

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE ENFERMAGEM**

**AVALIAÇÃO DO PAPEL DA NEUROTRANSMISSÃO DE OCITOCINA NA
MODULAÇÃO DA ANSIEDADE INDUZIDA EM CAMUNDONGOS PELO
MODELO DE EMPATIA PARA DOR**

GUSTAVO DIEGO MAGNO

SÃO CARLOS

2021

GUSTAVO DIEGO MAGNO

**AVALIAÇÃO DO PAPEL DA NEUROTRANSMISSÃO DE OCITOCINA NA
MODULAÇÃO DA ANSIEDADE INDUZIDA EM CAMUNDONGOS PELO MODEL
O DE EMPATIA PARA DOR**

**Trabalho de Conclusão de Curso apresentado
como requisito parcial para obtenção do título
de Bacharel em Enfermagem pela
Universidade Federal de São Carlos.**

**Orientadora: Profa. Dra. Azair Liane Matos
do Canto de Souza.**

São Carlos

2021

Avaliação do papel da neurotransmissão de ocitocina na modulação da ansiedade induzida em camundongos pelo modelo de empatia para dor.

Gustavo Diego Magno

Trabalho de conclusão de curso apresentado como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Enfermagem pela Universidade Federal de São Carlos.

Aprovado em: _____ / _____ / _____

BANCA EXAMINADORA

Orientadora

Profa. Dra. Azair Liane Matos do Canto Souza

Membro da Banca

Membro da Banca

RESUMO

O sucesso da interação social é um fator necessário para a sobrevivência humana e depende da capacidade de compreender e experimentar emoções que o outro está sentindo. Alguns estudos observaram o aumento da ansiedade em roedores convivendo com um coespecífico submetido a situação de estresse, o que foi analisado como contágio emocional, isto é, a disseminação de formas de emoção de um indivíduo para outro. Estudos recentes demonstraram que o convívio de camundongos em pares com um coespecífico submetido a dor neuropática aumenta a resposta nociceptiva nos observadores submetidos ao teste de contorções abdominais e nos índices de ansiedade em camundongos expostos ao labirinto em cruz elevado (LCE). Portanto, estes estudos evidenciam a modulação social da dor e da ansiedade. Por outro lado, em roedores induzidos ao autismo foi observado a diminuição de comportamentos pró-sociais e o aumento da ansiedade em comparação ao grupo controle. Usando este modelo, foi observado que a administração de ocitocina produziu aumento de comportamento pró-sociais em camundongos. Diante do exposto, considerando que há trabalhos relacionando a ocitocina ao aumento de comportamentos pró-sociais e efeitos ansiolíticos em roedores, e que roedores expostos ao modelo de empatia para dor apresentaram respostas relacionadas à ansiedade, este estudo teve como objetivo investigar se o antagonismo dos receptores de ocitocina com atosiban pode interferir no aumento da ansiedade induzida pelo convívio com coespecífico submetido a dor crônica. Para isso, camundongos machos, Suíço-albino foram separados em pares durante um protocolo de convivência de 28 dias. Após 14 dias de convívio, um dos animais da dupla foi submetido a cirurgia de constrição do nervo ciático (NC) ou a uma cirurgia sem constrição do nervo (Sham). No 28º dia, o animal que conviveu com seu coespecífico NC ou Sham recebeu injeção de veículo ou atosiban [0,25, 0,5 e 1,0 mg/Kg, intraperitoneal], e após 30 minutos, foi submetido ao teste no LCE por cinco minutos. Para confirmar o convívio com o animal com nocicepção, no 29º dia foi realizado o teste de placa quente nos dois grupos (NC e Sham). Os resultados demonstram que o convívio com coespecíficos em dor crônica produziu hipernocicepção e aumento das respostas relacionadas à ansiedade nos parceiros quando submetidos ao teste no labirinto em cruz elevado. O tratamento sistêmico com as três doses de atosiban, produziu efeito tipo ansiogênico nos camundongos que conviveram com coespecíficos sem dor (Sham), e não reverteu o aumento da ansiedade observado nos camundongos que conviveram com coespecíficos com dor (NC). Sugerimos que os animais que conviveram com parceiro sem dor (sham) possam estar com os níveis de ocitocina normais, em decorrência de ausência do estímulo estressor, facilitando a produção de efeito ansiogênico induzido pelo atosiban. Entretanto, nos animais que conviveram com parceiro com dor (CNC), os níveis de ocitocina provavelmente estavam aumentados em decorrência do estímulo estressor e, portanto, o bloqueio desses receptores com o antagonista, não foi capaz de reverter o efeito ansiogênico induzido pelo modelo. Este estudo contribuiu para demonstrar o envolvimento da neurotransmissão ocitocinérgica na modulação da resposta emocional induzida pelo convívio com o coespecífico com dor crônica e sem dor em camundongos. Entretanto novas pesquisas serão necessárias para elucidar a ação da ocitocina e de seu bloqueio com tratamento crônico, e/ou administração em estruturas do sistema nervoso central envolvidas com a modulação da ansiedade induzida pela empatia para a nocicepção em camundongos.

Palavras-chave: Ocitocina. Empatia. Nocicepção. Ansiedade. Camundongos.

ABSTRACT

The success of social interaction is a necessary factor for human survival and depends on the ability to understand and experience emotions that the other is feeling. Some studies observed an increase in anxiety in rodents living with a conspecific submitted to a stressful situation, which was analyzed as emotional contagion, that is, the dissemination of forms of emotion from one individual to another. Recent studies have shown that the cohabitation of mice in pairs with a conspecific submitted to neuropathic pain increases the nociceptive response in observers submitted to the abdominal writhing test and in anxiety indices in mice exposed to the elevated plus maze (EPM). Therefore, these studies show the social modulation of pain and anxiety. On the other hand, in autism-induced rodents, a decrease in prosocial behaviors and an increase in anxiety were observed compared to the control group. Using this model, it was observed that the administration of oxytocin produced an increase in prosocial behavior in mice. Given the above, considering that there are studies linking oxytocin to increased prosocial behaviors and anxiolytic effects in rodents and that rodents exposed to the empathy model for pain showed anxiety-related responses, this study aimed to investigate whether the antagonism of oxytocin receptors with atosiban may interfere with the increase in anxiety induced by living with a conspecific undergoing chronic pain. For this, male Swiss-albino mice were separated into pairs during a 28-day coexistence protocol. After 14 days of living together, one of the animals in the pair underwent surgery for sciatic nerve constriction (NC) or surgery without nerve constriction (Sham). On the 28th day, the animal that lived with its conspecific NC or Sham received an injection of vehicle or atosiban [0.25, 0.5 and 1.0 mg/kg, intraperitoneally], and after 30 minutes, it was submitted to the test in the EPM for five minutes. To confirm the contact with the animal with nociception, on the 29th day, the hot plate test was performed in both groups (NC and Sham). The results demonstrate that living with conspecifics in chronic pain produced hypernociception and increased anxiety-related responses in partners when submitted to the elevated plus-maze test. Systemic treatment with the three doses of atosiban produced an anxiogenic-like effect in mice that lived with conspecifics without pain (Sham) but did not reverse the increase in anxiety observed in mice that lived with conspecifics with pain (NC). We suggest that the animals that lived with a partner without pain (sham) may have normal oxytocin levels, due to the absence of the stressor stimulus, facilitating the production of the anxiogenic effect induced by atosiban. However, in animals that lived with a partner in pain (NCC), oxytocin levels were probably increased as a result of the stressor stimulus and, therefore, blocking these receptors with the antagonist was not able to reverse the anxiogenic-like effect induced by the model. This study contributed to demonstrating the involvement of oxytocinergic neurotransmission in the modulation of the emotional response induced by living with conspecifics with chronic pain and without pain in mice. However, further research will be needed to elucidate the action of oxytocin and its blockade with chronic treatment, and/or administration in central nervous system structures involved in the modulation of anxiety induced by empathy for nociception in mice.

Keywords: Oxytocin. Empathy. Nociception. Anxiety. Mice.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** - Esquema representativo do período de convívio, cirurgia, injeção e testes no labirinto em cruz elevado (LCE) e placa quente. 12
- Figura 2** – Efeitos do tratamento de salina ou atosiban (0,25; 0,5 e 1,0 mg/Kg) sobre a porcentagem de entradas nos braços abertos avaliada no LCE em camundongos machos em convívio com coespecífico em quadro de dor crônica. 15
- Figura 3** – Efeitos do tratamento de salina ou atosiban (0,25; 0,5 e 1,0 mg/Kg) sobre a porcentagem de tempo gasto nos braços abertos avaliada no LCE em camundongos machos em convívio com coespecífico em quadro de dor crônica..... 16
- Figura 4** – Efeitos do tratamento de salina ou atosiban (0,25; 0,5 e 1,0 mg/Kg) sobre a porcentagem de SAP protegido avaliada no LCE em camundongos machos em convívio com coespecífico em quadro de dor crônica. 17
- Figura 5** – Efeitos do tratamento de salina ou atosiban (0,25; 0,5 e 1,0 mg/Kg) sobre a porcentagem de mergulho protegido avaliada no LCE em camundongos machos em convívio com coespecífico em quadro de dor crônica. 18

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Latência de retirada da pata traseira direita nos animais sham e constrictos avaliados no teste de placa quente no 29º dia após o término do teste da ansiedade induzida pelo convívio com coespecífico em dor crônica em camundongos expostos ao LCE.....	14
Tabela 2. Efeitos da injeção de salina ou atosiban (0,25, 0,5 e 1,0 mg/kg) sobre a modulação da ansiedade induzida pelo convívio com coespecífico em dor crônica em camundongos expostos ao LCE (n=8-11).....	14

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- %EBA** – Porcentagem de entradas nos braços abertos
- %MERGp** – Porcentagem de mergulho protegido
- %SAPP** – Porcentagem de esticar protegido
- %TBA** – Porcentagem de tempo gasto nos braços abertos
- ANOVA** – Análise de variância
- AOT** – Antagonista dos receptores de ocitocina
- BA** – Braço aberto
- BF** – Braços fechado
- CNC** – Grupo que conviveu com parceiro com constrição do nervo ciático
- CS** – Grupo que conviveu com parceiro Sham (sem constrição do nervo ciático)
- EBA** – Entradas nos braços abertos
- EBF** – Entradas nos braços fechados
- i.p.** – Intraperitoneal
- LCE** – Labirinto em cruz elevado
- mg/Kg** – Miligramas/Kilogramas
- mRNA** – Ácido ribonucleico mensageiro
- NC** – Grupo que passou por cirurgia com constrição do nervo ciático
- OT** – Ocitocina
- OTR** – Receptores de ocitocina
- OVTA** – Análogo de ornitina vasotocina
- SAP** – Esticar (Stretched attend postures)
- Sham** – Grupo que passou por cirurgia sem constrição do nervo ciático
- TBA** – Tempo gasto nos braços abertos
- TBF** – Tempo gasto nos braços fechados
- TLev** – Total de levantar
- TMERG** – Total de mergulho
- TSAP** – Total de esticar
- SCPd** – Substância cinzenta periaquedutal dorsal

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	6
2 OBJETIVOS.....	9
2.1 Objetivo Geral.....	9
2.2. Objetivo Específico.....	9
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	10
3.1 Sujeitos.....	10
3.2 Ética.....	10
3.3 Fármacos.....	10
3.4 Constrição Crônica do Nervo Ciático.....	10
3.5 Teste da placa quente.....	11
3.6 Labirinto em cruz elevado (LCE).....	11
3.7 Delineamento experimental.....	12
3.7.1. Avaliação da injeção de atosiban sobre a modulação da ansiedade induzida pelo convívio com coespecífico em quadro de dor crônica em camundongos expostos ao LCE.....	12
3.8 Análise estatística.....	13
4 RESULTADOS.....	14
4.1. Placa Quente - Avaliação da eficácia do procedimento cirúrgico em animais submetidos a constrição do nervo ciático.....	14
4.2. Experimento 1. Efeito do tratamento com salina ou atosiban (0,25, 0,5 e 1,0 mg/Kg, i.p.) sobre a modulação da ansiedade em camundongos, induzida após o convívio com o coespecífico submetido à condição de dor crônica.....	14
5 DISCUSSÃO.....	20
6 CONCLUSÃO.....	23
7 REFERÊNCIAS.....	24
ANEXO 1.....	28

1 INTRODUÇÃO

O sucesso da interação social é um fator necessário para a sobrevivência humana e depende da capacidade de compreender as intenções e emoções do outro. A empatia é um importante fenômeno interpessoal que permite compreender e experimentar emoções que o outro está sentindo (SINGER et al., 2004). Para de Waal (2008), empatia é composta pela capacidade de ser afetado e compartilhar o estado emocional do outro, avaliar as razões do estado do outro e identificar-se com o outro, adotando sua perspectiva.

Segundo Blair (2013), a empatia pode ser dividida em dois processos: empatia cognitiva, que refere o processo de representação das intenções e pensamentos de outros indivíduos, também conhecida como “mentalizing” (FRITH; FRITH, 2006); e empatia emocional, processo que envolve respostas afetivas a exibições emocionais e descrições verbais dos estados emocionais de outros indivíduos.

Alguns aspectos da empatia também estão presentes em outros mamíferos, como o contágio emocional e consolação. O contágio emocional refere-se a um estado emocional em um observador como resultado direto da percepção do estado emocional do sujeito observado, ou seja, a disseminação de formas de emoção de um indivíduo para outro (PRESTON; DE WAAL, 2002). Enquanto a empatia possui um aspecto cognitivo, o contágio emocional é resultado da mimetização de expressões e sentimentos, sendo categorizado como uma forma mais primitiva da empatia (HATFIELD; CACIOPPO; RAPSON, 1993).

As bases biológicas que compõem a empatia se relacionam com o sistema límbico, que inclui o hipotálamo, o giro para-hipocampal, a amígdala e outras áreas interconectadas, como córtex insular anterior e o córtex cingulado anterior, envolvido na avaliação e regulação da emoção, bem como na tomada de decisões. Portanto, abarca processos afetivos, cognitivos e comportamentais (DECETY, 2011).

Alguns estudos demonstram que roedores em convívio com coespecíficos apresentam modulação social de respostas emocionais (BAPTISTA-DE-SOUZA et al., 2015; BARTAL; DECETY; MASON, 2011; SRINIVASAN et al., 2006; UENO et al., 2018; WATANABE, 2011), sendo que a maioria das pesquisas nessa área aborda o contágio do estado de sofrimento. A observação da dor em um camundongo pode afetar as respostas a estímulos dolorosos em seus coespecíficos familiares, aumentando ou reduzindo respostas nociceptivas (LANGFORD et al., 2006).

Em um estudo anterior, ratos que viveram em pares durante 14 dias foram colocados em uma arena, onde um foi confinado em um cilindro transparente e o outro permaneceu

livre. O resultado observado foi que os animais livres libertavam o seu parceiro. Essa resposta foi analisada como comportamento de cessar o sofrimento de seu parceiro ou cessar o seu próprio sofrimento causado pelo estresse da situação (BARTAL; DECETY; MASON, 2011).

Estudos pré-clínicos demonstraram comportamentos relacionados a ansiedade em roedores submetidos a constrição do nervo ciático (ÇIVI et al., 2016; ROESKA et al., 2009; YALCIN; BARTHAS; BARROT, 2014). Outros resultados demonstraram que a situação de dor crônica aumenta os comportamentos relacionados a ansiedade em ratos expostos ao labirinto em cruz elevado (PARENT et al., 2012).

Levando em consideração informações prévias da literatura, nosso grupo de pesquisa desenvolveu um modelo para o estudo de empatia em camundongos. Assim, demonstramos que o convívio de camundongos em pares durante 14 dias, com um coespecífico submetido a dor neuropática por constrição do nervo ciático, aumenta a resposta nociceptiva nos observadores submetidos ao teste de contorções abdominais (BAPTISTA-DE-SOUZA et al., 2022; BENASSI-CEZAR et al., 2021; TAVARES et al., 2021; ZANIBONI et al., 2018). Diante das respostas relacionadas a ansiedade e de hiperalgesia em roedores convivendo com coespecífico em situação de sofrimento no modelo de empatia, infere-se que roedores, animais sociais, também apresentam um aspecto do comportamento empático.

A exposição crônica a estressores, como a dor crônica, está associada à manifestação de transtornos de ansiedade e depressão maior (CHROUSOS, 2009; KESSLER, 1997). O medo é uma consequência da exposição a estímulos aversivos e desencadeia respostas de esquiva e estado de alerta. Quando o estímulo aversivo cessa, a tendência é cessar o estado de alerta. Por outro lado, transtornos de ansiedade podem ser caracterizados por um estado de alerta aumentado ou desproporcional a um perigo iminente ou à expectativa de um perigo futuro (LENT, 2010).

Em alguns transtornos mentais, como esquizofrenia e autismo, é observado a falta de motivação social e são, frequentemente, caracterizados pela empatia prejudicada. Em roedores induzidos ao autismo observa-se a diminuição de comportamentos pro-sociais e o aumento da ansiedade em comparação ao grupo controle (BAUMAN; SCHUMANN, 2018; JAVITT, 2000). Por outro lado, estudos onde foi realizada a administração sistêmica de ocitocina em camundongos submetidos ao modelo de autismo, mostraram aumento significativo de comportamentos pró-sociais induzidos pela ocitocina (MOY et al., 2019; TENG et al., 2013).

A ocitocina é um neuropeptídeo sintetizado principalmente nos neurônios magnocelulares dos núcleos paraventricular e supra-óptico do hipotálamo, possui um único receptor, tem estrutura muito similar à vasopressina e atua nas contrações uterinas para o

parto e na ejeção do leite materno. Dois antagonistas do receptor de ocitocina conhecidos são atosiban e análogo de ornitina vasotocina (OVTA), sendo que atosibana é usada clinicamente para retardar o trabalho de parto prematuro (ZINGG; LAPORTE, 2003).

Estudos anteriores já haviam demonstrado que a ocitocina está vinculada com comportamentos pró-sociais em humanos e roedores (HURLEMANN et al., 2010; LEE et al., 2009). Outros trabalhos também mostraram que a ocitocina interfere com as respostas de ansiedade em roedores, produzindo efeito ansiolítico (BALE et al., 2001; BOWEN et al., 2011; RING et al., 2006). Bale e colaboradores (2001) observaram diminuição do comportamento relacionado a ansiedade em ratos fêmeas que receberam ocitocina intra-amígdala e foram expostas ao teste do LCE e campo aberto. Bowen e colaboradores (2011) observaram o aumento do comportamento pró-social em ratos que receberam ocitocina via intraperitoneal e foram expostos ao teste de interação social.

Diante do exposto, considerando que há trabalhos relacionando a ocitocina a aumento dos comportamentos pró-sociais e efeitos ansiolíticos em roedores e que roedores expostos ao modelo de empatia para dor apresentaram respostas relacionadas à ansiedade, consideramos relevante investigar se o bloqueio dos receptores de ocitocina pode interferir no aumento da ansiedade induzida pelo convívio com coespecífico submetido a dor crônica.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Investigar o papel da neurotransmissão de ocitocina na modulação da ansiedade induzida pelo convívio com coespecífico em quadro de dor crônica por meio da administração sistêmica de atosiban em camundongos.

2.2. Objetivo Específico

Experimento 1: Avaliar o efeito do tratamento sistêmico com atosiban nas doses de 0,25, 0,5 e 1,0 mg/kg (i.p.) ou salina, sobre a modulação da ansiedade induzida pelo convívio com coespecífico em quadro de dor crônica em camundongos expostos ao LCE.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Sujeitos

Foram utilizados camundongos machos, da linhagem suíço-albino (9-12 por grupo) com 3 semanas de idade, provenientes do biotério central da Universidade Federal de São Carlos - UFSCar. Estes animais foram alojados em caixas viveiro (30 x 19 x 13cm, 2 animais por caixa), mantidos em condições controladas de temperatura (24 ± 1 °C), e luz (ciclo claro/escuro de 12/12 horas, luzes acesas às 7:00 horas e apagadas às 19:00 horas), com livre acesso ao alimento e água, exceto durante as breves sessões de teste.

3.2 Ética

O projeto foi submetido à Comissão de Ética em Experimentação Animal da Universidade Federal de São Carlos - CEUA/UFSCar, sob protocolo CEUA N° 9094160919 (Anexo 1). Todos os procedimentos experimentais seguiram as normas e preceitos especificados pela diretriz brasileira para o cuidado e a utilização de animais para fins científicos e didáticos, elaborada pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal – CONCEA.

3.3 Fármacos

As drogas utilizadas foram: acetato de atosiban, antagonista do receptor de ocitocina, nas doses de 0,25, 0,5 e 1,0 mg/kg, intraperitoneal (i.p.), dissolvido em salina; cloridrato de cetamina (100 mg/kg, i.p., anestésico; Syntec, Brasil), xilazina (10 mg/Kg, i.p., relaxante muscular; Vetbrands, Brasil) e ceftriaxona (4 mg/kg, i.p., antibiótico).

3.4 Constrição Crônica do Nervo Ciático

Para reproduzir o modelo de dor crônica, foi utilizado o método proposto por Bennett & Xie (1988), e posteriormente modificado para uso com camundongos (SOMMER; SCHAFERS, 1998). Após anestesia com cetamina e xilazina (100 mg/kg e 10 mg/kg, i.p., respectivamente), os animais foram submetidos ao procedimento que consiste na secção da fásia entre o glúteo e bíceps femoral e a exposição do nervo ciático direito próximo a sua trifurcação. O tecido ao redor do nervo foi cuidadosamente seccionado a uma distância de

aproximadamente 8 mm e, posteriormente, a compressão do nervo foi realizada por meio de três ligaduras com fio estéril, não inflamatório e não absorvível, mononylon 6.0 (grupo constrição do nervo ciático, CNC). O outro grupo foi submetido a um procedimento similar, não havendo a constrição do nervo (grupo Sham). Considerando que esse modelo é um dos modelos de indução da dor crônica, Nitanda e colaboradores (2005) demonstraram que os comportamentos relacionados à dor aumentam gradualmente até um pico alcançado por volta do 10º dia após a cirurgia de constrição do nervo ciático.

3.5 Teste da placa quente

O teste de placa quente é caracterizado pelo registro do tempo em que os animais permanecem sobre uma chapa metálica aquecida a 52°C (LIU et al., 2002) até reagirem ao estímulo térmico, avaliado pelo tempo de latência para retirada ou lambida da pata traseira direita, pata em que foi realizada a constrição (CNC) ou não (Sham). O tempo máximo que o animal permaneceu sobre a placa foi 30 segundos, para evitar lesão nas patas (KURAISHI et al., 1983)

3.6 Labirinto em cruz elevado (LCE)

O aparato experimental consiste em dois braços abertos (30 x 5 x 0,25 cm) unidos ortogonalmente a dois braços fechados com paredes transparentes (30 x 5 x 15 cm), elevados a 38,5cm do solo por um suporte de madeira (LISTER, 1987). Os experimentos foram conduzidos durante a fase clara do ciclo de luz e foram gravados por meio de um sistema de câmera conectada a um computador localizado na sala adjacente a sala de testes. A avaliação dos parâmetros comportamentais foi realizada a partir da observação das gravações, acompanhada do uso de um software de análise etológica X-Plo-Rat 3.0 (GARCIA; CARDENAS; MORATO, 2005).

Para análise comportamental foram avaliadas: a frequência total de entradas nos braços abertos e fechados (a entrada em um braço é definida pelo cruzamento com todas as quatro patas para dentro do braço), a porcentagem de entrada nos braços abertos $[(\text{aberto}/\text{total}) \times 100]$ e de tempo gasto no braço aberto; os tempos de permanência nos braços fechados e na parte central do labirinto $[(\text{tempo}/300) \times 100]$ (LISTER, 1987). Outros parâmetros comportamentais foram avaliados como: as frequências de mergulhar (movimento exploratório com a cabeça/ombros para fora dos braços abertos) e esticar (stretched attend - SAP: postura exploratória caracterizada pelo corpo do animal estendido para frente, depois

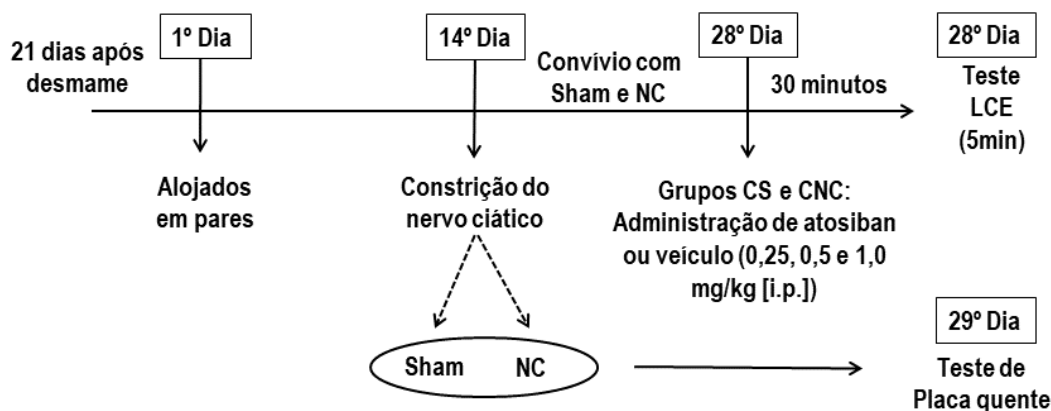
retrai à posição original sem locomoção efetiva, resposta associada à avaliação de risco) e imobilidade. Os braços fechados e o centro são áreas consideradas protegidas e braços abertos áreas desprotegidas do labirinto (CRUZ; FREI; GRAEFF, 1994; RODGERS; JOHNSON, 1995).

3.7 Delineamento experimental

3.7.1. Avaliação da injeção de atosiban sobre a modulação da ansiedade induzida pelo convívio com coespecífico em quadro de dor crônica em camundongos expostos ao LCE

Após 21 dias do desmame os animais foram alojados em duplas para a realização do protocolo experimental de 29 dias. No 14º dia um dos animais da dupla foi submetido ao procedimento de cirurgia de constrição do nervo ciático (NC) ou não (Sham). Após a cirurgia, o camundongo voltou para caixa de convivência com seu respectivo coespecífico. No 28º dia de convivência, os animais que conviveram com Sham (grupo CS) e com nervo constrito (grupo CNC) receberam administração de salina ou atosiban nas doses de 0,25, 0,5 e 1,0 mg/kg (i.p.), e após 30 minutos foram submetidos individualmente ao LCE para avaliação comportamental, por cinco minutos. Os animais não expostos ao LCE, Sham e NC foram expostos ao teste de placa quente no 29º dia, conforme o procedimento apresentado na Figura 1.

Figura 1 - Esquema representativo do período de convívio, cirurgia, injeção e testes no LCE e placa quente.



Fonte: Elaboração dos autores.

3.8 Análise estatística

Os resultados do experimento foram analisados pela ANOVA de duas vias (Fator 1: convívio; e Fator 2: tratamento). Quando os valores de F foram significativos, foi realizado o teste de comparações múltiplas de Duncan.

Os resultados dos grupos Sham e constrictos expostos a Placa quente, foram analisados pelo Teste *t* de Student.

Os valores de P menor ou igual a 0,05 foram considerados como significativos.

4 RESULTADOS

4.1. Placa Quente - Avaliação da eficácia do procedimento cirúrgico em animais submetidos a constrição do nervo ciático.

O teste t de Student revelou diminuição da latência de retirada da pata traseira direita ao estímulo térmico nos animais constritos [$t_{(49)} = 5,78$, $p < 0,001$], comparados aos animais sham, confirmando a hipernocicepção induzida pela cirurgia de constrição do nervo ciático (Tabela 1).

Tabela 1. Latência de retirada da pata traseira direita nos animais sham e constritos avaliados no teste de placa quente no 28° dia após o término do teste da ansiedade induzida pelo convívio com coespecífico em dor crônica em camundongos expostos ao LCE.

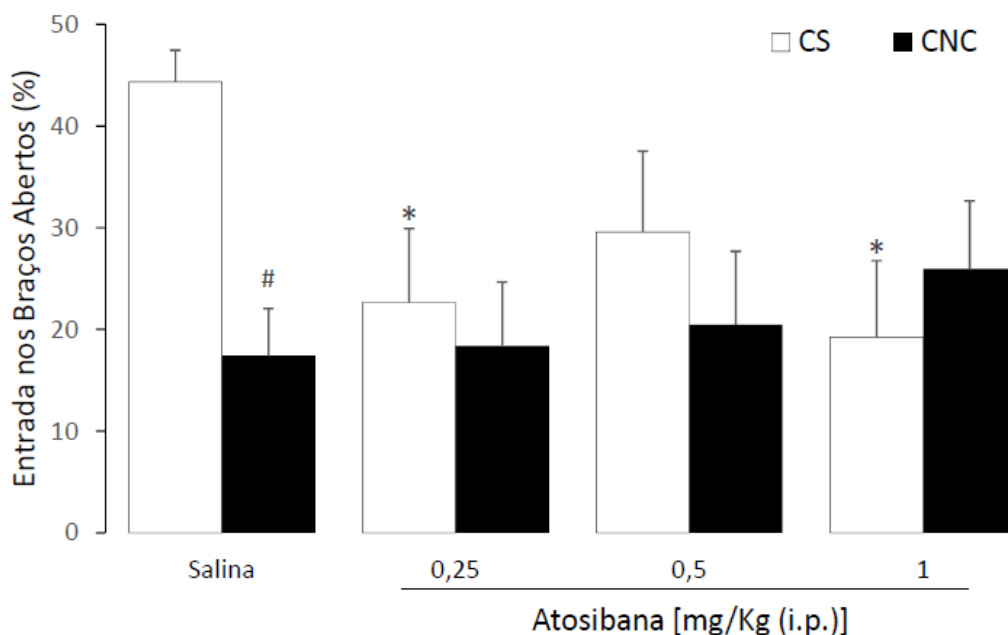
Grupo experimental	Latência de retirada da pata (s)	
	Sham	Constrito
Experimento 1	15,30 ± 0,60	10,10 ± 0,65*

Os valores representam a média ± erro padrão da média. * $p < 0,05$ comparado ao grupo controle (Sham). Constritos = camundongos com constrição no nervo ciático, Sham = camundongos sem constrição do nervo ciático.

4.2. Experimento 1. Efeito do tratamento com salina ou atosiban (0,25, 0,5 e 1,0 mg/Kg, i.p.) sobre a modulação da ansiedade em camundongos, induzida após o convívio com o coespecífico submetido à condição de dor crônica.

Na Figura 2, a porcentagem de entradas nos braços abertos [%EBA - a ANOVA de duas vias (convívio x tratamento) mostrou ausência de efeito significativo para a condição ($F_{1,65}=3,14$, $p > 0,05$), tratamento ($F_{3,65}=0,87$; $p > 0,05$), e para interação entre convívio e tratamento ($F_{3,65}= 2,11$; $p > 0,05$). Entretanto, análises posteriores feitas pelo teste de Duncan revelaram que os animais que conviveram com os parceiros constritos que receberam salina apresentaram diminuição na %EBA quando comparados ao respectivo sham (CS). O teste post hoc revelou que as três doses de atosiban diminuíram a %EBA nos animais que conviveram com o coespecífico sham, quando comparados ao respectivo CS/veículo. Nenhuma das doses de atosiban interferiu com a %EBA do LCE nos animais que conviveram com coespecíficos constritos (CNC)] (Fig. 2).

Figura 2 – Efeitos do tratamento de salina ou atosiban (0,25; 0,5 e 1,0 mg/Kg) sobre a porcentagem de entradas nos braços abertos avaliada no LCE em camundongos machos em convívio com coespecífico em quadro de dor crônica.

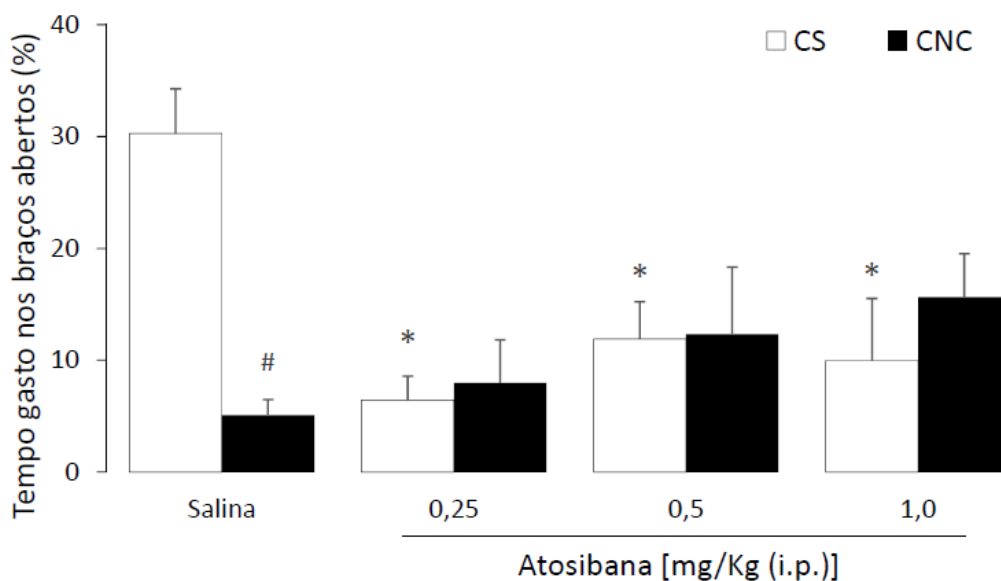


Os dados representam média e \pm erro padrão da média (n= 8-11). [#]p<0,05 comparado com respectivo coespecífico controle (CS); *p<0,05 comparado com respectivo grupo CS-salina.

Fonte: Elaboração dos autores.

Para a porcentagem de tempo gasto nos braços abertos [%TBA - a ANOVA de duas vias (convívio x tratamento) mostrou ausência de efeito significativo para a condição ($F_{1,65}=2,42$, $p>0,05$), e efeito significativo para o tratamento ($F_{3,65}=2,29$; $p,0,05$), e para interação entre convívio e tratamento ($F_{3,65}= 6,10$; $p<0,05$]. O teste de Duncan revelou que os animais que conviveram com os parceiros constrictos tratados com salina apresentaram diminuição na %TBA quando comparados ao respectivo sham (CS). O teste post hoc também revelou que as três doses de atosiban diminuiram a %TBA nos animais que conviveram com o coespecífico, quando comparados ao respectivo CS/salina. Nenhuma das doses de atosiban interferiu com a %TBA do LCE nos animais que conviveram com coespecíficos constrictos (CNC)] (Fig. 3).

Figura 3 – Efeitos do tratamento de salina ou atosiban (0,25; 0,5 e 1,0 mg/Kg) sobre a porcentagem de tempo gasto nos braços abertos avaliada no LCE em camundongos machos em convívio com coespecífico em quadro de dor crônica.

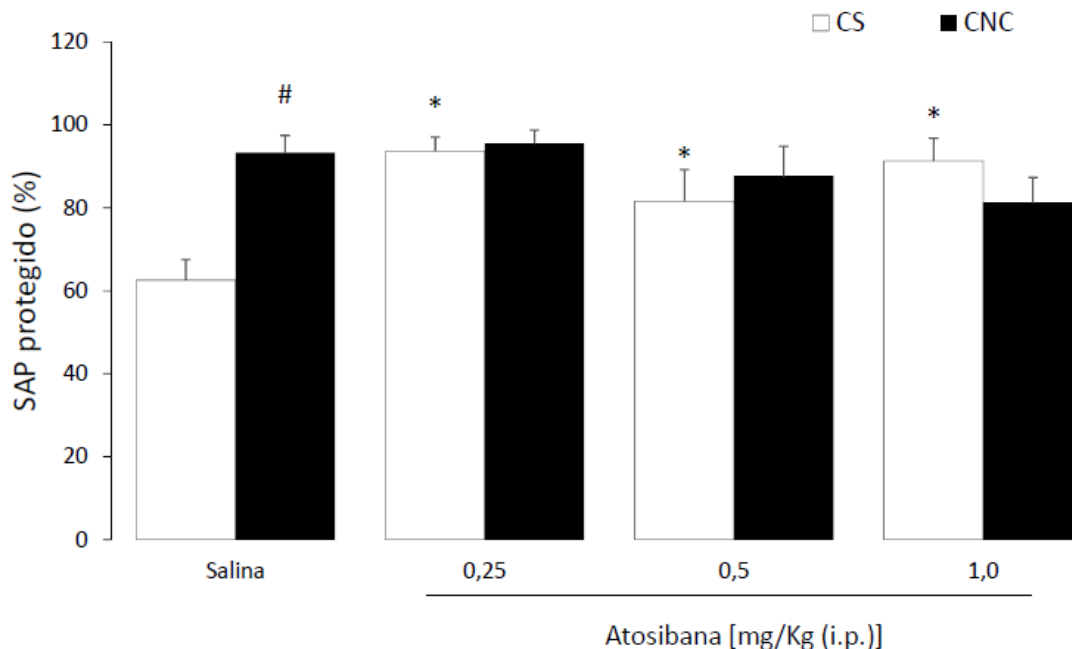


Os dados representam média e \pm erro padrão da média (n= 8-11). #p<0,05 comparado com respectivo coespecífico controle (CS); *p<0,05 comparado com respectivo grupo CS-salina.

Fonte: Elaboração dos autores.

Para a porcentagem de esticar protegido [%SAPp - a ANOVA de duas vias (convívio x tratamento) mostrou ausência de efeito significativo para a condição ($F_{1,65}=3,22$, $p>0,05$), e efeito significativo para o tratamento ($F_{3,65}=2,90$; $p<0,05$), e para interação entre convívio e tratamento ($F_{3,65}= 4,41$; $p<0,05$]. Análises posteriores feitas pelo teste de Duncan revelaram que os animais que conviveram com os parceiros constritos e receberam salina apresentaram aumento na %SAPp quando comparados ao respectivo sham (CS). O teste post hoc também revelou que as três doses de atosiban aumentaram a %SAPp nos animais que conviveram com o coespecífico quando comparados ao respectivo CS/salina. Nenhuma das doses de atosiban interferiu com a %SAPp nos animais que conviveram com coespecíficos constritos (CNC)] (Fig. 4).

Figura 4 – Efeitos do tratamento de salina ou atosiban (0,25; 0,5 e 1,0 mg/Kg) sobre a porcentagem de SAP protegido avaliada no LCE em camundongos machos em convívio com coespecífico em quadro de dor crônica.

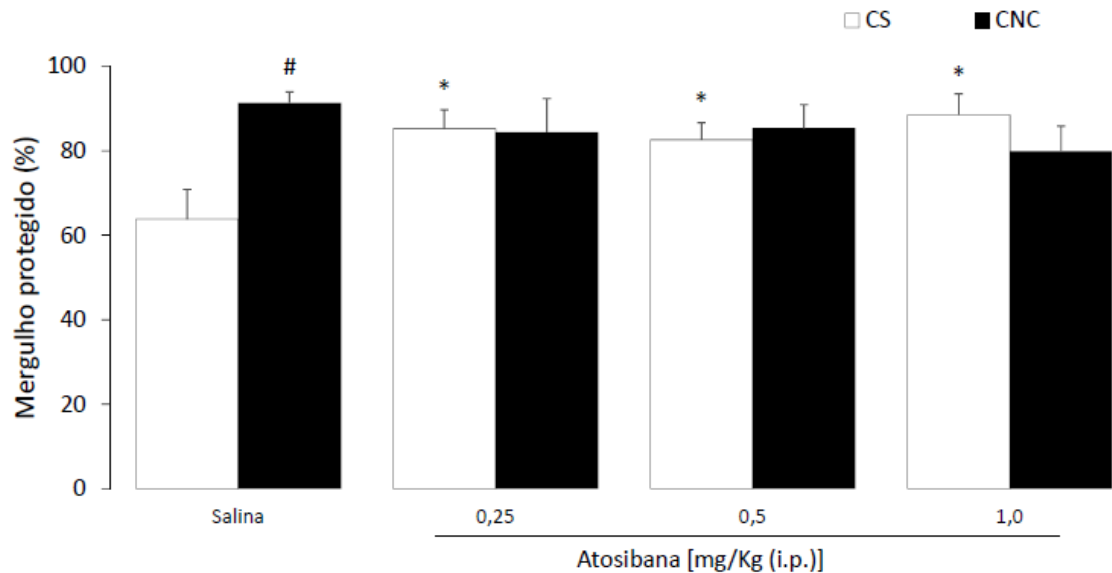


Os dados representam média e \pm erro padrão da média (n= 8-11). #p<0,05 comparado com respectivo coespecífico controle (CS); *p<0,05 comparado com respectivo grupo CS-salina.

Fonte: Elaboração dos autores.

Para a porcentagem de mergulho protegido [%MERGp - a ANOVA de duas vias (convívio x tratamento) mostrou ausência de efeito significativo para a condição ($F_{1,65}=1,85$, $p>0,05$), tratamento ($F_{3,65}=0,77$; $p>0,05$), e efeito significativo para interação entre convívio e tratamento ($F_{3,65}= 4,05$; $p<0,05$]. O teste de Duncan revelou que os animais que conviveram com os parceiros constritos tratados com salina apresentaram aumento na %MERGp quando comparados ao respectivo sham (CS). O teste post hoc também revelou que as doses de 0,25, 0,5 e 1,0 mg/kg de atosiban aumentaram a %MERGp nos animais que conviveram com o coespecífico quando comparados ao respectivo CS/salina. Nenhuma das doses de atosiban interferiu com a %MERGp do LCE nos animais que conviveram com coespecíficos constritos (CNC)] (Fig. 5).

Figura 5 – Efeitos do tratamento de salina ou atosiban (0,25; 0,5 e 1,0 mg/Kg) sobre a porcentagem de mergulho protegido avaliada no LCE em camundongos machos em convívio com coespecífico em quadro de dor crônica.



Os dados representam média e \pm erro padrão da média (n= 8-11). #p<0,05 comparado com respectivo coespecífico controle (CS); *p<0,05 comparado com respectivo grupo CS-salina.

Fonte: Elaboração dos autores.

A Tabela 2 mostra os efeitos da salina ou da atosiban (0,25, 0,5 e 1,0 mg/Kg) sobre a modulação da ansiedade induzida pelo convívio com coespecífico em estado de dor crônica em camundongos avaliados no LCE sobre os seguintes comportamentos: Entrada no BF, Tempo no centro (%), Total SAP, Total de mergulhos e Total de levantar.

Tabela 2. Efeitos da injeção de salina ou atosiban (0,25, 0,5 e 1,0 mg/kg) sobre a modulação da ansiedade induzida pelo convívio com coespecífico em dor crônica em camundongos expostos ao LCE (n=8-11).

Comportamentos	Tratamento (mg/kg, i.p)							
	Salina		Atosiban 0,25		Atosiban 0,5		Atosiban 1,0	
	CS	CNC	CS	CNC	CS	CNC	CS	CNC
Entrada no BF	7,25 \pm 0,90	6,10 \pm 0,82	5,33 \pm 0,83	5,33 \pm 0,47	6,27 \pm 0,91	5,22 \pm 0,72	5,67 \pm 5,85	5,88 \pm 0,79
Tempo no centro (%)	26,10 \pm 3,09	22,29 \pm 3,43	26,63 \pm 6,19	24,81 \pm 2,89	31,09 \pm 4,69	26,90 \pm 4,19	28,08 \pm 5,88	30,28 \pm 3,91
Total SAP	18,25 \pm 2,04	18,00 \pm 1,48	21,33 \pm 3,34	15,11 \pm 3,03	14,45 \pm 3,07	23,11 \pm 4,03	13,89 \pm 3,19	15,50 \pm 3,77
Total de mergulhos	29,13 \pm 5,92	22,50 \pm 2,71	22,22 \pm 3,82	23,00 \pm 2,46	24,73 \pm 2,46	27,33 \pm 2,22	18,22 \pm 2,59	23,38 \pm 2,90
Total levantar	14,38 \pm 2,67	16,10 \pm 3,24	10,89 \pm 2,63	12,44 \pm 2,10	8,91 \pm 2,06	9,89 \pm 3,15	10,22 \pm 2,44	7,25 \pm 1,70*

Os dados representam média e \pm erro padrão da média (n= 8-11). #p<0,05 comparado com respectivo coespecífico controle (CS); *p<0,05 comparado com respectivo grupo CNC-salina. Total SAP: Total de esticar; BF: Braço fechado.

A ANOVA, seguida do teste de Duncan mostrou ausência de efeito para os seguintes comportamentos: Entrada nos braços fechados [EBF - a ANOVA de duas vias (convívio x tratamento) mostrou ausência de efeito significativo para a condição ($F_{1,65}=0,71$, $p>0,05$), tratamento ($F_{3,65}=0,90$; $p>0,05$), e para interação entre convívio e tratamento ($F_{3,65}= 0,35$; $p>0,05$)]. Tempo gasto no centro do labirinto [%TC - a ANOVA de duas vias (convívio x tratamento) mostrou ausência de efeito significativo para a condição ($F_{1,65}=0,35$, $p>0,05$), tratamento ($F_{3,65}=0,59$; $p>0,05$), e para interação entre convívio e tratamento ($F_{3,65}= 0,20$; $p>0,05$)]. Total esticar protegido [TSAP- a ANOVA de duas vias (convívio x tratamento) mostrou ausência de efeito significativo para a condição ($F_{1,65}=0,18$, $p>0,05$), tratamento ($F_{3,65}=0,70$; $p>0,05$), e para interação entre convívio e tratamento ($F_{3,65}= 2,05$; $p>0,05$)]. Total de mergulhos [TMERG- a ANOVA de duas vias (convívio x tratamento) mostrou ausência de efeito significativo para a condição ($F_{1,65}=0,04$, $p>0,05$), tratamento ($F_{3,65}=1,23$; $p>0,05$), e para interação entre convívio e tratamento ($F_{3,65}= 1,20$; $p>0,05$)].

Para o total de levantar [TLev - a ANOVA de duas vias (convívio x tratamento) mostrou ausência de efeito significativo para a condição ($F_{1,65}=0,03$, $p>0,05$), tratamento ($F_{3,65}=2,53$; $p>0,05$), e para a interação entre convívio e tratamento ($F_{3,65}= 0,35$; $p>0,05$)]. O teste de Duncan revelou que os animais que conviveram com os parceiros constrictos e receberam atosiban 1,0 mg/Kg, apresentaram diminuição no TLev quando comparados ao respectivo salina (CNC). O teste post hoc também revelou que nenhuma das doses de atosiban (0,25, 0,5 e 1,0 mg/kg) interferiu com o TLev nos animais que conviveram com o coespecífico quando comparados ao respectivo CS/salina] (Tabela 2).

5 DISCUSSÃO

Este estudo avaliou os efeitos da administração sistêmica de atosiban na modulação da ansiedade induzida pelo modelo de empatia pela nocicepção em camundongos. Os resultados demonstraram que a convivência com animal submetido à constrição do nervo ciático produziu hipernocicepção avaliada pelo teste de placa quente e aumento de comportamentos relacionados à ansiedade no LCE. O tratamento com as três doses de atosiban produziu diminuição da %EBA, %TBA e aumento da %SAPp e %MERGp, somente nos animais que conviveram com o parceiro Sham (CS). Nenhuma das doses alterou a atividade locomotora, representada pela frequência de entradas nos braços fechados do LCE, bem como não alterou os outros comportamentos de avaliação de risco (mergulho e SAP desprotegidos).

Para verificar a dor induzida pelo modelo de constrição do nervo ciático, os animais NC e Sham foram avaliados no teste de placa quente. Os resultados demonstraram diminuição da latência de retirada da pata dos animais NC, validando a efetividade do procedimento cirúrgico realizado (KURAIISHI et al., 1983).

Os resultados demonstraram que o animal que conviveu com coespecífico submetido à constrição do nervo ciático apresentou aumento de comportamentos relacionados à ansiedade avaliados no LCE. Esses achados corroboram os resultados obtidos em estudos anteriores do nosso grupo, em que o convívio por 14 dias com animal em quadro de dor crônica teve efeito ansiogênico sobre o camundongo observador (BAPTISTA-DE-SOUZA et al., 2015; ZANIBONI et al., 2018). Diante dos resultados obtidos, sugerimos que o aumento de comportamentos do tipo ansiogênico no observador esteja associado a respostas relacionadas à empatia diante do estado de sofrimento do parceiro de convívio. Conforme demonstrado em outros estudos, observar um parceiro em estado de sofrimento é capaz de modular respostas relacionadas à empatia (SINGER et al., 2004; LANGFORD et al., 2006). De maneira semelhante, roedores tendem a buscar uma forma de amenizar o estado afetivo de sofrimento de seu parceiro (BARTAL, et al., 2016).

Nossos resultados identificaram que a administração do antagonista do receptor de ocitocina é capaz de aumentar efeitos ansiogênicos em animais que conviveram com coespecífico sem dor, porém, não teve efeito significativo em animais que conviveram com parceiro em quadro de dor crônica.

Em um estudo de Babic e colaboradores (2015), ratos machos foram alojados em caixas individualmente e tratados por via subcutânea com atosiban ou veículo e submetidos a estresse de contenção por 120 min/dia durante 14 dias. Os resultados observados foram que o

tratamento com atosiban não conseguiu modificar as concentrações plasmáticas de hormônios do estresse (hormônio adrenocorticotrófico e corticosterona), mas levou a um aumento na copeptina circulante, pré-hormônio da vasopressina. O tratamento com atosiban, tanto em animais controle quanto no grupo sob estresse, resultou em uma diminuição na expressão do gene do receptor de ocitocina (OT) no hipotálamo. Nenhuma mudança foi observada em expressão do gene do receptor 1A e 1B da vasopressina. Interessantemente, as concentrações de ocitocina no plasma foram maiores em ratos expostos ao estímulo estressor em comparação com o grupo controle, porém, o tratamento com atosiban não alterou as concentrações de ocitocina no plasma.

Recentemente também foi demonstrado pelo nosso grupo que a exposição de camundongos ao modelo de empatia para a nocicepção produziu aumento dos níveis de ocitocina no plasma, no grupo que conviveu com parceiro com constrição do nervo ciático (CNC), quando comparado ao grupo controle. Entretanto, este efeito foi observado sem alteração significativa nos níveis plasmáticos no grupo que conviveu com o parceiro Sham (CS) (BAPTISTA-DE-SOUZA et al., 2022).

Wirth, Gaffey & Martinez (2015) observaram que a administração aguda de ocitocina via intranasal não alterou os níveis basais de cortisol, testosterona e progesterona em humanos saudáveis na ausência de um estressor. Isso sugere que a administração aguda de ocitocina não tem impacto direto sobre os eixos hipotalâmico-hipófise-adrenal ou hipotalâmico-hipófise-gonadal humanos em circunstâncias não estressantes.

Oliveira (2011) identificou que a administração de atosiban na substância cinzenta periaquedutal dorsal (SCPd) tem efeito ansiogênico avaliado no labirinto em T. A ocitocina aumentou o limiar de fuga no grupo tratado com salina previamente seguido de ocitocina (salina/ocitocina), comparada ao grupo controle (salina/salina). Porém, não houve diferença estatisticamente significativa quando administrado atosiban/ocitocina. Isso sugere que a administração na SCPd do antagonista bloqueou o efeito da ocitocina.

Em outro estudo, camundongos machos foram submetidos a um tratamento com cetamina por 10 dias, seguido de 6 dias de administração de ocitocina ou salina no córtex pré-frontal medial, sendo que um grupo recebeu atosiban 30 minutos antes. No 17º dia, foram realizados os testes de campo aberto e de interação social. A administração de cetamina por 10 dias induziu distúrbios comportamentais na interação social e desempenho cognitivo, bem como níveis reduzidos de ocitocina no córtex pré-frontal medial. A ocitocina reverteu os efeitos da cetamina sobre os comportamentos de interação social. A pré-infusão de atosiban, por sua vez, bloqueou a reversão dos efeitos da ocitocina (ZHU et al., 2021).

Diante das evidências da literatura apresentadas sugerimos que nos nossos resultados, os animais que conviveram com parceiro com dor estavam com os níveis plasmáticos de ocitocina aumentados em decorrência do estímulo estressor (BABIC et al., 2015; BAPTISTA-DE-SOUZA et al., 2022), entretanto as doses de atosiban utilizadas, não foram capazes de reverter o aumento da ansiedade induzida pelo convívio com a nocicepção. Porém, o grupo que conviveu com parceiro sem dor crônica provavelmente não estava com alteração dos níveis basais de ocitocina circulante pela ausência de estímulo estressor, conforme demonstrado anteriormente (BAPTISTA-DE-SOUZA et al., 2022). Portanto, o antagonista conseguiu bloquear a ação da ocitocina circulante aumentando a ansiedade avaliada no labirinto em cruz elevado.

Os nossos resultados fortalecem o envolvimento dos receptores ocitocinérgicos na modulação da resposta de ansiedade. Portanto, se faz necessário mais estudos para se verificar o papel desses receptores em comportamentos relacionados à ansiedade e à empatia pelo convívio com parceiro em estado de sofrimento.

6 CONCLUSÃO

Os resultados demonstram que o convívio com coespecíficos em dor crônica produziu hipernocicepção e aumento das respostas relacionadas à ansiedade nos parceiros quando submetidos ao teste no labirinto em cruz elevado.

O tratamento sistêmico com atosiban (antagonista dos receptores de ocitocina), aumentou os comportamentos do tipo ansiogênicos nos camundongos que conviveram com coespecíficos sem dor (Sham).

Demonstramos também que o tratamento sistêmico com as três doses de atosiban, não alterou os comportamentos do tipo ansiogênicos em camundongos que conviveram com coespecíficos com dor (CNC).

Este estudo contribui para demonstrar o envolvimento da neurotransmissão ocitocinérgica na modulação da resposta relacionada a ansiedade induzida pelo convívio com o coespecífico com dor crônica e sem dor em camundongos. Entretanto novas pesquisas serão necessárias para elucidar a ação da ocitocina e de seu bloqueio com tratamento crônico, e/ou administração em estruturas do sistema nervoso central envolvidas com a modulação da empatia para a nocicepção em camundongos.

7 REFERÊNCIAS

- BABIC, S. et al. Effects of atosiban on stress-related neuroendocrine factors. **Journal of Endocrinology**, v. 225, n. 1, p. 9–17, 2015.
- BALE, T. L. et al. CNS region-specific oxytocin receptor expression: importance in regulation of anxiety and sex behavior. **The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience**, v. 21, n. 7, p. 2546–52, 2001.
- BAPTISTA-DE-SOUZA, D. et al. Mice undergoing neuropathic pain induce anxiogenic-like effects and hypernociception in cagemates. **Behavioural Pharmacology**, v. 26, p. 664–672, 2015.
- BAPTISTA-DE-SOUZA, D. et al. Behavioral, hormonal, and neural alterations induced by social contagion for pain in mice. **Neuropharmacology**, v. 203, 1 fev. 2022.
- BARTAL, I. B.-A.; DECETY, J.; MASON, P. Empathy and Pro-Social Behavior in Rats. **Science**, v. 334, n. 6061, p. 1427–1430, 9 dez. 2011.
- BAUMAN, M. D.; SCHUMANN, C. M. Advances in nonhuman primate models of autism: Integrating neuroscience and behavior. **Experimental Neurology**, v. 299, p. 252–265, 2018.
- BENASSI-CEZAR, G. et al. Differential modulation of the anterior cingulate and insular cortices on anxiogenic-like responses induced by empathy for pain. **Neuropharmacology**, v. 192, p. 108413, 1 jul. 2021.
- BENNETT, G. J.; XIE, Y.-K. **A peripheral mononeuropathy in rat that produces disorders of pain sensation like those seen in man**Pain. [s.l: s.n.].
- BLAIR, R. J. The neurobiology of psychopathic traits in youths HHS Public Access. **Nat Rev Neurosci**, v. 14, n. 11, p. 786–799, 2013.
- BOWEN, M. T. et al. Adolescent Oxytocin Exposure Causes Persistent Reductions in Anxiety and Alcohol Consumption and Enhances Sociability in Rats. **PLoS ONE**, v. 6, n. 11, 2011.
- CHROUSOS, G. P. Stress and disorders of the stress system. **Nature Reviews Endocrinology**, v. 5, n. 7, p. 374–381, 2009.
- ÇIVI, S. et al. Effects of quercetin on chronic constriction nerve injury in an experimental rat model. **Acta Neurochirurgica**, v. 158, n. 5, p. 959–965, 1 maio 2016.
- CRUZ, A. P. M.; FREI, F.; GRAEFF, F. G. Ethopharmacological analysis of rat behavior on the elevated plus-maze. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 49, n. 1, p. 171–176, set. 1994.

- DE WAAL, F. B. M. Putting the Altruism Back into Altruism: The Evolution of Empathy. **Annual Review of Psychology**, v. 59, n. 1, p. 279–300, 2008.
- DECETY, J. The neuroevolution of empathy. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1231, n. 1, p. 35–45, 2011.
- FRITH, C. D.; FRITH, U. The Neural Basis of Mentalizing. **Neuron**, v. 50, n. 4, p. 531–534, 2006.
- GARCIA, A. M. B.; CARDENAS, F. P.; MORATO, S. Effect of different illumination levels on rat behavior in the elevated plus-maze. **Physiology and Behavior**, v. 85, n. 3, p. 265–270, 30 jun. 2005.
- HATFIELD, E.; CACIOPPO, J. T.; RAPSON, R. L. Emotional Contagion. **Current Directions in Psychological Science**, v. 2, n. 3, p. 96–99, 22 jun. 1993.
- HURLEMANN, R. et al. Oxytocin Enhances Amygdala-Dependent, Socially Reinforced Learning and Emotional Empathy in Humans. **Journal of Neuroscience**, v. 30, n. 14, p. 4999–5007, 2010.
- JAVITT, D. C. Intracortical Mechanisms of Mismatch Negativity Dysfunction in Schizophrenia. **Audiology and Neurotology**, v. 5, n. 3–4, p. 207–215, 2000.
- KESSLER, R. C. THE EFFECTS OF STRESSFUL LIFE EVENTS ON DEPRESSION. **Annual Review of Psychology**, v. 48, n. 1, p. 191–214, fev. 1997.
- KURAIISHI, Y. et al. Separate involvement of the spinal noradrenergic and serotonergic systems in morphine analgesia: the differences in mechanical and thermal algescic tests. **Brain Research**, v. 273, n. 2, p. 245–252, 1983.
- LANGFORD, D. J. et al. Social modulation of pain as evidence for empathy in mice. **Science**, v. 312, n. 5782, p. 1967–1970, 2006.
- LEE, H. J. et al. Oxytocin: The great facilitator of life. **Progress in Neurobiology**, v. 88, n. 2, p. 127–151, 2009.
- LISTER, RICHARDG. The use of a plus-maze to measure anxiety in the mouse. **Psychopharmacology**, v. 92, n. 2, p. 321–340, jun. 1987.
- MOY, S. S. et al. Prosocial effects of an oxytocin metabolite, but not synthetic oxytocin receptor agonists, in a mouse model of autism. **Neuropharmacology**, v. 144, p. 301–311, 2019.
- NITANDA, A. et al. Contribution of the peripheral 5-HT_{2A} receptor to mechanical hyperalgesia in a rat model of neuropathic pain. **Neurochemistry International**, v. 47, n. 6, p. 394–400, nov. 2005.

OLIVEIRA, D. C. G. DE. **Estudo dos efeitos da ocitocina em modelos de ansiedade generalizada e de pânico em ratos e em voluntários saudáveis**. Ribeirão Preto: [s.n.].

PARENT, A. J. et al. Increased anxiety-like behaviors in rats experiencing chronic inflammatory pain. **Behavioural Brain Research**, v. 229, n. 1, p. 160–167, 2012.

PRESTON, S. D.; DE WAAL, F. B. M. The Communication of Emotions and the Possibility of Empathy in Animals. In: **Altruism and Altruistic LoveScience, Philosophy, and Religion in Dialogue**. [s.l.] Oxford University Press, 2002. p. 284–308.

RING, R. H. et al. Anxiolytic-like activity of oxytocin in male mice: Behavioral and autonomic evidence, therapeutic implications. **Psychopharmacology**, v. 185, n. 2, p. 218–225, 2006.

RODGERS, R. J.; JOHNSON, N. J. T. Factor analysis of spatiotemporal and ethological measures in the murine elevated plus-maze test of anxiety. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 52, n. 2, p. 297–303, out. 1995.

ROESKA, K. et al. Effect of high trait anxiety on mechanical hypersensitivity in male rats. **Neuroscience Letters**, v. 464, n. 3, p. 160–164, 30 out. 2009.

SINGER, T. et al. Empathy for Pain Involves the Affective but not Sensory Components of Pain. **Science**, v. 303, n. 5661, p. 1157–1162, 2004.

SOMMER, C.; SCHAFERS, M. **Painful mononeuropathy in C57BLrWld mice with delayed Wallerian degeneration: differential effects of cytokine production and nerve regeneration on thermal and mechanical hypersensitivity 1Brain Research**. [s.l: s.n.].

SRINIVASAN, M. V et al. Social Modulation of Pain as Evidence for Empathy in Mice. **Science**, n. June, p. 1967–1970, 2006.

TAVARES, L. R. R. et al. 5-HT₃ receptor within the amygdaloid complex modulates pain hypersensitivity induced by empathy model of cohabitation with a partner in chronic pain condition in mice. **Social Neuroscience**, v. 16, n. 5, p. 534–548, 3 set. 2021.

TENG, B. L. et al. Prosocial effects of oxytocin in two mouse models of autism spectrum disorders. **Neuropharmacology**, v. 72, n. 3, p. 187–196, set. 2013.

UENO, H. et al. Empathic behavior according to the state of others in mice. **Brain and Behavior**, v. 8, n. 7, 2018.

WATANABE, S. Empathy and reversed empathy of stress in mice. **PLoS ONE**, v. 6, n. 8, p. 12–14, 2011.

WIRTH, M. M.; GAFFEY, A. E.; MARTINEZ, B. S. Effects of Intranasal Oxytocin on Steroid Hormones in Men and Women. **Neuropsychobiology**, v. 71, n. 4, p. 202–211, 1 set. 2015.

YALCIN, I.; BARTHAS, F.; BARROT, M. **Emotional consequences of neuropathic pain: Insight from preclinical studies** *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* Elsevier Ltd, , 2014.

ZANIBONI, C. R. et al. Empathy for Pain: Insula Inactivation and Systemic Treatment With Midazolam Reverses the Hyperalgesia Induced by Cohabitation With a Pair in Chronic Pain Condition. **Frontiers in Behavioral Neuroscience**, v. 12, n. November, p. 1–10, 2018.

ZHU, W. et al. Enhancement of Oxytocin in the Medial Prefrontal Cortex Reverses Behavioral Deficits Induced by Repeated Ketamine Administration in Mice. **Frontiers in Neuroscience**, v. 15, 10 set. 2021.

ZINGG, H. H.; LAPORTE, S. A. The oxytocin receptor. **Trends in Endocrinology and Metabolism**, v. 14, n. 5, p. 222–227, 2003.

ANEXO 1

Pró Reitoria
Pesquisa

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



CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "Avaliação do papel da neurotransmissão de ocitocina na modulação da ansiedade induzida em camundongos pelo modelo de empatia para dor.", protocolada sob o CEUA nº 9094160919 (ID 001364), sob a responsabilidade de **Azair Liane Matos do Canto de Souza e equipe; Gustavo Diego Magno; Isabela Miranda Carmona; Paulo Eduardo Carneiro de Oliveira; Lara Maria Silveira** - 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 18/11/2019.

We certify that the proposal "Evaluation of the role of oxytocin neurotransmission in the modulation of anxiety induced in mice by the model of empathy for pain.", utilizing 128 Heterogenics mice (128 males), protocol number CEUA 9094160919 (ID 001364), under the responsibility of **Azair Liane Matos do Canto de Souza and team; Gustavo Diego Magno; Isabela Miranda Carmona; Paulo Eduardo Carneiro de Oliveira; Lara Maria Silveira** - 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 11/18/2019.

Finalidade da Proposta: [Pesquisa](#)

Vigência da Proposta: de [09/2019](#) a [07/2020](#) Área: [Psicologia](#)

Origem: [Biotério Central da UFSCar](#)

Espécie: [Camundongos heterogênicos](#)

sexo: [Machos](#)

idade: [3 a 5 semanas](#)

N: [128](#)

Linhagem: [Swiss Albino](#)

Peso: [14 a 45 g](#)

Local do experimento: Laboratório de Psicologia e Aprendizagem da UFSCar.

São Carlos, 20 de março de 2020

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

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