempenho em machos e fêmeas, com efeitos dose- e sexo-dependentes: prejudicando os machos principalmente sob a dose de 0,5 mg/kg, enquanto as fêmeas foram prejudicadas principalmente sob a dose de 2,0 mg/kg.

Torna-se importante ressaltar que os resultados revelam um padrão de efeitos complexo e sexualmente dimórfico, caracterizado por alterações mais restritas e específicas nos machos e mais amplas e abrangentes em fêmeas. Esses efeitos, especialmente em fêmeas, podem envolver prejuízos para além da flexibilidade comportamental, incluindo outros fatores, como motivação para realizar a tarefa, aspectos motores e mudanças nas estratégias de tomada de decisão.

Por fim, sob perspectiva geral, o estudo alcançou os objetivos propostos, indicando ser um alicerce para o desenvolvimento de modelos para investigar os mecanismos neurobiológicos subjacentes ao TOC a partir do uso do agonista serotoninérgico mCPP. Ainda, o dimorfismo sexual nos resultados apoia a necessidade de considerar sistematicamente o sexo como variável biológica em estudos futuros, de modo a garantir uma maior precisão e validade das interpretações.

7. REFERÊNCIAS

- Alvarez, B. D., Morales, C. A., & Amodeo, D. A. (2021). Impact of specific serotonin receptor modulation on behavioral flexibility. *Pharmacology, biochemistry, and behavior*, *209*, 173243. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2021.173243>
- Alvord, V., Kantra, E., & Pendergast, J. S. (2022). Estrogens and the Circadian System. *Seminars in cell & developmental biology*, *126*, 56–65. <https://doi.org/10.1016/j.semcd.2021.04.010>
- American Psychiatric Association. (2013). *Diagnostic and statistical manual of mental disorders* (5th ed.). <https://doi.org/10.1176/appi.books.9780890425596>.
- Bacqué-Cazenave, J., Bharatiya, R., Barrière, G., Delbecq, J. P., Bouguiyou, N., Di Giovanni, G., Cattaert, D., & De Deurwaerdère, P. (2020). Serotonin in Animal Cognition and Behavior. *International journal of molecular sciences*, *21*(5), 1649. <https://doi.org/10.3390/ijms21051649>
- Beas, B. S., McQuail, J. A., Ban Uelos, C., Setlow, B., & Bizon, J. L. (2017). Prefrontal cortical GABAergic signaling and impaired behavioral flexibility in aged F344 rats. *Neuroscience*, *345*, 274–286. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2016.02.014>
- Bergqvist, P. B., Dong, J., & Blier, P. (1999). Effect of atypical antipsychotic drugs on 5-HT₂ receptors in the rat orbito-frontal cortex: An in vivo electrophysiological study. *Psychopharmacology*, *143*(1), 89–96. <https://doi.org/10.1007/s002130050923>
- Bilkei-Gorzó, A., Gyertyán, I., & Lévy, G. (1998). mCPP-induced anxiety in the light-dark box in rats--a new method for screening anxiolytic activity. *Psychopharmacology*, *136*(3), 291–298. <https://doi.org/10.1007/s002130050568>

- Biró, S., Lasztóczy, B., & Klausberger, T. (2019). A Visual Two-Choice Rule-Switch Task for Head-Fixed Mice. *Frontiers in behavioral neuroscience*, *13*, 119. <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2019.00119>
- Bissonette, G. B., Lande, M. D., Martins, G. J., & Powell, E. M. (2012a). Versatility of the mouse reversal/set-shifting test: Effects of topiramate and sex. *Physiology & Behavior*, *107*(5), 781–786. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2012.05.018>
- Bissonette, G. B., & Powell, E. M. (2012b). Reversal learning and attentional set-shifting in mice. *Neuropharmacology*, *62*(3), 1168–1174. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2011.03.011>
- Bhutada, P., Dixit, P., Thakur, K., Deshmukh, P., & Kaulaskar, S. (2013). Effects of agomelatine in a murine model of obsessive–compulsive disorder: Interaction with meta-chlorophenylpiperazine, bicuculline, and diazepam. *The Kaohsiung Journal of Medical Sciences*, *29*(7), 362–367. <https://doi.org/10.1016/j.kjms.2012.11.003>
- van den Boom, B. J. G., Mooij, A. H., Misevičiūtė, I., Denys, D., & Willuhn, I. (2019). Behavioral flexibility in a mouse model for obsessive-compulsive disorder: Impaired Pavlovian reversal learning in SAPAP3 mutants. *Genes, Brain and Behavior*, *18*(4), e12557. <https://doi.org/10.1111/gbb.12557>
- van den Bos, R., Jolles, J., van der Knaap, L., Baars, A., & de Visser, L. (2012). Male and female Wistar rats differ in decision-making performance in a rodent version of the Iowa Gambling Task. *Behavioural brain research*, *234*(2), 375–379. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2012.07.015>
- Barnes, N. M., & Sharp, T. (1999). A review of central 5-HT receptors and their function. *Neuropharmacology*, *38*(8), 1083–1152. [https://doi.org/10.1016/s0028-3908\(99\)00010-6](https://doi.org/10.1016/s0028-3908(99)00010-6)

- Brady, A. M., & Floresco, S. B. (2015). Operant procedures for assessing behavioral flexibility in rats. *Journal of visualized experiments: JoVE*, (96), e52387. <https://doi.org/10.3791/52387>
- Bristow, L. J., O'Connor, D., Watts, R., Duxon, M. S., & Hutson, P. H. (2000). Evidence for accelerated desensitisation of 5-HT_{2C} receptors following combined treatment with fluoxetine and the 5-HT_{1A} receptor antagonist, WAY 100,635, in the rat. *Neuropharmacology*, 39(7), 1222–1236. [https://doi.org/10.1016/S0028-3908\(99\)00191-4](https://doi.org/10.1016/S0028-3908(99)00191-4)
- Brockett, A. T., Kane, G. A., Monari, P. K., Briones, B. A., Vigneron, P.-A., Barber, G. A., Bermudez, A., Dieffenbach, U., Kloth, A. D., Buschman, T. J., & Gould, E. (2018). Evidence supporting a role for astrocytes in the regulation of cognitive flexibility and neuronal oscillations through the Ca²⁺ binding protein S100 β . *PLOS ONE*, 13(4), e0195726. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0195726>
- Broocks, A., Pigott, T. A., Hill, J. L., Canter, S., Grady, T. A., L'Heureux, F., & Murphy, D. L. (1998). Acute intravenous administration of ondansetron and m-CPP, alone and in combination, in patients with obsessive-compulsive disorder (OCD): behavioral and biological results. *Psychiatry research*, 79(1), 11–20. [https://doi.org/10.1016/s0165-1781\(98\)00029-8](https://doi.org/10.1016/s0165-1781(98)00029-8)
- Buczek, Y., Tomkins, D. M., Higgins, G. A., & Sellers, E. M. (1994). Dissociation of serotonergic regulation of anxiety and ethanol self-administration: a study with mCPP. *Behavioural pharmacology*, 5(4 And 5), 470–484. <https://doi.org/10.1097/00008877-199408000-00008>

- Carlsson, M., & Carlsson, A. (1988). A regional study of sex differences in rat brain serotonin. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, *12*(1), 53–61. [https://doi.org/10.1016/0278-5846\(88\)90061-9](https://doi.org/10.1016/0278-5846(88)90061-9)
- Chamberlain, S. R., Blackwell, A. D., Fineberg, N. A., Robbins, T. W., & Sahakian, B. J. (2005). The neuropsychology of obsessive compulsive disorder: the importance of failures in cognitive and behavioural inhibition as candidate endophenotypic markers. *Neuroscience and biobehavioral reviews*, *29*(3), 399–419. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2004.11.006>
- Chamberlain, S. R., Müller, U., Blackwell, A. D., Clark, L., Robbins, T. W., & Sahakian, B. J. (2006). Neurochemical modulation of response inhibition and probabilistic learning in humans. *Science (New York, N.Y.)*, *311*(5762), 861–863. <https://doi.org/10.1126/science.1121218>
- Chamberlain, S. R., Solly, J. E., Hook, R. W., Vaghi, M. M., & Robbins, T. W. (2021). Cognitive Inflexibility in OCD and Related Disorders. *Current Topics in Behavioral Neurosciences*, *49*, 125–145. https://doi.org/10.1007/7854_2020_198
- Charney, D. S., Woods, S. W., Goodman, W. K., & Heninger, G. R. (1987). Serotonin function in anxiety. *Psychopharmacology*, *92*(1), 14–24. <https://doi.org/10.1007/BF00215473>
- Chen, X., Zhang, H., Li, J., & Chen, L. (2021). Analysis of chemical compounds of pomegranate peel polyphenols and their antibacterial action against *Ralstonia solanacearum*. *South African Journal of Botany*, *140*, 4–10. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2021.03.021>

- Chow, P. K. Y., Donnelly, S., Hochard, K. D., & Robert, T. (2025). *Male bumblebees (Bombus terrestris) are more explorative and behaviourally flexible than workers* (p. 2025.03.28.645856). bioRxiv. <https://doi.org/10.1101/2025.03.28.645856>
- Clarke, H. F., Walker, S. C., Crofts, H. S., Dalley, J. W., Robbins, T. W., & Roberts, A. C. (2005). Prefrontal serotonin depletion affects reversal learning but not attentional set shifting. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*, *25*(2), 532–538. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3690-04.2005>
- Clarke, H. F., Walker, S. C., Dalley, J. W., Robbins, T. W., & Roberts, A. C. (2007). Cognitive inflexibility after prefrontal serotonin depletion is behaviorally and neurochemically specific. *Cerebral cortex (New York, N.Y.: 1991)*, *17*(1), 18–27. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhj120>
- Clifton, P. G., Barnfield, A. M., & Curzon, G. (1993). Effects of food deprivation and mCPP treatment on the microstructure of ingestive behaviour of male and female rats. *Journal of psychopharmacology (Oxford, England)*, *7*(3), 257–264. <https://doi.org/10.1177/026988119300700304>
- Cowen, P. J., Sargent, P. A., Williams, C., Goodall, E. M., & Orlikov, A. B. (1995). Hypophagic, endocrine and subjective responses to m-chlorophenylpiperazine in healthy men and women. *Human Psychopharmacology: Clinical and Experimental*, *10*(5), 385–391. <https://doi.org/10.1002/hup.470100504>
- Cox, B. M., Cope, Z. A., Parsegian, A., Floresco, S. B., Aston-Jones, G., & See, R. E. (2016). Chronic methamphetamine self-administration alters cognitive flexibility in male rats. *Psychopharmacology*, *233*(12), 2319–2327. <https://doi.org/10.1007/s00213-016-4283-0>

- Chase, T. N., & Murphy, D. L. (1973). Serotonin and central nervous system function. *Annual review of pharmacology*, 13, 181–197. <https://doi.org/10.1146/annurev.pa.13.040173.001145>
- D’Cruz, A.-M., Ragozzino, M. E., Mosconi, M. W., Shrestha, S., Cook, E. H., & Sweeney, J. A. (2013). Reduced behavioral flexibility in autism spectrum disorders. *Neuropsychology*, 27(2), 152–160. <https://doi.org/10.1037/a0031721>
- Dalla, C., & Shors, T. J. (2009). Sex differences in learning processes of classical and operant conditioning. *Physiology & behavior*, 97(2), 229–238. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2009.02.035>
- de Oliveira, A. R., Reimer, A. E., Simandl, G. J., Nagrale, S. S., & Widge, A. S. (2021). Lost in translation: no effect of repeated optogenetic cortico-striatal stimulation on compulsivity in rats. *Translational psychiatry*, 11(1), 315. <https://doi.org/10.1038/s41398-021-01448-x>
- Dias, R., Robbins, T. W., & Roberts, A. C. (1996). Dissociation in prefrontal cortex of affective and attentional shifts. *Nature*, 380(6569), 69–72. <https://doi.org/10.1038/380069a0>
- Duan, Y., Ma, Z., Tsai, P.-J., Lu, H., Xiao, X., Wang, D., Siddiqi, A., Stein, E. A., Michaelides, M., & Yang, Y. (2025). Frontostriatal regulation of brain circuits contributes to flexible decision making. *Neuropsychopharmacology*, 50(7), 1156–1166. <https://doi.org/10.1038/s41386-025-02065-8>
- Erdsack, N., Dehnhardt, G., & Hanke, F. D. (2022). Serial visual reversal learning in harbor seals (*Phoca vitulina*). *Animal cognition*, 25(5), 1183–1193. <https://doi.org/10.1007/s10071-022-01653-1>

- Erzegovesi, S., Martucci, L., Henin, M., & Bellodi, L. (2001). Low versus Standard Dose mCPP Challenge in Obsessive-Compulsive Patients. *Neuropsychopharmacology*, *24*(1), 31–36. [https://doi.org/10.1016/S0893-133X\(00\)00178-0](https://doi.org/10.1016/S0893-133X(00)00178-0)
- Floresco, S. B., Magyar, O., Ghods-Sharifi, S., Vexelman, C., & Tse, M. T. L. (2006). Multiple dopamine receptor subtypes in the medial prefrontal cortex of the rat regulate set-shifting. *Neuropsychopharmacology: Official Publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, *31*(2), 297–309. <https://doi.org/10.1038/sj.npp.1300825>
- Floresco, S. B., Block, A. E., & Tse, M. T. (2008). Inactivation of the medial prefrontal cortex of the rat impairs strategy set-shifting, but not reversal learning, using a novel, automated procedure. *Behavioural brain research*, *190*(1), 85–96. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2008.02.008>
- Fontenelle, L., Marques, C., Engelhardt, E., & Versiani, M. (2001). Impaired set-shifting ability and therapeutic response in obsessive-compulsive disorder. *The Journal of neuropsychiatry and clinical neurosciences*, *13*(4), 508–510. <https://doi.org/10.1176/jnp.13.4.508>
- Freo, U., Soncrant, T. T., Ricchieri, G. L., Wozniak, K. M., Larson, D. M., & Rapoport, S. I. (1990). Time courses of behavioral and regional cerebral metabolic responses to different doses of meta-chlorophenylpiperazine in awake rats. *Brain Research*, *511*(2), 209–216. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(90\)90163-6](https://doi.org/10.1016/0006-8993(90)90163-6)
- Freo, U., Rapoport, S. I., & Soncrant, T. T. (1991). Age-related alterations in behavioral and cerebral metabolic responses to the serotonin agonist meta-chlorophenylpiperazine in rats. *Neurobiology of Aging*, *12*(2), 137–144. [https://doi.org/10.1016/0197-4580\(91\)90052-1](https://doi.org/10.1016/0197-4580(91)90052-1)

- Izquierdo, A., Brigman, J. L., Radke, A. K., Rudebeck, P. H., & Holmes, A. (2017). The neural basis of reversal learning: An updated perspective. *Neuroscience*, *345*, 12–26. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2016.03.021>
- Gaillard, Y. P., Cuquel, A. C., Boucher, A., Romeuf, L., Bevalot, F., Prevosto, J. M., & Menard, J. M. (2013). A fatality following ingestion of the designer drug meta-chlorophenylpiperazine (mCPP) in an asthmatic--HPLC-MS/MS detection in biofluids and hair. *Journal of forensic sciences*, *58*(1), 263–269. <https://doi.org/10.1111/j.1556-4029.2012.02254.x>
- Gaillard, A., Fehring, D. J., & Rossell, S. L. (2021). A systematic review and meta-analysis of behavioural sex differences in executive control. *The European journal of neuroscience*, *53*(2), 519–542. <https://doi.org/10.1111/ejn.14946>
- Gargiulo, A. T., Hu, J., Ravaglia, I. C., Hawks, A., Li, X., Sweasy, K., & Grafe, L. (2022). Sex differences in cognitive flexibility are driven by the estrous cycle and stress-dependent. *Frontiers in behavioral neuroscience*, *16*, 958301. <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2022.958301>
- Georgiadou, G., Tarantilis, P. A., & Pitsikas, N. (2012). Effects of the active constituents of *Crocus Sativus* L., crocins, in an animal model of obsessive–compulsive disorder. *Neuroscience Letters*, *528*(1), 27–30. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2012.08.081>
- Georgiou, P., Zanos, P., Bhat, S., Tracy, J. K., Merchenthaler, I. J., McCarthy, M. M., & Gould, T. D. (2018). Dopamine and Stress System Modulation of Sex Differences in Decision Making. *Neuropsychopharmacology: official publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, *43*(2), 313–324. <https://doi.org/10.1038/npp.2017.161>

- Ghahremani, D. G., Monterosso, J., Jentsch, J. D., Bilder, R. M., & Poldrack, R. A. (2010). Neural Components Underlying Behavioral Flexibility in Human Reversal Learning. *Cerebral Cortex*, 20(8), 1843–1852. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhp247>
- Ghaziuddin, N., Welch, K., & Greden, J. (2003). Central serotonergic effects of m-chlorophenylpiperazine (mCPP) among normal control adolescents. *Neuropsychopharmacology: Official Publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, 28(1), 133–139. <https://doi.org/10.1038/sj.npp.1300006>
- Glewwe, N., Dastin-Van Rijn, E., Chen, C. S., Giglio, E., Knep, E., Ebitz, R. B., Widge, A. S., & Grissom, N. M. (2025). Sex-biased computations underlying differential set shift performance in mice. *bioRxiv: The Preprint Server for Biology*, 2025.04.01.646712. <https://doi.org/10.1101/2025.04.01.646712>
- Glikmann-Johnston, Y., Saling, M. M., Reutens, D. C., & Stout, J. C. (2015). Hippocampal 5-HT1A Receptor and Spatial Learning and Memory. *Frontiers in pharmacology*, 6, 289. <https://doi.org/10.3389/fphar.2015.00289>
- van Goethem, N. P., Rutten, K., van der Staay, F. J., Jans, L. A., Akkerman, S., Steinbusch, H. W., Blokland, A., van't Klooster, J., & Prickaerts, J. (2012). Object recognition testing: rodent species, strains, housing conditions, and estrous cycle. *Behavioural brain research*, 232(2), 323–334. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2012.03.023>
- Graf, M., Kantor, S., Anheuer, Z. E., Modos, E. A., & Bagdy, G. (2003). M-CPP-induced self-grooming is mediated by 5-HT2C receptors. *Behavioural Brain Research*, 142(1), 175–179. [https://doi.org/10.1016/S0166-4328\(02\)00404-7](https://doi.org/10.1016/S0166-4328(02)00404-7)
- Gross-Iseroff, R. et al. (2004). Serotonergic dissection of obsessive compulsive symptoms: a challenge study with m-Chlorophenylpiperazine and sumatriptan. *Neuropsychobiology*, 50(3), 200-205.

- Gruner, P., & Pittenger, C. (2017). Cognitive inflexibility in Obsessive-Compulsive Disorder. *Neuroscience*, *345*, 243–255. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2016.07.030>
- Guillamón, A., Valencia, A., Calés, J. M., & Segovia, S. (1986). Effects of early postnatal gonadal steroids on the successive conditional discrimination reversal learning in the rat. *Physiology & Behavior*, *38*(6), 845–849. [https://doi.org/10.1016/0031-9384\(86\)90052-1](https://doi.org/10.1016/0031-9384(86)90052-1)
- Haluk, D. M., & Floresco, S. B. (2009). Ventral Striatal Dopamine Modulation of Different Forms of Behavioral Flexibility. *Neuropsychopharmacology*, *34*(8), 2041–2052. <https://doi.org/10.1038/npp.2009.21>
- Hamik, A., & Peroutka, S. J. (1989). 1-(m-chlorophenyl)piperazine (mCPP) interactions with neurotransmitter receptors in the human brain. *Biological psychiatry*, *25*(5), 569–575. [https://doi.org/10.1016/0006-3223\(89\)90217-5](https://doi.org/10.1016/0006-3223(89)90217-5)
- Harada, K., Aota, M., Inoue, T., Matsuda, R., Mihara, T., Yamaji, T., Ishibashi, K., & Matsuoka, N. (2006). Anxiolytic activity of a novel potent serotonin 5-HT_{2C} receptor antagonist FR260010: A comparison with diazepam and buspirone. *European Journal of Pharmacology*, *553*(1), 171–184. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2006.09.042>
- Halford, J. C., Harrold, J. A., Boyland, E. J., Lawton, C. L., & Blundell, J. E. (2007). Serotonergic drugs : effects on appetite expression and use for the treatment of obesity. *Drugs*, *67*(1), 27–55. <https://doi.org/10.2165/00003495-200767010-00004>
- Heisler, J. M., Morales, J., Donegan, J. J., Jett, J. D., Redus, L., & O'Connor, J. C. (2015). The attentional set shifting task: a measure of cognitive flexibility in mice. *Journal of visualized experiments: JoVE*, (96), 51944. <https://doi.org/10.3791/51944>
- Hikiji, K., Inoue, K., Iwasaki, S., Ichihara, K., & Kiriike, N. (2004). Local perfusion of mCPP into ventromedial hypothalamic nucleus, but not into lateral hypothalamic area

- and frontal cortex, inhibits food intake in rats. *Psychopharmacology*, 174(2), 190–196.
<https://doi.org/10.1007/s00213-003-1735-0>
- Hurtubise, J. L., & Howland, J. G. (2017). Effects of stress on behavioral flexibility in rodents. *Neuroscience*, 345, 176–192.
<https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2016.04.007>
- Invernizzi, R., Cotecchia, S., De Blasi, A., Mennini, T., Pataccini, R., & Samanin, R. (1981). Effects of m-chlorophenylpiperazine on receptor binding and brain metabolism of monoamines in rats. *Neurochemistry international*, 3(3-4), 239–244.
[https://doi.org/10.1016/0197-0186\(81\)90006-1](https://doi.org/10.1016/0197-0186(81)90006-1)
- Izquierdo, A., Brigman, J. L., Radke, A. K., Rudebeck, P. H., & Holmes, A. (2017). The neural basis of reversal learning: An updated perspective. *Neuroscience*, 345, 12–26.
<https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2016.03.021>
- Joel, D., Weiner, I., & Feldon, J. (1997). Electrolytic lesions of the medial prefrontal cortex in rats disrupt performance on an analog of the Wisconsin Card Sorting Test, but do not disrupt latent inhibition: Implications for animal models of schizophrenia. *Behavioural Brain Research*, 85(2), 187–201. [https://doi.org/10.1016/s0166-4328\(97\)87583-3](https://doi.org/10.1016/s0166-4328(97)87583-3)
- Johnston, M. P., Garcia-Castañeda, B. I., Cedillo, L. G., Patel, S. K., Vargas, V. S., & Wanat, M. J. (2025). Estrous cycle stage gates the effect of stress on reward learning. *Neuropsychopharmacology*, 1–11. <https://doi.org/10.1038/s41386-025-02170-8>
- Jonnakuty, C., & Gagnoli, C. (2008). What do we know about serotonin?. *Journal of cellular physiology*, 217(2), 301–306. <https://doi.org/10.1002/jcp.21533>
- Jolles, J. W., Boogert, N. J., & van den Bos, R. (2015). Sex differences in risk-taking and associative learning in rats. *Royal Society open science*, 2(11), 150485.
<https://doi.org/10.1098/rsos.150485>

- Jovanovic, H., Lundberg, J., Karlsson, P., Cerin, Å., Saijo, T., Varrone, A., Halldin, C., & Nordström, A.-L. (2008). Sex differences in the serotonin 1A receptor and serotonin transporter binding in the human brain measured by PET. *NeuroImage*, *39*(3), 1408–1419. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2007.10.016>
- Keiser, A.; Wood, M. (2019). Examining the contribution of histone modification to sex differences in learning and memory. *Learning & memory*, *26*(9), 318-331.
- Kennedy, A. J., Gibson, E. L., O'Connell, M. T., & Curzon, G. (1993). Effects of housing, restraint and chronic treatments with mCPP and sertraline on behavioural responses to mCPP. *Psychopharmacology*, *113*(2), 262–268. <https://doi.org/10.1007/BF02245708>
- Kennett, G. a., & Curzon, G. (1988). Evidence that mCPP may have behavioural effects mediated by central 5-HT_{1C} receptors. *British Journal of Pharmacology*, *94*(1), 137–147. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.1988.tb11508.x>
- Kennett, G. A., Lightowler, S., De Biasi, V., Stevens, N. C., Wood, M. D., Tulloch, I. F., & Blackburn, T. P. (1994). Effect of chronic administration of selective 5-hydroxytryptamine and noradrenaline uptake inhibitors on a putative index of 5-HT_{2C/2B} receptor function. *Neuropharmacology*, *33*(12), 1581–1588. [https://doi.org/10.1016/0028-3908\(94\)90133-3](https://doi.org/10.1016/0028-3908(94)90133-3)
- Khaliq, S., Irfan, B., Haider, S., & Haleem, D. J. (2008). m-CPP induced hypolocomotion does not interfere in the assessment of memory functions in rats. *Pakistan journal of pharmaceutical sciences*, *21*(2), 139–143.
- Khaliq, S., Haider, S., Saleem, S., Memon, Z., & Haleem, D. J. (2012). Influence of serotonergic 5-HT_{2C} receptor antagonist mesulergine in the reversal of memory deficits induced by mCPP. *Journal of the College of Physicians and Surgeons--Pakistan : JCPSP*, *22*(2), 75–79.

- Kim, T., Kim, M., Jung, W. H., Kwak, Y. B., Moon, S. Y., Kyungjin Lho, S., Lee, J., & Kwon, J. S. (2022). Unbalanced fronto-pallidal neurocircuit underlying set shifting in obsessive-compulsive disorder. *Brain: a journal of neurology*, *145*(3), 979–990. <https://doi.org/10.1093/brain/awab483>
- Kipp, B. T., Nunes, P. T., & Savage, L. M. (2021). Sex differences in cholinergic circuits and behavioral disruptions following chronic ethanol exposure with and without thiamine deficiency. *Alcoholism, Clinical and Experimental Research*, *45*(5), 1013–1027. <https://doi.org/10.1111/acer.14594>
- Klune, C. B., Jin, B., & DeNardo, L. A. (2021). Linking mPFC circuit maturation to the developmental regulation of emotional memory and cognitive flexibility. *eLife*, *10*, e64567. <https://doi.org/10.7554/eLife.64567>
- Knauff, K., Waldron, A., Mathur, M., & Kalia, V. (2021). Perceived chronic stress influences the effect of acute stress on cognitive flexibility. *Scientific reports*, *11*(1), 23629. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-03101-5>
- Knight, P., Chellian, R., Wilson, R., Behnood-Rod, A., Panunzio, S., & Bruijnzeel, A. W. (2021). Sex differences in the elevated plus-maze test and large open field test in adult Wistar rats. *Pharmacology, biochemistry, and behavior*, *204*, 173168. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2021.173168>
- Kontis, D., Boulougouris, V., Papakosta, V. M., Kalogerakou, S., Papadopoulos, S., Pouloupoulou, C., Papadimitriou, G. N., & Tsaltas, E. (2008). Dopaminergic and serotonergic modulation of persistent behaviour in the reinforced spatial alternation model of obsessive-compulsive disorder. *Psychopharmacology*, *200*(4), 597–610. <https://doi.org/10.1007/s00213-008-1241-5>

- Kosaki, Y., & Watanabe, S. (2012). Dissociable roles of the medial prefrontal cortex, the anterior cingulate cortex, and the hippocampus in behavioural flexibility revealed by serial reversal of three-choice discrimination in rats. *Behavioural Brain Research*, 227(1), 81–90. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2011.10.039>
- Korol, D. L., Malin, E. L., Borden, K. A., Busby, R. A., & Couper-Leo, J. (2004). Shifts in preferred learning strategy across the estrous cycle in female rats. *Hormones and Behavior*, 45(5), 330–338. <https://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2004.01.005>
- Koszalka, A., Lustyk, K., & Pytko, K. (2023). Sex-dependent differences in animal cognition. *Neuroscience and biobehavioral reviews*, 153, 105374. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2023.105374>
- Kreiss, D. S., Coffman, C. F., Fiacco, N. R., Granger, J. C., Helton, B. M., Jackson, J. C., Kim, L. V., Mistry, R. S., Mizer, T. M., Palmer, L. V., Vacca, J. A., Winkler, S. S., & Zimmer, B. A. (2013). Ritualistic chewing behavior induced by mCPP in the rat is an animal model of obsessive compulsive disorder. *Pharmacology, biochemistry, and behavior*, 104, 119–124. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2013.01.006>
- LaClair, M., Febo, M., Nephew, B., Gervais, N. J., Poirier, G., Workman, K., Chumachenko, S., Payne, L., Moore, M. C., King, J. A., & Lacreuse, A. (2019). Sex Differences in Cognitive Flexibility and Resting Brain Networks in Middle-Aged Marmosets. *eNeuro*, 6(4). <https://doi.org/10.1523/ENEURO.0154-19.2019>
- Lapiz-Bluhm, M. D., Soto-Piña, A. E., Hensler, J. G., & Morilak, D. A. (2009). Chronic intermittent cold stress and serotonin depletion induce deficits of reversal learning in an attentional set-shifting test in rats. *Psychopharmacology*, 202(1-3), 329–341. <https://doi.org/10.1007/s00213-008-1224-6>

- Lea, S. E. G., Chow, P. K. Y., Leaver, L. A., & McLaren, I. P. L. (2020). Behavioral flexibility: A review, a model, and some exploratory tests. *Learning & Behavior*, *48*(1), 173–187. <https://doi.org/10.3758/s13420-020-00421-w>
- Lefever, T., Ward, S., Gilbert, L., & Walker, E. (2007). Pre-feeding conditions alter hypophagic responses to m-chlorophenylpiperazine (mCPP) in young, adolescent, and adult rats. *The FASEB Journal*, *21*(6), A779–A779. <https://doi.org/10.1096/fasebj.21.6.A779-c>
- Lefner, M. J., Dejeux, M. I., Wanat, M. J. (2022). Sex differences in behavioral responding and dopamine release during Pavlovian Learning. *eNeuro*, *9*(2), ENEURO.0050-22.2022.
- Li, L., & Shao, J. (1998). Restricted lesions to ventral prefrontal subareas block reversal learning but not visual discrimination learning in rats. *Physiology & Behavior*, *65*(2), 371–379. [https://doi.org/10.1016/S0031-9384\(98\)00216-9](https://doi.org/10.1016/S0031-9384(98)00216-9)
- Ligneul, R., & Mainen, Z. F. (2023). Serotonin. *Current biology : CB*, *33*(23), R1216–R1221. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2023.09.068>
- Locklear, M. N., & Kritzer, M. F. (2014). Assessment of the effects of sex and sex hormones on spatial cognition in adult rats using the Barnes maze. *Hormones and behavior*, *66*(2), 298–308. <https://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2014.06.006>
- Lucon-Xiccato, T., & Bisazza, A. (2014). Discrimination reversal learning reveals greater female behavioural flexibility in guppies. *Biology Letters*, *10*(6), 20140206. <https://doi.org/10.1098/rsbl.2014.0206>
- Ma, J., Duan, Y., Qin, Z., Wang, J., Liu, W., Xu, M., Zhou, S., & Cao, X. (2015). Overexpression of α CaMKII impairs behavioral flexibility and NMDAR-dependent

- long-term depression in the medial prefrontal cortex. *Neuroscience*, 310, 528–540.
<https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2015.09.051>
- Mendelson, S. D., & Gorzalka, B. B. (1990). Sex differences in the effects of 1-(m-trifluoromethylphenyl) piperazine and 1-(m-chlorophenyl) piperazine on copulatory behavior in the rat. *Neuropharmacology*, 29(8), 783–786.
[https://doi.org/10.1016/0028-3908\(90\)90133-c](https://doi.org/10.1016/0028-3908(90)90133-c)
- Meneses, A.; Hong, Enrique. (1997). Role of 5-HT_{1B}, 5-HT_{1A} and 5-HT_{2C} receptors in learning. *Behavioral Brain Research*, 87(1), 105-110.
[https://doi.org/10.1016/S0166-4328\(96\)02266-8](https://doi.org/10.1016/S0166-4328(96)02266-8)
- Meert, T. F., Melis, W., Aerts, N., & Clincke, G. (1997). Antagonism of meta-chlorophenylpiperazine-induced inhibition of exploratory activity in an emergence procedure, the open field test, in rats. *Behavioural pharmacology*, 8(4), 353–363. <https://doi.org/10.1097/00008877-199708000-00008>
- Moore, R. Y., Halaris, A. E., & Jones, B. E. (1978). Serotonin neurons of the midbrain raphe: ascending projections. *The Journal of comparative neurology*, 180(3), 417–438.
<https://doi.org/10.1002/cne.901800302>
- Mohammadi-Farani, A., Haghghi, A., & Ghazvineh, M. (2015). Effects of long term administration of testosterone and estradiol on spatial memory in rats. *Research in pharmaceutical sciences*, 10(5), 407–418.
- Mohammad-Zadeh, L. F., Moses, L., & Gwaltney-Brant, S. M. (2008). Serotonin: a review. *Journal of veterinary pharmacology and therapeutics*, 31(3), 187–199.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2885.2008.00944.x>
- Monaikul, S., Eubig, P., Floresco, S., & Schantz, S. (2017). Strategy Set-Shifting and Response Inhibition in Adult Rats Exposed to an Environmental Polychlorinated

- Biphenyl Mixture during Adolescence. *Neurotoxicology and teratology*, 63, 14–23.
<https://doi.org/10.1016/j.ntt.2017.08.002>
- Murray, E. A., O’Doherty, J. P., & Schoenbaum, G. (2007). What We Know and Do Not Know about the Functions of the Orbitofrontal Cortex after 20 Years of Cross-Species Studies. *The Journal of Neuroscience*, 27(31), 8166–8169.
<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1556-07.2007>
- Nacca, A., Guiso, G., Fracasso, C., Cervo, L., & Caccia, S. (1998). Brain-to-blood partition and in vivo inhibition of 5-hydroxytryptamine reuptake and quipazine-mediated behaviour of nefazodone and its main active metabolites in rodents. *British journal of pharmacology*, 125(7), 1617–1623. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0702251>
- Nakayama, H., Ibañez-Tallon, I., & Heintz, N. (2018). Cell-Type-Specific Contributions of Medial Prefrontal Neurons to Flexible Behaviors. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 38(19), 4490–4504.
<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3537-17.2018>
- Nazareth, A., Killick, R., Dick, A. S., & Pruden, S. M. (2019). Strategy selection versus flexibility: Using eye-trackers to investigate strategy use during mental rotation. *Journal of Experimental Psychology. Learning, Memory, and Cognition*, 45(2), 232–245. <https://doi.org/10.1037/xlm0000574>
- Nardo, M., Casarotto, P. C., Gomes, F. V., & Guimarães, F. S. (2014). Cannabidiol reverses the mCPP-induced increase in marble-burying behavior. *Fundamental & clinical pharmacology*, 28(5), 544–550. <https://doi.org/10.1111/fcp.12051>
- Nonkes, L. J., van de Vondervoort, I. I., de Leeuw, M. J., Wijlaars, L. P., Maes, J. H., & Homberg, J. R. (2012). Serotonin transporter knockout rats show improved strategy

- set-shifting and reduced latent inhibition. *Learning & memory (Cold Spring Harbor, N.Y.)*, *19*(5), 190–193. <https://doi.org/10.1101/lm.025908.112>
- Oh, A., Vidal, J., Taylor, M. J., & Pang, E. W. (2014). Neuromagnetic correlates of intra- and extra-dimensional set-shifting. *Brain and cognition*, *86*, 90–97. <https://doi.org/10.1016/j.bandc.2014.02.006>
- Orsini, C. A., & Setlow, B. (2017). Sex differences in animal models of decision making. *Journal of neuroscience research*, *95*(1-2), 260–269. <https://doi.org/10.1002/jnr.23810>
- Palm Reed, K. M., Cameron, A. Y., & Ameal, V. E. (2018). A Contextual Behavior Science Framework for Understanding How Behavioral Flexibility Relates to Anxiety. *Behavior Modification*, *42*(6), 914–931. <https://doi.org/10.1177/0145445517730830>
- Panitz, M., Deserno, L., Kaminski, E., Villringer, A., Sehm, B., & Schlagenhaut, F. (2022). Anodal tDCS over the medial prefrontal cortex enhances behavioral adaptation after punishments during reversal learning through increased updating of unchosen choice options. *Cerebral Cortex Communications*, *3*(1), tgac006. <https://doi.org/10.1093/texcom/tgac006>
- Park, A. J. (2023). Novelty selectively permits learning-associated plasticity in ventral tegmental-hippocampal-prefrontal circuitry. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, *16*. <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2022.1091082>
- Pettersson, R., Hagsäter, S. M., & Eriksson, E. (2016). Serotonin depletion eliminates sex differences with respect to context-conditioned immobility in rat. *Psychopharmacology*, *233*(8), 1513–1521. <https://doi.org/10.1007/s00213-016-4246-5>
- Philippe, T. J., Bao, L., Koblanski, M. E., & Viau, V. (2022). Sex Differences in Serotonin 5-HT 1A Receptor Responses to Repeated Restraint Stress in Adult Male and Female

- Rats. *The international journal of neuropsychopharmacology*, 25(10), 863–876.
<https://doi.org/10.1093/ijnp/pyac046>
- Piao, C., Deng, X., Wang, X., Yuan, Y., Liu, Z., & Liang, J. (2017). Altered function in medial prefrontal cortex and nucleus accumbens links to stress-induced behavioral inflexibility. *Behavioural Brain Research*, 317, 16–26.
<https://doi.org/10.1016/j.bbr.2016.09.017>
- Pickens, C. L., Saddoris, M. P., Setlow, B., Gallagher, M., Holland, P. C., & Schoenbaum, G. (2003). Different Roles for Orbitofrontal Cortex and Basolateral Amygdala in a Reinforcer Devaluation Task. *The Journal of Neuroscience*, 23(35), 11078–11084.
<https://doi.org/10.1523/jneurosci.23-35-11078.2003>
- Ragozzino, M. E. (2007). The Contribution of the Medial Prefrontal Cortex, Orbitofrontal Cortex, and Dorsomedial Striatum to Behavioral Flexibility. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1121(1), 355–375. <https://doi.org/10.1196/annals.1401.013>
- Reimer, A. E., de Oliveira, A. R., Diniz, J. B., Hoexter, M. Q., Miguel, E. C., Milad, M. R., & Brandão, M. L. (2018). Fear extinction in an obsessive-compulsive disorder animal model: Influence of sex and estrous cycle. *Neuropharmacology*, 131, 104–115.
<https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2017.12.015>
- Robertson, D. W., Bloomquist, W., Wong, D. T., & Cohen, M. L. (1992). mCPP but not TFMPP is an antagonist at cardiac 5HT₃ receptors. *Life sciences*, 50(8), 599–605.
[https://doi.org/10.1016/0024-3205\(92\)90372-v](https://doi.org/10.1016/0024-3205(92)90372-v)
- Rochais, C., Hotte, H., & Pillay, N. (2021). Seasonal variation in reversal learning reveals greater female cognitive flexibility in African striped mice. *Scientific Reports*, 11(1), 20061. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-99619-9>

- Roth B. L. (1994). Multiple serotonin receptors: clinical and experimental aspects. *Annals of clinical psychiatry : official journal of the American Academy of Clinical Psychiatrists*, 6(2), 67–78. <https://doi.org/10.3109/10401239409148985>
- Saito, V. M., & Brandão, M. L. (2016). The light switch-off response as a putative rodent test of innate fear. *Neuroscience*, 334, 160–165. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2016.07.044>
- van Schaik, C. P. (2013). The costs and benefits of flexibility as an expression of behavioural plasticity: A primate perspective. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 368(1618), 20120339. <https://doi.org/10.1098/rstb.2012.0339>
- Scheggia, D., & Papaleo, F. (2016). An Operant Intra-/Extra-dimensional Set-shift Task for Mice. *Journal of visualized experiments:JoVE*, (107), e53503. <https://doi.org/10.3791/53503>
- Schiller, L., Jähkel, M., & Oehler, J. (2006). The influence of sex and social isolation housing on pre- and postsynaptic 5-HT1A receptors. *Brain Research*, 1103(1), 76–87. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2006.05.051>
- Sierra, S., Muchhala, K. H., Jessup, D. K., Contreras, K. M., Shah, U. H., Stevens, D. L., Jimenez, J., Cuno Lavilla, X. K., de la Fuente Revenga, M., Lippold, K. M., Shen, S., Poklis, J. L., Qiao, L. Y., Dewey, W. L., Akbarali, H. I., Damaj, M. I., & González-Maeso, J. (2022). Sex-specific role for serotonin 5-HT2A receptor in modulation of opioid-induced antinociception and reward in mice. *Neuropharmacology*, 209, 108988. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2022.108988>
- da Silva, J. F., Taguchi, L. M., Leite, E. da S., & de Oliveira, A. R. (2022). Meta-Chlorophenylpiperazine-Induced Behavioral Changes in Obsessive-Compulsive

- Disorder Research: A Systematic Review of Rodent Studies. *Neuroscience*, 507, 125–138. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2022.10.025>
- Silverstone, P. H., Rue, J. E., Franklin, M., Hallis, K., Camplin, G., Laver, D., & Cowen, P. J. (1994). The effects of administration of mCPP on psychological, cognitive, cardiovascular, hormonal and MHPG measurements in human volunteers. *International Clinical Psychopharmacology*, 9(3), 173–178. <https://doi.org/10.1097/00004850-199409000-00005>
- Stark, J. A., Davies, K. E., Williams, S. R., & Luckman, S. M. (2006). Functional magnetic resonance imaging and c-Fos mapping in rats following an anorectic dose of *m*-chlorophenylpiperazine. *NeuroImage*, 31(3), 1228–1237. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2006.01.046>
- Stoppiglia, E. L.; da Silva, L. V. B.; & de Oliveira, A. R. (em revisão). Effects of meta-chlorophenylpiperazine (mCPP) on a T-maze acquisition and reversal learning task in male and female rats. *Neurobiology of Learning and Memory*.
- Švob Štrac, D., Pivac, N., & Mück-Šeler, D. (2016). The serotonergic system and cognitive function. *Translational neuroscience*, 7(1), 35–49. <https://doi.org/10.1515/tnsci-2016-0007>
- Tait, D. S., Chase, E. A., & Brown, V. J. (2014). Attentional set-shifting in rodents: a review of behavioural methods and pharmacological results. *Current pharmaceutical design*, 20(31), 5046–5059. <https://doi.org/10.2174/1381612819666131216115802>
- Tait, D. S., Bowman, E. M., Neuwirth, L. S., & Brown, V. J. (2018). Assessment of intradimensional/extradimensional attentional set-shifting in rats. *Neuroscience and biobehavioral reviews*, 89, 72–84. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2018.02.013>

- Tomm, R. J., Seib, D. R., Kachkovski, G. V., Schweitzer, H. R., Tobiansky, D. J., Floresco, S. B., & Soma, K. K. (2022). Androgen synthesis inhibition increases behavioural flexibility and mPFC tyrosine hydroxylase in gonadectomized male rats. *Journal of Neuroendocrinology*, *34*(6), e13128. <https://doi.org/10.1111/jne.13128>
- Thomas, J. M., Dourish, C. T., Tomlinson, J. W., Hassan-Smith, Z., & Higgs, S. (2014). Effects of the 5-HT_{2C} receptor agonist meta-chlorophenylpiperazine on appetite, food intake and emotional processing in healthy volunteers. *Psychopharmacology*, *231*(12), 2449–2459. <https://doi.org/10.1007/s00213-013-3409-x>
- Thomas, J. M., Dourish, C. T., Tomlinson, J., Hassan-Smith, Z., Hansen, P. C., & Higgs, S. (2018). The 5-HT_{2C} receptor agonist meta-chlorophenylpiperazine (mCPP) reduces palatable food consumption and BOLD fMRI responses to food images in healthy female volunteers. *Psychopharmacology*, *235*(1), 257–267. <https://doi.org/10.1007/s00213-017-4764-9>
- Thorpe, S. J., Rolls, E. T., & Maddison, S. (1983). The orbitofrontal cortex: neuronal activity in the behaving monkey. *Experimental brain research*, *49*(1), 93–115. <https://doi.org/10.1007/BF00235545>
- Tsaltas, E., Kontis, D., Chrysikakou, S., Giannou, H., Biba, A., Pallidi, S., Christodoulou, A., Maillis, A., & Rabavilas, A. (2005). Reinforced Spatial Alternation as an Animal Model of Obsessive-Compulsive Disorder (OCD): Investigation of 5-HT_{2C} and 5-HT_{1D} Receptor Involvement in OCD Pathophysiology. *Biological Psychiatry*, *57*(10), 1176–1185. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2005.02.020>
- Toelch, U., Bruce, M. J., Meeus, M. T., & Reader, S. M. (2011). Social performance cues induce behavioral flexibility in humans. *Frontiers in psychology*, *2*, 160. <https://doi.org/10.3389/fpsyg.2011.00160>

- Uddin L. Q. (2021). Cognitive and behavioural flexibility: neural mechanisms and clinical considerations. *Nature reviews. Neuroscience*, 22(3), 167–179.
<https://doi.org/10.1038/s41583-021-00428-w>
- Ulrichsen, J., Partilla, J. S., & Dax, E. M. (1992). Long-term administration of m-chlorophenylpiperazine (mCPP) to rats induces changes in serotonin receptor binding, dopamine levels and locomotor activity without altering prolactin and corticosterone secretion. *Psychopharmacology*, 107(2–3), 229–235.
<https://doi.org/10.1007/BF02245142>
- Walker, E. A., Kohut, S. J., Hass, R. W., Brown, E. K., Prabandham, A., & Lefever, T. (2005). Selective and nonselective serotonin antagonists block the aversive stimulus properties of MK212 and m-chlorophenylpiperazine (mCPP) in mice. *Neuropharmacology*, 49(8), 1210–1219.
<https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2005.07.015>
- Wallin, K. G., & Wood, R. I. (2015). Anabolic-androgenic steroids impair set-shifting and reversal learning in male rats. *European Neuropsychopharmacology: The Journal of the European College of Neuropsychopharmacology*, 25(4), 583–590.
<https://doi.org/10.1016/j.euroneuro.2015.01.002>
- Warren, S. G., & Juraska, J. M. (1997). Spatial and nonspatial learning across the rat estrous cycle. *Behavioral Neuroscience*, 111(2), 259–266.
<https://doi.org/10.1037/0735-7044.111.2.259>
- Wright, T. F., Eberhard, J. R., Hobson, E. A., Avery, M. L., & Russello, M. A. (2010). Behavioral flexibility and species invasions: The adaptive flexibility hypothesis. *Ethology Ecology & Evolution*, 22(4), 393–404.
<https://doi.org/10.1080/03949370.2010.505580>

- Wright, F. L., & Rodgers, R. J. (2014). On the behavioural specificity of hypophagia induced in male rats by mCPP, naltrexone, and their combination. *Psychopharmacology*, *231*(4), 787–800. <https://doi.org/10.1007/s00213-013-3295-2>
- Yoest, K. E., Cummings, J. A., & Becker, J. B. (2019). Ovarian Hormones Mediate Changes in Adaptive Choice and Motivation in Female Rats. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, *13*. <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2019.00250>
- Yamauchi, M., Tatebayashi, T., Nagase, K., Kojima, M., & Imanishi, T. (2004). Chronic treatment with fluvoxamine desensitizes 5-HT_{2C} receptor-mediated hypolocomotion in rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, *78*(4), 683–689. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2004.05.003>
- Yohn, C. N., Gergues, M. M., & Samuels, B. A. (2017). The role of 5-HT receptors in depression. *Molecular brain*, *10*(1), 28. <https://doi.org/10.1186/s13041-017-0306-y>
- Yoshinaga, K., Hawkins, R. A., & Stocker, J. F. (1969). Estrogen Secretion by the Rat Ovary in Vivo During the Estrous Cycle and Pregnancy. *Endocrinology*, *85*(1), 103–112. <https://doi.org/10.1210/endo-85-1-103>
- Zafar, M., Afroz, R., Nawaz, S., Salman, T., & Haleem, D. J. (2019). Brain Serotonin-2C Receptor Regulation in Schizophrenia Rat Model. *Asian Journal of Emerging Research*, *1*(2), 91-97. <https://doi.org/10.3923/AJERPK.2019.91.97>
- Zhang, Q., Li, M., Wang, Z., & Chen, F. (2023). Sex differences in learning and performing the Go/NoGo tasks. *Biology of sex differences*, *14*(1), 25. <https://doi.org/10.1186/s13293-023-00504-z>
- Zohar, J., & Insel, T. R. (1987). Obsessive-compulsive disorder: Psychobiological approaches to diagnosis, treatment, and pathophysiology. *Biological Psychiatry*, *22*(6), 667–687. [https://doi.org/10.1016/0006-3223\(87\)90199-5](https://doi.org/10.1016/0006-3223(87)90199-5)

APÊNDICE A – Análise das sessões de treino

Com o objetivo de verificar se o protocolo proposto funcionou conforme esperado, isto é, se os animais aprenderam as regras da tarefa anteriormente ao início da primeira sessão de teste, foram realizadas análises estatísticas para as sessões de treino. Os gráficos apresentados a seguir, referentes às variáveis acurácia, tempo de reação e tempo total para completar a sessão, apontam melhora significativa na última sessão de treino em comparação à primeira, tanto para machos quanto para fêmeas, bem como para o conjunto total da amostra.

A Figura A1 ilustra os efeitos do treino sobre a acurácia na tarefa de deslocamento de regras. A análise por GLMM (distribuição binomial negativa, função de ligação logit), incluindo sessão como efeito fixo e animal como efeito aleatório, revelou efeito significativo do treino nas comparações planejadas entre primeira e última sessões. Observou-se aumento da acurácia na sessão de treino 5 em relação à sessão de treino 1 para o total da amostra (OR = 1,83, $p < 0,001$), para os machos (OR = 1,92, $p < 0,001$) e para as fêmeas (OR = 1,75, $p < 0,001$).

A Figura A2 ilustra os efeitos do treino sobre o tempo de reação, com a análise por GLMM (distribuição Gamma, função de ligação log) indicando efeito significativo entre a primeira e a quinta sessões. Houve redução do tempo de reação na sessão 5 em relação à sessão 1 para o total da amostra ($\beta = -0,252 \pm 0,006$; $p < 0,001$), bem como para machos ($\beta = -0,270 \pm 0,008$; $p < 0,001$) e fêmeas ($\beta = -0,234 \pm 0,008$; $p < 0,001$).

A Figura A3 apresenta os efeitos do treino sobre o tempo total para completar a sessão, com GLMM (distribuição Gamma, função de ligação log) também revelando efeito significativo entre a primeira e a quinta sessões. Verificou-se diminuição do tempo total na sessão 5 em comparação à sessão 1 para o total da amostra (razão = 0,549; diminuição de 45,1%; $p < 0,001$), para machos (razão = 0,480; diminuição de 52,0%; $p < 0,001$) e para

fêmeas (razão = 0,629; diminuição de 37,1%; $p < 0,001$), indicando melhora no desempenho ao longo do treino.

Distribuição da Acurácia por Sessões de Treino

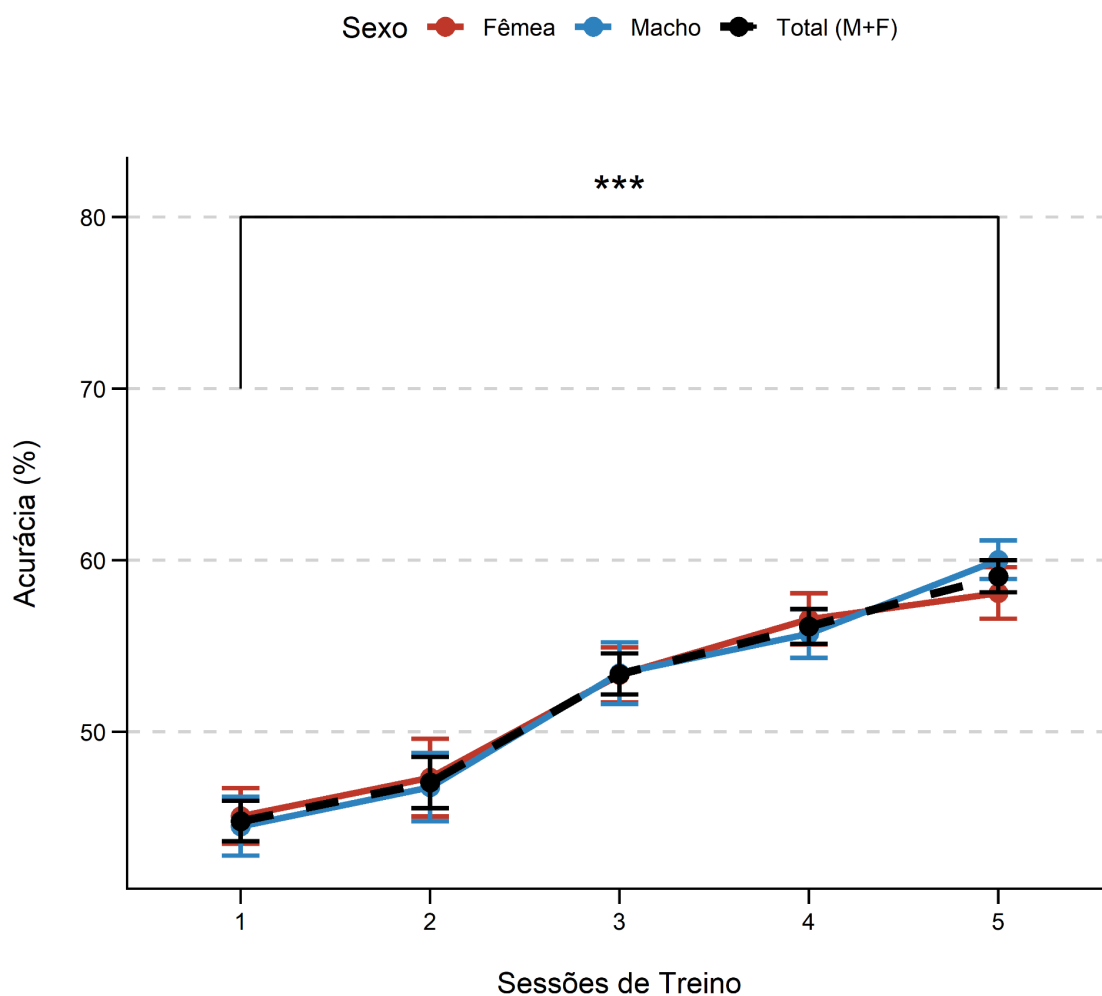


Figura A1. Distribuição da acurácia por sexo e sessão. A acurácia foi calculada como $100 \times (\text{número de respostas corretas} / \text{número total de tentativas})$. Cada ponto representa a média de acurácia de cada respectivo grupo de animais em uma sessão individual. Machos ($n = n \text{ animais} / n \text{ sessões}$): Treino 1 ($n = 12/48$); Treino 2 ($n = 12/44$); Treino 3 ($n = 12/45$); Treino 4 ($n = 12/48$); Treino 5 ($n = 12/48$); Fêmeas: Treino 1 ($n = 12/47$); Treino 2 ($n = 12/42$); Treino 3 ($n = 12/47$); Treino 4 ($n = 12/48$); Treino 5 ($n = 12/48$). GLMM com distribuição binomial negativa e função de ligação logit. *** $p < 0,0001$ comparando as sessões 1 e 5 para machos, fêmeas e total.

Tempo de Reação por Sessões de Treino

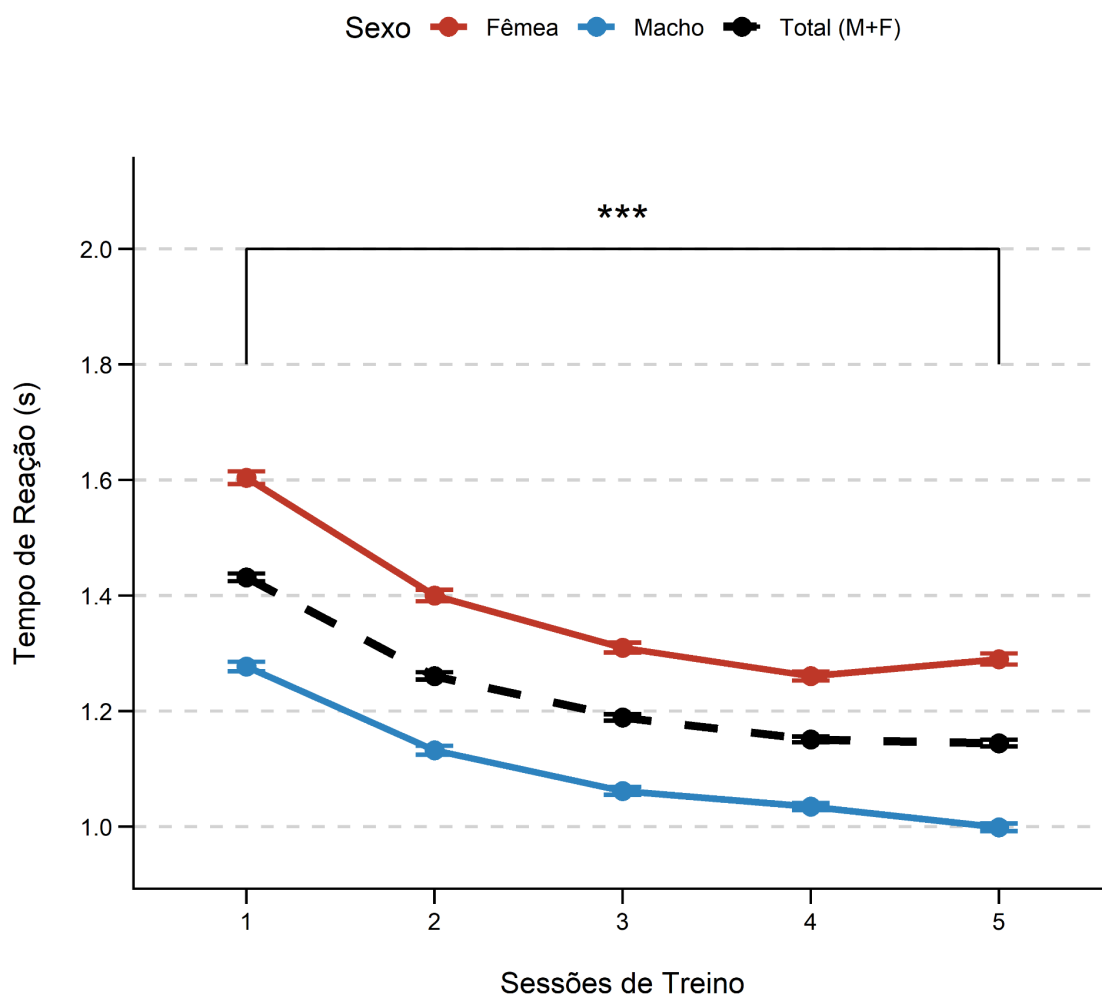


Figura A2. Distribuição do tempo de reação por sexo e sessão. Cada ponto representa a média de tempos de reação de cada respectivo grupo de animais em uma sessão individual. Machos (n = n animais/n sessões): Treino 1 (n = 12/13189); Treino 2 (n = 12/11145); Treino 3 (n = 12/9800); Treino 4 (n = 12/10266); Treino 5 (n = 12/9221); Fêmeas: Treino 1 (n = 12/11828); Treino 2 (n = 12/10283); Treino 3 (n = 12/10278); Treino 4 (n = 12/10892); Treino 5 (n = 12/9241). GLMM com distribuição Gamma e função de ligação log. *** p < 0,0001 comparando as sessões 1 e 5 para machos, fêmeas e total.

Tempo Total por Sessões de Treino

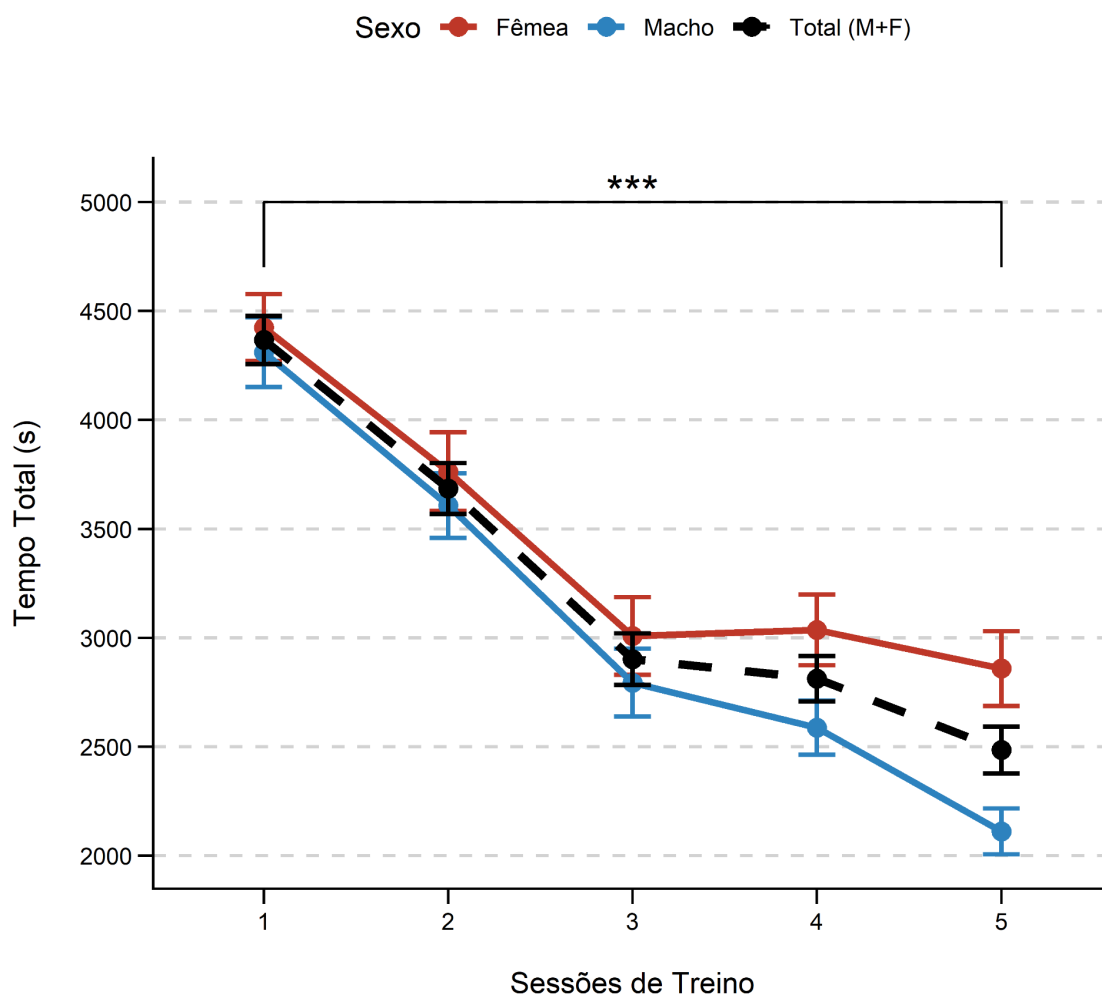


Figura A3. Distribuição do tempo total para finalizar a sessão por sexo e sessão. Cada ponto representa a média do tempo acumulado de cada respectivo grupo de animais em uma sessão individual. Machos (n = n animais/n sessões): Treino 1 (n = 12/48); Treino 2 (n = 12/48); Treino 3 (n = 12/47); Treino 4 (n = 12/48); Treino 5 (n = 12/48); Fêmeas: Treino 1 (n = 12/47); Treino 2 (n = 12/48); Treino 3 (n = 12/47); Treino 4 (n = 12/48); Treino 5 (n = 12/48). GLMM com distribuição Gamma e função de ligação log. *** p < 0,0001 comparando as sessões 1 e 5 para machos, fêmeas e total.

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



Universidade Federal de São Carlos

Comissão de Ética no
Uso de Animais

CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "Efeitos da meta-clorofenilpiperazina (mCPP) na flexibilidade comportamental avaliada na tarefa de deslocamento de regras em ratos machos e fêmeas", protocolada sob o CEUA nº 8756050624 (ID 002053), sob a responsabilidade de **Amanda Ribeiro de Oliveira e equipe; Leonam Vinicius Barreto da Silva** - 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 18/06/2024.

We certify that the proposal "Effects of meta-chlorophenylpiperazine (mCPP) on behavioral flexibility assessed in the set-shifting task in male and female rats", utilizing 96 Heterogenics rats (48 males and 48 females), protocol number CEUA 8756050624 (ID 002053), under the responsibility of **Amanda Ribeiro de Oliveira and team; Leonam Vinicius Barreto da Silva** - 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 06/18/2024.

Finalidade da Proposta: **Pesquisa**

Vigência da Proposta: de **07/2024** a **07/2026** Área: **Psicologia**

Origem:	Biotério Central da UFSCar	sexo:	Fêmeas	idade:	60 a 75 dias	Quantidade:	48
Espécie:	Ratos heterogênicos			Peso:	220 a 280 g		
Linhagem:	Wistar						
Origem:	Biotério Central da UFSCar	sexo:	Machos	idade:	60 a 75 dias	Quantidade:	48
Espécie:	Ratos heterogênicos			Peso:	250 a 300 g		
Linhagem:	Wistar						

São Carlos, 26 de junho de 2024

Prof. Dr. Luiz Fernando Takase
Presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais
Universidade Federal de São Carlos

Profa. Dra. Luciana Thie Seki Dias
Vice-presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais
Universidade Federal de São Carlos

