

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL**  
**INSTITUTO DE CIÊNCIAS BÁSICAS DA SAÚDE**  
**DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA**  
**CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS:**  
**BIOQUÍMICA**

**MODELO ANIMAL PARA ESTUDO DO TEMPERAMENTO:**  
**RELEVÂNCIA PARA OS TRANSTORNOS DE HUMOR**

**Vanessa Kazlauckas Ghidini**

Orientador: Diogo Rizzato Lara

Dissertação apresentada ao Curso de Pós- Graduação em Ciências Biológicas- Bioquímica,  
como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre em Bioquímica.

Porto Alegre

2006

Happiness is not a station you arrive at, but a manner of traveling."

Margaret Lee Runbeck

## **AGRADECIMENTOS**

Ao meu orientador Diogo Rizzato Lara por ter me dado a oportunidade de entrar para o mundo da pesquisa em Neurociências e por sempre me dar apoio e incentivo.

Aos professores Diogo O. Souza e Luis Valmor Cruz Portela por me propiciarem um ambiente de trabalho maravilhoso.

Aos professores e funcionários do Departamento de Bioquímica da UFRGS.

À minha querida amiga e companheira de trabalho Juliana Schuh e aos amigos Jonas e Leonardo pela ajuda e amizade.

Às minhas colegas e amigas Ana Elisa Bohmer, Gabriele Ghislene e Renata Leke.

A todos os colegas dos laboratórios 22, 24, 26 e 28.

Aos meus pais, aos meus irmãos, à minha Vó Irma e à Lolô pelo apoio, paciência e incentivo durante toda a minha vida.

Ao meu marido, Guilherme pelo companheirismo, paciência, apoio e amor.

## **Resumo**

Temperamento é hereditário e relativamente estável no padrão de emoções básicas tais como medo e raiva. Nós exploramos traços de temperamento em camundongos para selecionar fenótipos distintos com extremos de temperamento. Em um ambiente novo (campo aberto) com objeto central, dois grupos de 15 animais a partir de 79 foram selecionados e separados de acordo com alta e baixa exploração do objeto para compor os grupos de alto e baixo exploradores, respectivamente.

O desempenho destes animais foi idêntico no mesmo teste uma semana depois e se manteve distinto oito meses depois, sugerindo a presença de traços de temperamento. Estes camundongos foram posteriormente testados em outras tarefas comportamentais. Comparados aos baixo exploradores, os camundongos alto exploradores foram menos ansiosos no claro-escuro e no labirinto em cruz elevado, mostraram aumento na locomoção no campo aberto, apresentaram melhor desempenho no decorrer dos testes do Labirinto de Lashley (estímulo apetitivo) e tiveram alta latência para descer da plataforma no teste de esquiva inibitória (estímulo aversivo). Camundongos alto exploradores se mostraram agressivos no teste de intruso, enquanto que os baixo exploradores se mostraram passivos ou submissos. Estes resultados mostram que diferenças individuais no temperamento influenciam grande parte dos comportamentos em camundongos. Esse perfil comportamental dos camundongos alto e baixo exploradores se assemelha a temperamentos depressivos e hipertímicos de pacientes com depressão unipolar e bipolar.

## ÍNDICE

|   |            |
|---|------------|
| <b>PRIMEIRA PARTE .....</b>                           | <b>VII</b> |
| <b>Resumo.....</b>                                    | <b>4</b>   |
| <b>Abstract.....</b>                                  | <b>5</b>   |
| <b>1.Introdução.....</b>                              | <b>6</b>   |
| 1.1 Temperamento .....                                | 6          |
| 1.1.1 Classificações dos tipos de temperamento. ....  | 6          |
| 1.2. Caráter .....                                    | 6          |
| 1.3 Personalidade.....                                | 9          |
| 1.4 Transtornos de humor.....                         | 9          |
| 1.4.1 Histórico .....                                 | 9          |
| 1.4.2 Tipos de transtornos de humor .....             | 10         |
| 1.4.3 Modelos animais para transtornos de humor ..... | 12         |
| 1.4.3.1 Modelo animal para depressão .....            | 14         |
| 1.4.3.2 Modelo animal para mania .....                | 15         |
| 1.4.3.3 Modelo animal para transtorno bipolar .....   | 16         |
| 1.5 Hipótese .....                                    | 17         |
| <b>2.Objetivos.....</b>                               | <b>18</b>  |
| 2.1 Objetivo geral .....                              | 18         |
| 2.2 Objetivos específicos.....                        | 18         |
| <b>SEGUNDA PARTE .....</b>                            | <b>19</b>  |
| <b>ARTIGO.....</b>                                    | <b>21</b>  |
| <b>TERCEIRA PARTE .....</b>                           | <b>28</b>  |
| <b>Discussão.....</b>                                 | <b>29</b>  |

**Perspectivas.....36**

**Referências Bibliográficas.....37**

## **PRIMEIRA PARTE**

## Resumo

Temperamento é hereditário e relativamente estável no padrão de emoções básicas tais como medo e raiva. Nós exploramos traços de temperamento em camundongos para selecionar fenótipos distintos com extremos de temperamento. Em um ambiente novo (campo aberto) com objeto central, dois grupos de 15 animais a partir de 79 foram selecionados e separados de acordo com alta e baixa exploração do objeto para compor os grupos de alto e baixo exploradores, respectivamente.

O desempenho destes animais foi idêntico no mesmo teste uma semana depois e se manteve distinto oito meses depois, sugerindo a presença de traços de temperamento. Estes camundongos foram posteriormente testados em outras tarefas comportamentais. Comparados aos baixo exploradores, os camundongos alto exploradores foram menos ansiosos no claro-escuro e no labirinto em cruz elevado, mostraram aumento na locomoção no campo aberto, apresentaram melhor desempenho no decorrer dos testes do Labirinto de Lashley (estímulo apetitivo) e tiveram alta latência para descer da plataforma no teste de esquiva inibitória (estímulo aversivo). Camundongos alto exploradores se mostraram agressivos no teste de intruso, enquanto que os baixo exploradores se mostraram passivos ou submissos. Estes resultados mostram que diferenças individuais no temperamento influenciam grande parte dos comportamentos em camundongos. Esse perfil comportamental dos camundongos alto e baixo exploradores se assemelha a temperamentos depressivos e hipertímicos de pacientes com depressão unipolar e bipolar.



## Abstract

Temperament is the heritable and relatively stable pattern of basic emotions, such as fear and anger. We explored behavioral features in mice to select distinct phenotypes with extremes of temperament. In a new environment (open-field) with a central object, two groups of 15 mice from 79 screened were separated according to high or low exploration of the object to compose the high and low exploratory groups, respectively. Their performance was mostly identical in the same task 1 week later and still distinguishable 8 months later, suggesting the presence of trait or temperamental features. These mice were further tested in other behavioral tasks. Compared to low exploratory mice, high exploratory mice were less anxious in the light/dark task and the elevated plus maze, showed increased locomotion in an open-field, improved their performance along trials in the Lashley maze (with appetitive stimulus) and had higher latency to step-down in the inhibitory avoidance task (with aversive stimulus). High exploratory mice were aggressive in the intruder test, whereas low exploratory mice were non-aggressive or submissive. These results show that individual differences in temperament influence a range of behaviors in mice. The behavioral profile of low and high exploratory mice resembled the depressive and hyperthymic temperaments of patients with unipolar depression and bipolar disorders, respectively, which may be relevant for modeling mood disorders.

## 1. Introdução

### 1.1 Temperamento

O temperamento é a disposição a emoções básicas (medo e raiva) e suas reações comportamentais automáticas tais como inibição e ativação, em resposta a estímulos ambientais específicos (risco, novidade, recompensa) (Svrakic et al, 2002). Sua base neurobiológica é predominantemente hereditária e é relativamente estável durante toda a vida. O temperamento também pode ser observado em animais, principalmente as emoções básicas de medo e raiva, que formam a base do temperamento (Cloninger et al, 1993).

#### 1.1.1 Classificações dos tipos de temperamento

Vários modelos de classificar o temperamento já foram propostos por pesquisadores e estudiosos.

Inicialmente desenvolveu-se a teoria dos quatro elementos do filósofo pré-socrático Empédocles (500-430 a.C.): água, terra, ar e fogo. O cérebro era considerado como sendo a sede da vida e seu funcionamento normal exigia um equilíbrio entre os humores (fluidos). Há cerca de 2500 anos, Hipócrates, inspirado em Empédocles, classificou o temperamento em seres humanos em quatro tipos básicos: colérico, sanguíneo, fleumático e melancólico (Akiskal, 2005).

A partir desta tentativa de explicar as diferenças de temperamentos e personalidades surgiram vários estudos e novas classificações, tipologias e teorias, principalmente nas últimas décadas. Como exemplo, Eysenck (1987) identificou como eixos principais do temperamento a extroversão, o neuroticismo e o psicoticismo.

Atualmente a classificação proposta por Cloninger e colaboradores (1993) para o temperamento tem sido amplamente utilizada. Essa classificação delimita as quatro principais dimensões do temperamento:

- **Evitação de risco:** inibição de comportamentos frente à possibilidade de frustração ou ameaça, conferindo natureza pessimista, evitativa, amena, passiva e tímida. Tem como base a emoção de medo.

- **Busca de novidades:** indivíduos com comportamentos ativos e exploratórios, impulsivos, extravagantes, impacientes, irritáveis, com grande curiosidade e busca por situações de recompensa, evita situações de punição provável. Tem como base a emoção de raiva.

- **Necessidade/Dependência de reforço social:** sentimental, afetuoso, disponível, sensível; necessita da aprovação e confirmação alheias, sendo por isto, mais facilmente influenciável. Tem como base a emoção do apego.

- **Persistência:** de natureza determinada, ambiciosa e perfeccionista, capaz de persistir na realização de tarefas ou em situações de baixo retorno imediato ou de reforços inconstantes, encara frustrações e obstáculos como desafios.

Cada um desses temperamentos é independente e expresso dimensionalmente, ou seja, o importante é avaliar quanto de cada uma dessas dimensões o indivíduo expressa.

Já o modelo proposto por Akiskal (1983), inspirado no modelo de Kraepelin, preconiza que os temperamentos podem ser entendidos como padrões predominantes de humor ou estilos afetivos. Estes padrões de humor poderiam também predispor para

tipos específicos de transtorno de humor. Os tipos principais de temperamento segundo esse modelo são:

- **Hipertímicos:** associado à busca por novidades, estímulos e sensações de prazer. São exploradores, impulsivos, otimistas, entusiasmados, extravagantes, curiosos, desorganizados, têm reações afetivas rápidas e intensas e se entediam facilmente.
- **Depressivos:** são preocupados, pessimistas, cautelosos, quietos, tímidos, indecisos, críticos e céticos. Ansiedade e inibição frente a situações de risco.
- **Ciclotímicos:** apresentam alternância entre fases de humor depressivo e hipertímico.
- **Irritáveis:** esse grupo está um pouco menos definido e parece ser menos comum, mas algumas pessoas de fato manifestam a irritabilidade como uma característica marcante e constante. Também são ameaçadores, desconfiados, combativos e destrutivos.

## 1.2 O caráter

O termo caráter é originado do grego *charakter* = sinal, marca, instrumento que marca. Em contraste ao temperamento, que é principalmente herdado, o caráter seria delineado mais pela interação não-linear entre temperamento, ambiente familiar e experiências de vida individuais (Svrakic et al, 1993).

Existem três dimensões de caráter distintas: autodirecionamento (intensidade com a qual o indivíduo é responsável, confiável, disponível, objetivo e auto-confiante), cooperatividade (intensidade com a qual os indivíduos se consideram parte integrante

da sociedade humana - tolerante, protetor, cooperativo) e auto-transcendência (intensidade com a qual as pessoas se consideram partes integrais do universo como um todo; intuitivo, imaginativo, idealista) (Richter et al, 2000).

### **1.3 Personalidade**

A combinação do temperamento básico com o caráter que se forma pela experiência é o que definimos como personalidade (Cloninger et al, 1993). Para alguns autores, as características de inteligência também fazem parte de personalidade.

### **1.4 Transtornos de humor**

#### **1.4.1 Histórico**

O primeiro vestígio de estudo de transtornos de humor na história da medicina e da psicologia ocidental foi a resultante das concepções da escola hipocrática-galênica. Os escritos do médico Hipócrates propunham a visão de que o corpo humano contém quatro humores essenciais – fleuma, bile amarela, bile negra e sangue - que eram secretados por diferentes órgãos, possuíam diferentes qualidades e variavam de acordo com as estações do ano (Akiskal, 2005). O cérebro era considerado como sendo a sede da vida e seu funcionamento normal exigia um equilíbrio entre os humores. Um excesso de fleuma levaria a uma forma de demência, a bile amarela causaria a raiva maníaca e a bile negra causaria a melancolia. Os aspectos psicológicos mais característicos dos quatro temperamentos são: Sangüíneo, Fleumático, Colérico e Melancólico (Akiskal, 2005).

### 1.4.2 Tipos de transtornos de humor

Segundo a Associação Psiquiátrica Americana, no DSM-IV, os transtornos do humor principais são a depressão maior e o transtorno bipolar.

**Depressão maior:** pode ser manifestada apenas por um único episódio, ou ser recorrente e caracteriza-se por humor negativo, redução da energia e diminuição da atividade. Existe alteração da capacidade de experimentar o prazer, perda de interesse, diminuição da capacidade de concentração, associadas em geral à fadiga importante, mesmo após um esforço mínimo. Observam-se em geral problemas do sono e do apetite. Existe quase sempre uma diminuição da auto-estima e da autoconfiança e freqüentemente idéias de culpabilidade e/ou de indignidade, mesmo nas formas leves. Esse humor depressivo se expressa por um período de no mínimo duas semanas acarretando num prejuízo significativo nas atividades sociais, ocupacionais e de lazer do indivíduo (Akiskal, 2005)

**Transtorno bipolar:** caracterizado por episódios nos quais o humor e o nível de atividade do indivíduo estão profundamente perturbados, sendo que este distúrbio consiste em algumas ocasiões de uma elevação do humor e aumento da energia e da atividade (hipomania ou mania) e em outras, de um humor negativo e de redução da energia e da atividade (depressão). Segundo Akiskal e Pinto (1999), os principais tipos seriam:

**Tipo I** – apresenta toda a amplitude de variação do humor, do pico mais alto do humor (mania plena), que pode durar várias semanas, até depressões graves. É comum

apresentar sintomas psicóticos, como delírios ou alucinações. Se não for tratado, em geral prejudica enormemente o curso da vida do paciente.

**Tipo II** – a fase maníaca é mais branda e curta, chamada de hipomania (pequena mania). Os sintomas são semelhantes, mas não prejudicam de modo muito significativo a pessoa. As depressões por outro lado, podem ser profundas. Com frequência os sintomas de humor deixam de ser marcadamente de um pólo para terem características mistas, turbulentas.

**Tipo III** – é uma classificação usada para os pacientes quando a fase maníaca ou hipomaníaca é induzida por um antidepressivo ou psicoestimulante, ou seja, fazem parte do espectro bipolar, mas o pólo positivo é descoberto pelo uso destas drogas. Sem o antidepressivo, em geral manifestam características do temperamento hipertímico ou ciclotímico.

**Tipo IV** – nunca teve mania ou hipomania, mas tem uma história de um humor um pouco mais vibrante, na faixa hipertímica, que frequentemente gera vantagens. A fase depressiva pode só ocorrer em torno ou depois dos 50 anos e às vezes é de característica mista.

**Ciclotimia** – o padrão oscilatório do humor é marcante, mas não chega aos extremos de mania ou depressão, podendo se manifestar mais tarde de forma mista e ansiosa.

Muitos estudos demonstraram que pacientes bipolares expressam fortemente emoção de raiva ou temperamento de busca de novidades enquanto que o temperamento de evitação de dano/medo é mais evidente em pacientes com depressão unipolar (Young et al, 1995; Richter et al, 2000).

Recentemente foi feita uma correlação entre os modelos de Akiskal e Cloninger baseado nos níveis de emoções de medo e raiva expressos numa população em geral. Estas análises mostraram que temperamento hipertímico apresentou correlação positiva com busca de novidades (raiva/curiosidade) e negativa com o temperamento evitação de dano (medo/ansiedade), o temperamento depressivo correlacionou de modo oposto enquanto que o temperamento ciclotímico apresentou correlação positiva com busca de novidades (raiva) e evitação de dano (medo). Em relação às outras duas dimensões de temperamento propostas por Cloninger, dependência de reforço social e persistência, não foi encontrada nenhuma correlação entre perfil de expressão de medo e/ou raiva (Maremmani et al, 2005). O mesmo perfil de correlação foi observado por Akiskal após avaliação de pacientes psiquiátricos (Akiskal et al, 2005).

Baseando-se nestes estudos, pode-se dizer que o humor e seus transtornos estão intimamente relacionados à combinação das emoções básicas ou temperamentos de medo e raiva.

### **1.4.3 Modelos animais para estudo dos transtornos de humor**

Modelos animais são ferramentas importantes para o estudo e compreensão dos transtornos psiquiátricos, principalmente na busca de novos e melhores tratamentos. Os modelos têm sido delineados utilizando uma variedade de parâmetros farmacológicos, comportamentais e genéticos.

Estudos em modelo animal nos possibilitariam a oportunidade única de examinar profundamente os mecanismos neurobiológicos, genéticos e ambientais que predisõem aos transtornos de humor (Gosling e Samuel, 2001; Ray e Jansen, 2004). Ratos e



camundongos são amplamente utilizados para investigações neurocomportamentais, visto que existem inúmeros testes para avaliar perfil comportamental destes, tais como, campo aberto, labirinto em cruz elevado, esquiva ativa e inibitória entre outros.

Inúmeros pesquisadores têm selecionado seus animais baseados na performance em testes comportamentais. Uma seleção psicogenética tem sido utilizada para traçar o perfil “biocomportamental” de ratos selecionados pela performance na tarefa de esquiva ativa - *Roman rats* (Steimer e Driscoll, 2005) e *Syracuse rats* (Brush, 2003) buscando delinear parâmetros biológicos relacionados a respostas de medo e ansiedade; outra forma de seleção se baseia na resposta dos animais frente a um ambiente novo através da medida da atividade locomotora com a finalidade de estudar vulnerabilidade a drogas de abuso e respostas ao estresse (Kabbaj et al, 2000; Piazza et al, 1993).

As bases biológicas da ansiedade também têm sido estudadas através de seleções de animais no teste de labirinto em cruz elevado. Ratos mais e menos ansiosos nesse teste são submetidos a outros testes comportamentais para elucidar a relação entre emocionalidade e estresse através de medidas comportamentais, fisiológicas e neuroendócrinas (Liebsch et al, 1998a, 1998b).

Para um modelo ser validado é preciso que apresente pelo menos um dos três principais tipos de validades: *face* (similaridades entre os traços comportamentais do modelo e da condição humana a ser modelada); *preditiva* (grau e especificidade com que a droga que é efetiva em humanos também é no modelo animal e vice-versa) e *construção* (mecanismo teórico comum para explicar o modelo e a patologia/condição humana a ser modelada) (Einat et al, 2003).

Os traços de temperamento podem ser utilizados de maneira extremamente vantajosa para descrever diferenças comportamentais individuais em muitas espécies

além da humana (Gosling e Samuel, 2001). Baseado em estudos de dominância e subordinação e em sua prática clínica, Price (1967) sugeriu que dominância e subordinação seriam equivalentes à mania e depressão, respectivamente (Malatynska, 2005). Alguns estudos têm examinado a similaridade entre comportamento submisso em animais e depressão em humanos (Sluyter, 1996, 2003).

Até o momento não existe um modelo experimental que não seja farmacológico para estudo de transtornos de humor bipolar ou da mania. Também os modelos utilizados para avaliar depressão e ansiedade não consideram fatores genéticos e de temperamento, o que limita a validade de face e de construção destes modelos.

#### **1.4.3.1 Modelo animal para depressão**

Muitos modelos animais para depressão têm sido propostos baseados nos aspectos biológicos da depressão em humanos tais como anedonia (Strekalova et al, 2004), distúrbios do sono, diminuição da atividade locomotora, comportamento exploratório e social reduzido (Vieira et al, 2003), sendo que estes fatores têm sido induzidos através de manipulações ou seleções genéticas, estresse ambiental ou manipulação farmacológica.

Uma estratégia bastante usada é a indução farmacológica de sintomas depressivos utilizando drogas como reserpina ou clonidina, que atuam inibindo a liberação de noradrenalina e reduzindo a atividade de neurônios noradrenérgicos no *locus coeruleus*, sendo este modelo baseado na hipótese da depressão estar relacionada à redução da atividade noradrenérgica cerebral (Malatynska e Knapp, 2005).

Outro modelo com boa validade preditiva é o modelo de nado forçado proposto por Porsolt et al (1978). Este modelo permite testar eficácia clínica de drogas

antidepressivas pela medida do tempo de imobilidade do animal, que é interpretada como “desespero”. Com igual finalidade, também existe o teste de suspensão pela cauda. No entanto, esse modelo não identifica fármacos com ação antimaníaca ou estabilizadora do humor.

O protocolo de desamparo aprendido (choque inescapável) é um modelo de indução de estado depressivo crônico muito utilizado (Overmeir e Seligman, 1967; [Chourbaji et al, 2005](#)). Neste teste, os animais são submetidos a choques elétricos inescapáveis nas patas desenvolvendo déficits de esquiva quando expostos novamente, 24 horas depois, à nova situação na qual poderiam evitar ou escapar do estímulo aversivo. Esses déficits têm sido relacionados ao sentimento de desamparo que acomete pacientes deprimidos.

#### **1.4.3.2 Modelo animal para mania**

A natureza da maioria dos sintomas de mania tais como, irritabilidade, ousadia, alterações de sono, euforia, dificulta a elaboração de um modelo animal. Até o momento nos modelos propostos tem sido utilizada a indução farmacológica, o que não possibilita a compreensão da neurobiologia deste transtorno.

Um importante modelo farmacológico de mania é o de indução farmacológica por oubaína, um potente inibidor da bomba de sódio, produzindo hiperatividade locomotora. Visto que o mecanismo de ação desta droga mimetiza um parâmetro biológico de mania que é desregulação iônica (indivíduos com mania aguda apresentam um aumento intracelular de cálcio e sódio, aumento da retenção de lítio e diminuição da atividade da bomba de sódio) (El-Mallakh et al, 2003) este modelo é bastante utilizado

para testar novas drogas para tratamento de mania. Sua validade preditiva foi estabelecida com o uso de lítio, uma droga utilizada como estabilizador de humor para pacientes com transtorno bipolar.

Outro modelo comumente utilizado para mania é a indução de hiperatividade pela administração de anfetamina, algumas vezes associada com clordiazepóxido, que serve para desenvolver sintomas semelhantes aos sintomas maníacos de euforia, agitação e distratibilidade (Cappelliez e Moore, 1989; Lamberty et al, 2001; Shaldivin et al, 2001; Arban et al, 2005).

Outros modelos de mania têm sido propostos, como: privação do sono (Gessa et al, 1995); lesões cerebrais (Wilkinson et al, 1993); estimulação elétrica (Shaldivin et al, 2001) e modelos de manipulação genética (Niculescu et al, 2000; Maier et al, 2005).

#### **1.4.3.3 Modelo animal para transtorno bipolar**

O transtorno bipolar é caracterizado por alternância progressiva e espontânea de episódios de depressão e mania e para a construção de um modelo ideal, este deveria incluir oscilações de comportamentos depressivos e maníacos. No entanto, a natureza progressiva e cíclica deste transtorno dificulta a tentativa de um modelo animal, portanto muitos modelos tendem a focar em um pólo desta doença (Einat et al, 2003).

Em 1990, Cappelliez e Moore, sugeriram um modelo animal farmacológico para transtorno bipolar com base na administração e retirada de anfetamina para testar o efeito do lítio. A administração crônica de anfetamina induziria sintomas semelhantes a estados maníacos (euforia, excitabilidade). Conseqüentemente, a retirada da anfetamina induziria sintomas depressivos (fadiga, diminuição da atividade locomotora). Não foi conferida validade preditiva para este modelo, pois o lítio não teve efeito. Os autores

sugerem que lítio e anfetamina atuam em diferentes mecanismos relacionados à atividade locomotora.

### **1.5 Hipótese**

Como os temperamentos de medo/ansiedade e raiva/busca de novidades são a base do humor e de seus transtornos, formulamos a hipótese de que sua modelagem em camundongos poderia ser útil para o desenvolvimento de um modelo animal para transtornos de humor.

## **2. Objetivos**

### **2.1 Objetivo geral**

Desenvolver um modelo animal para estudo de transtornos de humor unipolar e bipolar através da seleção de grupos de camundongos representando extremos de temperamento (alto e baixo exploradores de campo aberto), e avaliar se apresentam desempenhos diferenciados em tarefas comportamentais e cognitivas buscando semelhanças com as características observadas nestes transtornos de humor.

### **2.2 Objetivos específicos**

- Desenvolver um teste de triagem que permita a seleção de grupos de camundongos com diferente comportamento exploratório através da análise da exploração central e periférica de um campo aberto com objeto central.
- Submeter os animais selecionados a partir da triagem a testes de ansiedade (labirinto em cruz elevado e teste de claro-escuro), testes para avaliação cognitiva (Esquiva Inibitória e Labirinto de Lashley) e agressividade (teste com intruso).
- Conferir validade de face e de construção ao modelo através de correlações e análises dos resultados dos testes, visando traçar um paralelo comparativo com a clínica dos transtornos de humor.

## **SEGUNDA PARTE**

**ARTIGO**

Behavioral and cognitive profile of mice with high and low  
exploratory phenotypes.

Behavioural Brain Research 162 (2005) 272–278

















## **TERCEIRA PARTE**



## **Discussão**

O estudo do temperamento tem sido proposto como uma importante estratégia para a elucidação da neurobiologia dos transtornos de humor (Kesebir et al, 2005). A partir desse ponto de vista, modelos animais válidos para a aferição do temperamento podem promover avanços significativos na área. Estes modelos podem auxiliar no estudo detalhado do substrato neurobiológico dos diversos tipos de temperamento, assim como propiciar a avaliação de fármacos potencialmente eficazes em modular a natureza emocional visando fins terapêuticos.

Fatores genéticos contribuem para a alta variabilidade interindividual quanto ao tipo e intensidade da resposta comportamental, neuroendócrina e fisiológica ao estresse observado em várias espécies, incluindo humanos e ratos de laboratório. Este fato tem sido utilizado como base para desenvolver inúmeras linhagens bidirecionais (Maudsley, Roman, Syracuse entre outros) para o estudo da neurobiologia do estresse/ansiedade.

Em 1934, Hall propôs um modelo para ansiedade que consistia na seleção de ratos Wistar com alto e baixo número de defecações quando submetido a um campo aberto. Desta maneira eles acessavam a emotividade dos animais baseados no conceito de que forte emoção de medo provoca, em humanos, maior frequência de defecações e urina (Stouffer et al, 1949). Ratos inativos no campo aberto e com altos índices de defecações eram considerados com mais medo. Após oito gerações selecionadas, diferenças entre ratos com alto e baixo padrão de defecações se tornaram consistentes e significantes (Broadhurst 1957, 1960). Atualmente esta linhagem denomina-se ratos Maudsley reativos (alto padrão de defecações no campo aberto) e não-reativos (baixo padrão de defecações no campo aberto).

Pesquisas subseqüentes diferenciaram estes dois grupos do ponto de vista comportamental, farmacológico e neurofisiológico. No entanto, não se conseguiu replicar a associação dos ratos Maudsley com parâmetros de ansiedade, pois o índice de defecações no campo aberto não correlaciona com outros testes que acessam ansiedade em ratos. Estas inconsistências podem ser devido às diferentes maneiras com as quais esta linhagem vem sendo mantida durante os últimos 40 anos (Paterson et al, 2001).

Muitos estudos baseiam-se na idéia de que diferenças individuais na resposta neural e hormonal a uma novidade contribuem para que se observem diferenças quanto ao comportamento buscador de novidades e suscetibilidade a psicopatologias (Zucherman, 1990). Com o objetivo de acessar esta diferença na resposta à novidade, Piazza e colaboradores desenvolveram uma seleção de ratos quanto à resposta locomotora num ambiente novo (Piazza et al, 1989,1990). Esse grupo classificou-os como ratos com Alta Resposta Locomotora e ratos com Baixa Resposta Locomotora. Observou-se que animais com alta resposta locomotora são mais suscetíveis às ações de psicoestimulantes. Através desta seleção, esse grupo também conseguiu diferenciar a suscetibilidade a drogas de abuso entre esses dois grupos de animais utilizando abordagens neuroquímicas, como dosagem de dopamina e corticosterona (Piazza e Le Moal, 1996).

Levando em consideração os achados de Piazza e colaboradores, o grupo de Schwarting desenvolveu um método de triagem baseado na exploração vertical dos animais (*rearings*) no campo aberto na qual eles procuraram acessar o comportamento emocional e exploratório dos animais com o objetivo de estudar as respostas dos sistemas dopaminérgicos, serotoninérgicos e noradrenérgicos e também avaliar a suscetibilidade a drogas de abuso. Procuraram analisar se a atividade exploratória vertical (*rearing*) acessava os mesmos mecanismos da atividade exploratória horizontal (locomoção).

Observaram que os ratos que tem maior atividade exploratória (alto *rearing*) exploravam mais objetos novos (responde mais à novidade) e respondem de maneira semelhante aos ratos com baixa atividade exploratória em relação a psicoestimulantes. Portanto, esse método de triagem separa mais o componente novidade/reação a ambiente novo e não a suscetibilidade a drogas de abuso, como pôde ser visto no modelo do grupo de Piazza.

O grupo de Landgraf e colaboradores (Henninger et al, 1999, Liebsch et al, 1998a,1998b) selecionaram ratos Wistar quanto ao desempenho no teste de labirinto em cruz elevado, que se baseia na criação de um conflito entre o desejo natural de exploração e o medo de áreas abertas/expostas, separando dois grupos: ratos com Alta e Baixa Ansiedade. A partir desta seleção, analisaram outros parâmetros comportamentais e neuroendócrinos na tentativa de compreender a neurobiologia da ansiedade. Observaram que os ratos com baixa ansiedade são mais ativos, expressam maior agressividade e exploram mais a área central do campo aberto. Em relação a parâmetros neuroquímicos, os ratos com alta ansiedade possuem maior concentração plasmática de corticosterona e redução da transmissão serotoninérgica hipocampal em relação aos ratos com baixa ansiedade (Landgraf et al, 1999, Keck et al, 2005).

A partir de animais selecionados com alta e baixa performance quanto ao aprendizado de evitação na esquiava (linhagens Roman e Syracuse), chegou-se a diferenças de comportamento que servem como um modelo animal para analisar as diferenças genéticas que predispõe à ansiedade (Brush, 2003; Escorihuela et al, 1999). Uma série de estudos demonstrou que os ratos selecionados com alta performance nesse teste de triagem (esquiava ativa maior), em relação aos de baixa performance, são menos ansiosos, com alta busca de novidades, impulsivos frente a estímulos aversivos e com menor resposta do eixo hipófise pituitária adrenal. Os ratos da linhagem Roman com alta

performance na esquiwa ainda se mostraram mais suscetíveis à sensibilização por anfetamina, apresentando maior resposta dopaminérgica. Portanto, uma seleção psicogenética é uma maneira de acessar particularidades de uma linhagem com o objetivo de se tornar uma ferramenta para o estudo das bases neurobiológicas do temperamento ou da personalidade (Steimer e Driscoll, 2005).

Um estudo de Ray e Hansen procurou medir os níveis de exploração e ansiedade de ratos submetidos aos testes de *holeboard* (atividade exploratória) e *canopy* (ansiedade). Esse estudo mostrou que busca de novidades e evitação de dano são parâmetros comportamentais independentes. Esses pesquisadores também destacaram que os dados coletados em outros estudos nos testes de campo aberto, labirinto em cruz elevado e no *holeboard* são coletados para outro propósito que não para ser utilizados como modelo animal para pesquisa sobre temperamento, o que seria de grande valia (Ray e Hansen, 2004).

Uma outra maneira de caracterizar diferenças interindividuais entre animais é através da análise do controle territorial e agressividade. Camundongos selecionados geneticamente pela sua latência de ataque formam um modelo para estudo dos mecanismos responsáveis pela variação da suscetibilidade ao estresse. Animais menos agressivos reagem de maneira passiva ou inativa a mudanças ambientais, além de ter secreção aumentada e prolongada de corticosterona após situação de estresse, comparado aos mais agressivos (Sluyter et al, 1996; Veenema et al, 2002).

De modo geral, os estudos citados anteriormente buscam delinear um fator de maneira isolada, ou seja, ansiedade ou locomoção. Conseqüentemente, deixam de analisar outros componentes que influenciam o comportamento do animal como um todo.

Para se desenvolver um modelo animal para os transtornos de humor se deve analisar a expressão das emoções básicas tanto de medo/ansiedade/evitação de dano, como de raiva/curiosidade/busca de novidades, como sugerido por achados clínicos em humanos (Akiskal et al, 2005; Maremmani et al, 2005).

O nosso modelo foi desenvolvido com a finalidade de traçar o perfil temperamental individual de cada animal baseando-se na avaliação individual do comportamento no teste de campo aberto que permite a observação do perfil de temperamento mais/menos evitador de dano (medo/ansiedade) assim como de um temperamento mais/menos buscador de novidades (curiosidade) (Kazlauckas et al, 2005).

Os resultados obtidos neste estudo confirmam que podemos identificar diferenças interindividuais comportamentais em camundongos e que essas influenciam em outras tarefas comportamentais.

O teste de campo aberto utilizado para realizar a triagem dos animais pelos extremos do temperamento foi reproduzível e estável no decorrer do tempo, como é esperado quando se está avaliando tais características.

O objeto central foi utilizado para aumentar o componente de curiosidade e exploração. As características de curiosidade e busca de novidades puderam ser confirmadas em outros testes comportamentais e cognitivos. O aumento da exploração do objeto após a habituação por 5 minutos mostrou que o componente de medo/ansiedade também estava presente na triagem.

Segundo a classificação de temperamento de Cloninger, o componente Busca de Novidades é expresso em indivíduos que possuem comportamento ativo e exploratório, impulsividade, irritabilidade, curiosidade, buscam recompensa e evitam punições. Portanto, podemos dizer que nossos camundongos alto exploradores refletem esta

dimensão do temperamento. Já os camundongos baixo exploradores expressam mais o componente evitador de dano pelas características de maior ansiedade, inibição, passividade e indecisão, observadas nos testes realizados.

Os camundongos alto exploradores mostraram-se mais agressivos frente ao intruso, evitam punição condicionada (choque elétrico na esQUIVA inibitória) e são responsivos frente a estímulo apetitivo (comida). Em relação ao componente medo, evitação de dano, esse pôde ser analisado através dos testes de claro-escuro e labirinto em cruz elevado que são específicos para medir ansiedade e identificar um menor índice de ansiedade nos altos exploradores enquanto que os camundongos baixo exploradores se mostraram bastante ansiosos em ambos os testes.

Em relação à análise cognitiva destes camundongos selecionados, os alto exploradores apresentaram um melhor desempenho no teste do Labirinto de Lashley (estímulo apetitivo) e na esQUIVA inibitória (estímulo aversivo). Estes resultados nos levam a interpretar que os camundongos altos exploradores tem alta capacidade de aprendizado e memória, mas que também evitam fortemente punição condicionada e buscam prazer/recompensa.

O teste de suspensão pela cauda não foi diferente nesses dois grupos de camundongos. No entanto, esse teste, assim como o teste de nado forçado, tem apenas validade preditiva com o objetivo de identificar drogas com atividade antidepressiva.

Contrastando com os outros testes de seleção de animais para análises comportamentais vistos anteriormente, nossa estratégia para selecionar os extremos de temperamento é relativamente simples e não-estressora. Assim, os camundongos triados não têm suas respostas comportamentais alteradas devido ao procedimento de triagem em si, ao contrário de testes de triagem como a esQUIVA ativa ou comportamento agressivo.

Como nossa triagem nos possibilita acessar as emoções básicas como medo/ansiedade e raiva/curiosidade, isto nos sugere que estamos acessando um forte componente genético (Cloninger, 1999; Steimer, 2005). Assim, é possível se estudar os substratos biológicos do temperamento sem a necessidade de linhagens selecionadas psicogeneticamente.

Desta forma, de maneira simples e facilmente replicável, podemos estudar as bases neurobiológicas das emoções básicas (medo e raiva) que, quando extremadas e combinadas de maneira específica, poderiam compor a predisposição a transtornos de humor.

Relacionando as características comportamentais observadas nestes camundongos selecionados com os aspectos clínicos encontrados por Cloninger e Akiskal, podemos dizer que estes animais podem servir de modelo com validade de face para estudo de transtornos de humor unipolar e bipolar. Enquanto os camundongos alto exploradores se assemelham ao padrão de humor hipertímico, os baixo exploradores se assemelham ao temperamento depressivo (Maremmani et al, 2005). Por fim, a base genética é predominante tanto para essas características do comportamento como para os transtornos de humor, essa abordagem também apresenta validade de construção como modelo animal para os transtornos de humor.

## **Perspectivas**

- Caracterizar a contribuição de evitação de dano/medo e busca de novidades/raiva no campo aberto em relação aos tempos através da análise da exploração minuto a minuto.
- Avaliar o valor preditivo da exploração da área central do campo aberto para fármacos antidepressivos (fluoxetina, desipramina e bupropiona), estabilizadores de humor (lítio, ácido valpróico e carbamazepina) e antipsicótico (haloperidol) através de tratamento agudo e crônico.
- Estudar os parâmetros neurobiológicos associados ao medo e à raiva de modo independente analisando receptores, transportadores e enzimas dos principais sistemas neurotransmissores.



## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Arban R, Maraia G, Brackenborough K, Winyard L, Wilson A, Gerrard P, Large C. Evaluation of the effects of lamotrigine, valproate and carbamazepine in a rodent model of mania. *Behav Brain Res.* 2005; 7;158(1):123-32.
2. Akiskal HS.. The bipolar spectrum: new concepts in classification and diagnosis. In: Grinspoon, C. (Ed.), *Psychiatry Update*. American Psychiatric Press, Washington, DC, 1983; pp. 271– 291.
3. Akiskal HS, Pinto O. The evolving bipolar spectrum. Prototypes I, II, III, and IV. *Psychiatr Clin North Am.* 1999; 22(3):517-34.
4. Akiskal HS, Mendlowicz MV, Jean-Louis G, Rapaport MH, Kelsoe JR, Gillin JC, Smith TL. TEMPS-A: validation of a short version of a self-rated instrument designed to measure variations in temperament. *J Affect Disord.* 2005; 85(1-2):45-52.
5. Akiskal HS. Mood Disorders: Historical Introduction. IN: Kaplan & Sandock's *Comprehensive Textbook of Psychiatry*. Lippincott William & Wilkins. Philadelphia, USA. 2005; pp. 1559-1575.
6. Brunello N, Tacedda F. Cellular mechanisms and second messengers: relevance to the psychopharmacology of bipolar disorders. *Int J Neuropsychopharmacol.* 2003; 6(2):181-9

7. Brush FR. The Syracuse strains, selectively bred for differences in active avoidance learning, may be models of genetic differences in trait and state anxiety. *Stress*. 2003 ; 6(2):77-85.
8. Cappeliez P, Moore E. Effects of lithium on an amphetamine animal model of bipolar disorder. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 1990;14(3):347-58.
9. Chen G, Hasanat KA, Bebchuk JM, Moore GJ, Glitz D, Manji HK. Regulation of signal transduction pathways and gene expression by mood stabilizers and antidepressants. *Psychosom Med*. 1999;61(5):599-617
10. Cloninger CR, Svrakic DM, Przybeck TR. A psychobiological model of temperament and character. *Arch Gen Psychiatry*. 1993; 50 (12): 975-90
11. Chourbaji S., Zacher C., Sanchis-Segura C., Dormann C., Vollmayr B and Gass P. Learned helplessness: Validity and reliability of depressive-like states in mice *Brain Res Brain Res Protoc*. 2005; 16(1-3): 70-8.
12. Einat H, Manji HK, Belmaker RH. New approaches to modeling bipolar disorder. *Psychopharmacol Bull*. 2003; 37: 47-63.

13. Escorihuela RM, Fernandez-Teruel A, Gil L, Aguilar R, Tobena A, Driscoll P. Inbred Roman high- and low-avoidance rats: differences in anxiety, novelty-seeking, and shuttlebox behaviors. *Physiol Behav.* 1999; 67(1):19-26.

14. Eysenck, H.J.,. The definition of personality disorders and the criteria appropriate for their description. *J Personal Disord.* 1987;(1), 211-219.

15. El-Mallakh RS, El-Masri MA, Huff MO, Li XP, Decker S, Levy RS.. Intracerebroventricular administration of ouabain as a model of mania in rats. *Bipolar Disord.* 2003; 5 (5):362-5.

16. Frey BN, Fonseca MM, Machado-Vieira R, Soares JC, Kapczinski F. Neuropathological and neurochemical abnormalities in bipolar disorder *Rev Bras Psiquiatr;* 2004;26(3):180-8.

17. Gessa GL, Pani L, Fadda P, Fratta W. Sleep deprivation in the rat: an animal model of mania. *Eur Neuropsychopharmacol.* 1995; 5 Suppl:89-93.

18. Gosling, Samuel D. From mice to men: What can we learn about personality from animal research? *Psychological Bulletin.* 2001;127(1) 45-86.

19. Kabbaj M, Devine DP, Savage VR, Akil H. Neurobiological correlates of individual differences in novelty-seeking behavior in the rat: differential expression of stress-related molecules. *J Neurosci.* 2000; 20(18): 6983-8.

20. Kesebir S, Vahip S, Akdeniz F, Yuncu Z, Alkan M, Akiskal H. Affective temperaments as measured by TEMPS-A in patients with bipolar I disorder and their first-degree relatives: a controlled study. *J Affect Disord.* 2005; 85(1-2):127-33.
21. Lamberty Y, Margineanu DG, Klitgaard H. Effect of the New Antiepileptic Drug Levetiracetam in an Animal Model of Mania. *Epilepsy Behav.* 2001; 2 (5): 454-459.
22. Liebsch G, Linthorst AC, Neumann ID, Reul JM, Holsboer F, Landgraf R. Behavioral, physiological, and neuroendocrine stress responses and differential sensitivity to diazepam in two Wistar rat lines selectively bred for high- and low-anxiety-related behavior. *Neuropsychopharmacology.* 1998; 19(5):381-96.
23. Liebsch G, Montkowski A, Holsboer F, Landgraf R. Behavioural profiles of two Wistar rat lines selectively bred for high or low anxiety-related behaviour. *Behav Brain Res.* 1998 ; 94(2):301-10.
24. Machado-Vieira R, Kapczinski F, Soares JC. Perspectives for the development of animal models of bipolar disorder. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 2004; 28(2):209-24.
25. Maier W, Hofgen B, Zobel A, Rietschel M. Genetic models of schizophrenia and bipolar disorder: overlapping inheritance or discrete genotypes? *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci.* 2005; 255(3):159-66.

26. Maremmani I, Akiskal HS, Signoretta S, Liguori A, Perugi G, Cloninger R. The relationship of Kraepelian affective temperaments (as measured by TEMPS-I) to the tridimensional personality questionnaire (TPQ). *J Affect Disord.* 2005; 85(1-2):17-27.
27. Malatynska E, Knapp RJ. Dominant-submissive behavior as models of mania and depression. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews.* 2005; (29) 715-737.
28. Manji HK, Lenox RH. Signaling: cellular insights into the pathophysiology of bipolar disorder. *Biol Psychiatry.* 2000; 48(6):518- 30.
29. Niculescu AB 3rd, Segal DS, Kuczenski R, Barrett T, Hauger RL, Kelsoe JR. Identifying a series of candidate genes for mania and psychosis: a convergent functional genomics approach. *Physiol Genomics.* 2000; 4(1):83-91.
30. Overmeir JB, Seligman MEP. Effects of inescapable shock upon subsequent escape and avoidance learning. *J Comp Physiol Psychol* 1967; 63(1): 28-33.
31. Paterson A, Whiting PJ, Gray JA, Flint J, Dawson GR. Lack of consistent behavioural effects of Maudsley reactive and non-reactive rats in a number of animal tests of anxiety and activity. *Psychopharmacology (Berl).* 2001; 154(4):336-42.
32. Piazza PV, Deroche V, Deminiere JM, Maccari S, Le Moal M, Simon H. Corticosterone in the range of stress-induced levels possesses reinforcing properties:

implications for sensation-seeking behaviors. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1993; 90(24):11738-42.

33. Piazza PV, Deminiere JM, Le Moal M, Simon H. Factors that predict individual vulnerability to amphetamine self-administration. *Science*. 1989; 245(4925):1511-3.

34. Piazza PV, Deminiere JM, Maccari S, Mormede P, Le Moal M, Simon H. Individual reactivity to novelty predicts probability of amphetamine self-administration. *Behav Pharmacol*. 1990; 1(4): 339-345.

35. Porsolt RD, Anton G, Blavet N, Jalfre M. Behavioural despair in rats: a new model sensitive to antidepressant treatments. *Eur J Pharmacol*. 1978; 47(4): 379-91.

36. Post RM, Weiss SR, Leverich GS, Smith M, Zhang LX. Sensitization and kindling-like phenomena in bipolar disorder: implication for psychopharmacology. *Clin Neurosci Res*. 2001; 1(1):69-81.

37. Ray J, Hansen S. Temperament in Rat: Sex Differences and Hormonal Influences on Harm Avoidance and Novelty Seeking. *Behavioral Neuroscience*. 2004;118 (3) 488-97.

38. Richter J, Eisemann M, Richter G. Temperament and character during the course of unipolar depression among inpatients. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci*. 2000; 250(1): 40-7.
39. Shaldivin A, Kaptan A, Belmaker RH, Einat H, Grisaru N.. Transcranial magnetic stimulation in an amphetamine hyperactivity model of mania. *Bipolar Disord*. 2001; 3(1):30-4.
40. Sluyter F, Arseneault L, Moffitt TE, Veenema AH, de Boer S, Koolhaas JM. . Toward an animal model for antisocial behavior: parallels between mice and humans. *Behav Genet*. 2003; 33(5):563-74
41. Sluyter F, Korte SM, Bohus B, Van Oortmerssen GA. Behavioral stress response of genetically selected aggressive and nonaggressive wild house mice in the shock-probe/defensive burying test. *Pharmacol Biochem Behav*. 1996; 54(1): 113-6.
42. Strekalova, T Spanagel R, Bartsch D, Henn FA, Gass P Stress-induced anhedonia in mice is associated with deficits in forced swimming and exploration. *Neuropsychopharmacology*. 2004 ; 29(11):2007-17.
43. Steimer T, Driscoll P. Inter-individual vs line/strain differences in psychogenetically selected Roman High-(RHA) and Low-(RLA) Avoidance rats: neuroendocrine and behavioural aspects. *Neurosci Biobehav Rev*. 2005; 29(1): 99-112.

44. Svrakic DM, Whitehead C, Przybeck TR, Cloninger CR. Differential diagnosis of personality disorders by the seven-factor model of temperament and character. *Arch Gen Psychiatry*. 1993;50(12):991-9.

45. Svrakic, D. M., Draganic, S., Hill, K., Bayon, C., Przybeck, T. R. & Cloninger, C. R. Temperament, character, and personality disorders: etiologic, diagnostic, treatment issues. *Acta Psychiatrica Scandinavica*. 2002;106 (3), 189-195.

46. Veenema AH, Meijer OC, de Kloet ER, Koolhaas JM, Bohus BG. Differences in basal and stress-induced HPA regulation of wild house mice selected for high and low aggression. *Horm Behav*. 2003; 43(1):197-204.

47. Wilkinson LS, Mittleman G, Torres E, Humby T, Hall FS, Robbins TW. Enhancement of amphetamine-induced locomotor activity and dopamine release in nuclear accumbens following excitotoxic lesions of the hippocampus. *Behav Brain Res*. 1993; 55(2):143-50.

48. Zuckerman M. The psychophysiology of sensation seeking. *J Pers*. 1990; 58(1): 313-45. Review.



