



Universidade Federal de Pernambuco
Centro de Biociências

CRYSVANE ARAÚJO DE OLIVEIRA LIMA

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE DO
COMPOSTO LPSF/NA-7(TIAZOLIDÍNICO 3,5-DIARIL) NA CONSOLIDAÇÃO DE
MEMÓRIAS TRAUMÁTICAS EM RATOS**

**Recife
2025**

CRYSVANE ARAÚJO DE OLIVEIRA LIMA

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE DO
COMPOSTO LPSF/NA-7(TIAZOLIDÍNICO 3,5-DIARIL) NA CONSOLIDAÇÃO DE
MEMÓRIAS TRAUMÁTICAS EM RATOS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Ciências Biológicas Bacharelado da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para à obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas Bacharelado.

Orientador (a): Prof^a Dr^a Michelle Melgarejo da Rosa

Coorientador: Dr Joelson Germano Crispim

Recife,

2025

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do programa de geração automática do SIB/UFPE

Lima, Crysване Araújo de Oliveira.

Avaliação da atividade do composto LPSF/NA-7 (Tiazolidínico 3,5-diaril) na consolidação de memórias traumáticas em ratos / Crysване Araújo de Oliveira Lima. - Recife, 2025.

46 p. : il.

Orientador(a): Michelle Melgarejo da Rosa

Coorientador(a): Joelson Germano Crispim

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Biociências, Ciências Biológicas - Bacharelado, 2025.

Inclui referências, anexos.

1. Memória. 2. Cognição. 3. Trauma. 4. Tiazolidina. I. Rosa, Michelle Melgarejo da. (Orientação). II. Crispim, Joelson Germano . (Coorientação). IV. Título.

610 CDD (22.ed.)

CRYSVANE ARAÚJO DE OLIVEIRA LAIMA

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE DO
COMPOSTO LPSF/NA-7(TIAZOLIDÍNICO 3,5-DIARIL) NA
CONSOLIDAÇÃO DE MEMÓRIAS TRAUMÁTICAS EM RATOS**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Curso de Ciências
biológicas bacharelado da Universidade
Federal de Pernambuco, como requisito
parcial para obtenção do título de Bacharel
em Ciências biológicas bacharelado.

Aprovado em: 14/03/2025

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dr. Joelson Germano Crispim (Coorientador)
Universidade Federal de Pernambuco

Dr. Jeann Fabiann Branco Júnior/ Doutor em Neurofarmacologia
Universidade Federal de Pernambuco

Dr^a Isabella Luiza Ralph de Oliveira/ Doutora em Ciências Biológicas
Universidade Federal de Pernambuco

Em memória a minha avó, Vó Tila.

AGRADECIMENTOS

À minha avó, Jacira, carrego um pedaço de você comigo para sempre. Obrigada por ter feito parte da minha vida, tudo de belo que há em mim foi dos seus ensinamentos durante a sua jornada, você foi e sempre será essencial para o meu crescimento. A lembrança do seu colo acolhedor é o lugar que corro quando os dias ficam conturbados. Obrigada por tanto, vó.

Aos meus pais, Cristiano e Rosivane por terem me proporcionado ensinamentos valiosos e me dado uma vida boa e um futuro próspero. Ao meu pai por estar sempre presente e disposto a me ajudar de qualquer forma, obrigada pelo zelo e carinho. A minha mãe por toda comida feita, carinho e cuidado durante essa jornada.

Ao meu irmão, avós e tias, todo o zelo, carinho, risadas e apoio durante essa jornada foram fundamentais para essa conquista.

Ao meu companheiro de vida, Fábio, a sua ajuda e incentivo são e foram essenciais para não desistir, sei que posso contar com você para tudo que der e vier.

Agradeço aos meus amigos que fiz na faculdade e que levarei para a vida, Tonho e Bete, obrigada por toda amizade, parceria e trocas. Vocês fizeram os meus dias mais leves e ensolarados, sinto que essa finalização é nossa.

A Nico, Aurora e Tapioca, vocês são meu ponto de luz em meio a todo esse caos que se chama vida, obrigada por me adotarem e fazerem parte desse capítulo da minha vida.

Aos amigos que fiz no laboratório, a parceria de vocês durante experimentos, a hora do café, seminários e vivências no dia a dia me impulsiona a querer fazer mais ciência.

À minha orientadora, Michelle Melgarejo pelos ensinamentos, orientação e oportunidades. Escutar do seu conhecimento sobre a Neurociência me impulsiona a querer ser uma cientista melhor a cada dia. Você é brilhante!

Ao meu coorientador, Joelson Germano por me ajudar a resolver todas as pedras no caminho. Além de toda sua disponibilidade e trocas que me ajudam a crescer e me tornar uma profissional melhor.

Agradeço a Deus por me guiar e me apresentar as oportunidades que existem mundo à fora.

À Universidade Federal de Pernambuco e ao Núcleo de Pesquisa e Inovação Terapêutica -Suely Galdino (NUPIT - SG), pela estrutura, materiais e oportunidade de fazer ciência, a contribuição de vocês me ajudou a desenvolver minhas habilidades e ter experiências únicas.

Ao órgão de fomento CNPq por ajudar esse estudo a ser executado e viável.

Não podemos fazer aquilo que não sabemos como fazer, nem comunicar nada que desconheçamos, isto é, nada que não esteja na nossa memória[...] o passado, nossas memórias, nossos esquecimentos voluntários, não só nos dizem quem somos, mas também nos permitem projetar rumo ao futuro, isto é, nos dizem quem podemos ser. [...] O conjunto de memória de cada um é o que se denomina personalidade ou forma de ser [...] a coleção pessoal de lembranças de cada indivíduo é distinta dos demais, é única. [...] A identidade dos povos, dos países e das civilizações provém de suas memórias comuns (Izquierdo 2002: 9 e 10).

RESUMO

O transtorno de estresse pós-traumático (TEPT) é um distúrbio mental grave caracterizado por um medo excessivo, frequentemente desencadeado por eventos estressantes contínuos ou esporádicos. Uma abordagem terapêutica alternativa para o tratamento do TEPT é a extinção da memória de medo, que não apaga a memória traumática, mas reduz a intensidade da resposta emocional associada. Esse processo pode ser eficientemente modelado em estudos com animais. O composto tiazolidínico inédito (LPSF/NA-7), sintetizado pelo Laboratório de Planejamento e Síntese de Fármacos da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), apresenta atividade ansiolítica em modelo animal, mas seus efeitos na memória traumática ainda não foram explorados. Neste estudo, investigamos o impacto do LPSF/NA-7 sobre o enfraquecimento do traço de memória de medo em ratos, bem como seu potencial efeito ansiolítico e sua dependência das vias glutamatérgicas e dopaminérgicas. Ratos Wistar machos adultos foram submetidos ao condicionamento de medo, no qual receberam um estímulo aversivo (choque). Antes da exposição ao choque, os animais receberam administração intraperitoneal (i.p.) de PBS ou do composto LPSF/NA-7, na dose de 300mg/kg. Nos dias subsequentes, foi avaliada a extinção da memória de medo e o comportamento ansiolítico dos animais. Os resultados indicam que os animais tratados com LPSF/NA-7 apresentaram uma redução significativa no traço de memória de medo, além de um efeito ansiolítico nos testes comportamentais realizados. Esses achados sugerem que o LPSF/NA-7 pode induzir a extinção da memória de medo sem gerar respostas ansiogênicas, destacando seu potencial como uma abordagem promissora para o tratamento de transtornos relacionados ao medo.

Palavras-chave: memória; cognição; trauma; tiazolidina

ABSTRACT

Post-traumatic stress disorder (PTSD) is a severe mental disorder characterized by excessive fear, often triggered by continuous or sporadic stressful events. An alternative therapeutic approach for treating PTSD is fear memory extinction, which does not erase the traumatic memory but reduces the intensity of the associated emotional response. This process can be effectively modeled in animal studies. The novel thiazolidine compound LPSF/NA-7, synthesized by the Laboratory of Drug Design and Synthesis of the Federal University of Pernambuco (UFPE), presents anxiolytic activity in an animal model, but its effects on traumatic memory have not yet been explored. In this study, we investigated the impact of LPSF/NA-7 on fear memory traces in rats, as well as its potential anxiolytic effect and its dependence on glutamatergic and dopaminergic pathways. Adult male Wistar rats were subjected to fear conditioning, in which they received an aversive stimulus (shock). Before the shock exposure, the animals were administered an intraperitoneal (i.p.) injection of PBS or the LPSF/NA-7 compound at a dose of 300mg/kg. In the following days, we assessed fear memory extinction and anxiolytic behavior. The results indicate that animals treated with LPSF/NA-7 showed a significant reduction in fear memory traces, along with an anxiolytic effect in the behavioral tests performed. These findings suggest that LPSF/NA-7 may promote fear memory extinction without inducing an anxiogenic response, highlighting its potential as a promising approach for treating fear-related disorders.

Key words: memory, cognition, trauma, thiazolidine.

Lista de Ilustrações

- Figura 1** - Sinalização da cascata de eventos bioquímicos da formação de memória de longo prazo e curto prazo..... **19**
- Figura 2** - Esquema do condicionamento de medo contextual em ratos. A junção do estímulo condicionado com o estímulo incondicionado resulta na memória de medo nos roedores, essa memória está presente em estruturas da região límbica como a amígdala basolateral, córtex entorrinal, hipocampo e o córtex pré-frontal..... **22**
- Figura 3** - Estrutura molecular do LPSF/NA-7: 5-(4-hidroxibenzilideno) -3-(naftalen-2-ilmetil) tiazolidina-2,4-diona (LPSF/NA-7)**24**
- Figura 4** - Avaliação do congelamento (freezing) do 1º dia do teste de MCC após o treino de medo condicionado.....**29**
- Figura 5** - Análise entre o grupo controle e o grupo tratado com LPSF/NA-7 (300mg via i.p) em relação a extinção do medo condicionado contextual do primeiro dia após o teste do MCC até o último dia.....**30**
- Figura 6** - Análise da atividade exploratória e locomotora (crossing) e respostas de levantar (rearing) no teste do campo aberto.....**32**
- Figura 7** - Número de entradas e tempo gasto nos braços abertos e fechados do labirinto em cruz elevado.....**34**

Lista de Abreviações e Siglas

AMPA	α -amino-3-hidroxi-5-metil-4- isoxazolpropiónico
AMPc	Monofosfato Cíclico de Adenosina
BDNF	Brain-derived neurotrophic factor
CREB-1	cAMP response element
EC	Estímulo condicionado
EI	Estímulo incondicionado aversivo
GD	Giro denteado
IL	Infra-límbica
IL-1B	Interleucina-1 beta
IL-6	Interleucina 6
IP	Intraperitoneal
ISRS	Inibidores seletivos da recaptção de serotonina
LPSF	Laboratório de Planejamento e Síntese de Fármacos
LTP	Long term potentiation
MAPK	Mitogen-Activated Protein Kinase
MCC	Teste do medo condicionado contextual
mGlu	Metabotropic glutamate receptor
mPFC	Medial prefrontal cortex
NMDA	N-metil-D-Aspartato
PKA	Protein kinase A
PL	Pré-límbica
PPAR γ	Receptor ativado por proliferadores de peroxissoma gama
SNC	Sistema Nervoso Central
TEPT	Transtorno do Estresse Pós-traumático
TNF-	Tumor necrosis factor

Sumário

1.INTRODUÇÃO	12
2.REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	14
2.1 Transtorno de estresse pós-traumático	14
2.2 Memória	16
2.3 Consolidação de memória	17
2.4 Extinção da memória de medo	19
2.5 Medo condicionado contextual	21
2.6 Derivados Tiazolidina	23
3. OBJETIVOS	25
4.METODOLOGIA	26
4.1 Animais	26
4.2 Tratamento	26
4.3 Teste de medo condicionado contextual	26
4.4 Teste de extinção do medo condicionado contextual	27
4.5 Teste de campo aberto	27
4.6 Teste do labirinto em cruz elevado	28
4.7 Análise estatística	28
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	29
5.1 Análise da atividade do composto LPSF/NA-7 na consolidação de memórias traumáticas e na extinção de memórias traumáticas	29
5.2 Extinção do medo condicionado contextual	30
5.3 Análise ansiolítica do composto LPSF/NA-7	32
6. CONCLUSÃO	36
REFERÊNCIAS	37

1.Introdução

Sigmund Freud (1953) discutiu em suas primeiras teorias sobre a mente, que o indivíduo passa por estágios de desenvolvimento psicológico, começando pela criação de defesas inconscientes contra dor e trauma, através do afastamento dos gatilhos do sofrimento, e, finalmente, pela rejeição consciente de impulsos com o uso do julgamento. Inicialmente sua pesquisa se concentrou em como traumas e experiências dolorosas podem causar impactos duradouros e profundos na psique de um indivíduo.

Embora o estresse seja um tipo de mecanismo de defesa do ser humano e que a sua evolução seja um processo adaptativo, o estresse a longo prazo é prejudicial e pode levar a danos graves à saúde (McEwen, 2002). De acordo com a OMS (2019), o Brasil foi classificado como o país com o maior número de pessoas ansiosas no mundo, com cerca de 18,9 milhões de brasileiros apresentando transtorno de ansiedade em algum grau. Sendo assim, é válido dizer que, os transtornos mentais atuais, impactam de forma direta a qualidade de vida e a saúde mental das pessoas. O transtorno de estresse pós-traumático (TEPT) é caracterizado como um tipo de transtorno de ansiedade grave. Essa condição mental tem como particularidade, a fixação de uma memória de medo advinda de situações estressantes contínuas ou não, as quais podem ser desencadeadas no dia-a-dia ou em um momento específico na vida do indivíduo (APA, 2013). As memórias traumáticas desencadeadas pelo TEPT são permanentes na maioria das pessoas acometidas. Além do mais, transtornos mentais têm um impacto negativo na qualidade de vida das pessoas, afetando sua produtividade no trabalho, relacionamentos familiares e levando ao isolamento social (Jesulola et al., 2018). Nesse contexto, uma das abordagens promissoras para avançar no desenvolvimento de melhores ferramentas de tratamento para doenças neuro-humorais está relacionada às pesquisas sobre circuitos neurológicos e novas moléculas associadas a esses processos.

A literatura utiliza modelos animais com roedores para estudar memórias traumáticas. O teste do medo condicionado contextual (MCC) permite a indução de uma memória traumática no animal, simulando um episódio traumático vivido por uma pessoa (Gomes et al., 2010). Esse teste é amplamente utilizado para o screening de novas moléculas com potencial terapêutico para o enfraquecimento de memórias traumáticas (Davis et al., 2006; Haubrich et al., 2017; Ponomareva et al., 2023).

A hibridização molecular é uma técnica da biologia molecular que consiste na identificação de compostos bioativos através da fusão de diferentes grupos farmacofóricos, auxiliando como uma ferramenta para o desenvolvimento de novos alvos terapêuticos (Zhuang et al., 2017). Por hibridização molecular, o Laboratório de Planejamento e Síntese de Fármacos da-Universidade Federal de Pernambuco produziu o composto LPSF/NA-7. O composto LPSF/NA-7 é um derivado tiazolidínico 3,5-diaril, o qual contém em sua estrutura um grupamento naftaleno. Tal grupamento está presente em fármacos antidepressivos e ansiolíticos, como os inibidores da recaptação de serotonina e noradrenalina, à exemplo duloxetina. Estudos ainda não publicados do grupo mostram ação ansiolítica do LPSF/NA-7 em modelos animais sem apresentar efeitos tóxicos. Derivados das tiazolidina podem atuar em canais de sódio dependentes de voltagem e apresenta efetiva ação agonista no PPAR γ (Viveka et al, 2015; Pandey, Sonar e Saraf, 2016). Tais mecanismos, encontrados em fármacos anticonvulsivantes e ansiolíticos, podem induzir atividade importante no SNC.

Desta forma, este trabalho visou identificar se o derivado inédito LPSF/NA-7 apresenta atividades ansiolíticas ao minimizar memórias traumáticas induzidas pelo teste do MCC, em ratos.

1.Referência bibliográfica

1.1 Transtorno do Estresse pós-traumático

O medo é uma emoção humana única, facilmente reconhecida em indivíduos. É um estado consciente composto por elementos associativos e não associativos, causados por ameaças reais ou imaginárias. De acordo com McEwen (2002), a pressão exercida durante o cotidiano das pessoas e a forma de como conduzi-la é o que se denomina estresse. Dessa forma, o excesso de medo e estresse que pode ser induzido por questões frequentes ou não, como assaltos, violência sexual, acidentes, guerras, é denominado Transtorno do estresse pós-traumático (TEPT), visto como um tipo de distúrbio de ansiedade grave.

O TEPT está associado a consolidação de memórias aversivas e sintomas de ansiedade relacionados (Siegmund E Wotjak, 2006; Rauch et al., 2006; De quervain et al., 2009; Kaplan et al., 2018;). Exames de imagem sugerem que a amígdala e o hipocampo são estruturas encefálicas amplamente relacionadas ao TEPT (Bremner, 2007). O hipocampo está relacionado a contextualização da memória uma vez que a amígdala na formação da memória traumática, codificando e também na recuperação de memórias aversivas, além de desempenhar um papel importante nos circuitos neuronais de ansiedade, medo e respostas emocionais (Ebner et al., 2004; Carter et al., 2004; Shekhar et al., 2005; Davis, 2006).

Diferentes estudos trazem a prevalência do transtorno em diversas áreas e contextos. Um estudo realizado pela Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, demonstrou que houve um aumento na quantidade de profissionais de saúde que desenvolveram o TEPT após a pandemia da COVID-19 (Bridgland et al., 2021). Em outro estudo (Yuan et al., 2021) indicou que 18% das pessoas que foram infectadas pelo vírus também desenvolveram TEPT. Em outro contexto mais recente, envolvendo um desastre ambiental, após as enchentes que deixam famílias sem casas e algumas sem seus entes queridos, uma pesquisa feita pelo Hospital das Clínicas de Porto Alegre (HCPA) em 2024, revelou que 42% dos gaúchos desenvolveram sintomas do transtorno, 778 de 1.846 dos participantes foram entrevistados e a maioria possuíam sinais clínicos de modo grave do transtorno (Hauck, 2024).

O TEPT é mais prevalente em mulheres do que em homens, em uma porcentagem de 1% a 14% da população (Santos et al., 2021; Coelho et al., 2023). É um tipo de transtorno mental multifatorial, isto é, a interação de fatores biológicos,

sociais e psicológicos contribuem para o seu desenvolvimento (Martins-Monte Verde, Padovan e Juruena, 2017). Os fatores de risco são classificados em três categorias, o primeiro está vinculado a um trauma prévio, como violência sexual. O segundo se refere a gravidade daquele evento traumático, também chamado de peri traumático, são fatores que foram ligados a ameaça a vida daquele indivíduo. O terceiro condiz com traumas que são manifestados após o trauma, como respostas emocionais negativas, falta de apoio familiar, desenvolvimento de estresses agudos (Martins-Monte Verde, Padovan e Juruena, 2017).

Mudanças em estruturas funcionais do encéfalo que estão atreladas a aprendizagem e a memória de medo são visíveis na fisiopatologia do TEPT. Em Karl e colaboradores (2006), foi relatado que existe uma diminuição do hipocampo, da amígdala, do corpo caloso e do córtex pré-frontal em pacientes que tiveram um evento traumático durante a sua vida e daqueles que não tiveram, foram feitos exames de imagem para a visualização. Além disso, o aumento de citocinas pró-inflamatórias e a interação delas com as regiões já mencionadas, são mais frequentes em indivíduos com TEPT, como a liberação de Interleucina-6 (IL-6) interleucina-1 beta (IL-1 β) e o fator de necrose tumoral alfa e (TNF- α), essa liberação diminui a formação da neurogênese no cérebro, evento importante para a formação de novos neurônios (Michopoulos et al., 2017; Cardoner et al., 2024). Alterações no sistema neuroendócrino também foram identificadas, como, por exemplo, o stress, que provoca alterações nos níveis de glicocorticóides modificando a liberação de glutamato, neurotransmissor excitatório importante para a memória, nas áreas cerebrais discutidas (Lowy et., 1993; Cardoner et al., 2024).

A sintomatologia do TEPT está relacionada a sintomas físicos e mentais, que podem ocorrer logo após o evento ou depois de alguns meses. A apresentação clínica desses sintomas pode ser aguda, se manifestando um mês ou três meses após a exposição traumática; Ou tardia, em que após seis meses os sintomas são visíveis (Martins-Monte Verde, Padovan e Juruena, 2017).

Os sinais mais comuns do TEPT e que são sinalizados como de risco estão agrupados em quatro tipos: 1 - revivência do evento traumático 2 - evitação de situações, lugares ou pessoas que lembrem a memória do trauma; 3 - pensamentos intrusivos; 4 - hiperexcitação. A revivência do evento traumático se caracteriza por flashbacks do episódio traumático, em que o indivíduo pode reviver lembranças, pensamentos que causam angústia e até sintomas físicos, como taquicardia,

ansiedade, calafrios. Os sintomas relacionados a evitação podem ser aqueles em que a pessoa não irá frequentar ambientes ou interromper de vez situações que lembram o trauma, como evitar andar de carro, passar por alguma rua e/ou casa, onde tenha acontecido o acidente, é um tipo de sintoma em que a mudança de rotina do indivíduo está em questão. A raiva e o estresse, além de sustos constantes, comportamentos e ideias suicidas ou que levem a risco de vida são sintomas que representam a hiperexcitação (Pacella et al., 2013; Carmassi et al., 2020; Schrader e Ross, 2021).

1.2. Memória

Memórias são fatos consolidados do passado, representam o que somos no presente e espelham o que seremos no futuro. Todas as nossas vivências, conquistas e lembranças são parte de um processo cognitivo que envolve interações com um emaranhado de redes neurais específicas. Logo, o resultado de tudo aquilo que foi aprendido gera o registro de forma permanente ou fluída das informações adquiridas e que molda todo o conjunto do ser (Izquierdo, 2002).

A memória possui divisões que permitem uma melhor organização e diferenciação em relação ao tempo e conteúdo. Elas podem ser classificadas em memórias de curto prazo ou imediatas, a qual está atrelada em armazenar informações de forma rápida, elas são formadas, mas facilmente esquecidas. As memórias de longa duração armazenam informações por mais tempo, meses e anos. Memórias que podem durar uma vida toda, são conhecidas como remotas (McGaugh e Izquierdo, 2000; McGaugh 2000; Izquierdo, 2002).

Ao ser lembrado de fatos ou eventos ocorridos, podemos classificar a memória também em declarativa ou não-declarativa. A memória declarativa se ramifica em semânticas e episódicas. Nessa linha, a memória episódica é tudo aquilo que participamos no passado, eventos, viagens, festas, ou seja, estão ligadas ao tempo. A memória semântica é o presente, referente a conhecimentos que o indivíduo adquiriu durante a vida (Izquierdo, 2002). As memórias não-declarativas estão ligadas aos hábitos, ligadas às habilidades motoras e sensoriais (Frank e Landeira-Fernandes, 2006; Izquierdo, 2002).

A memória não é algo estático e vinculado a apenas um local ou estrutura, as relações de redes neurais tornam a memória um sistema, e dentro dele ocorre o processamento de etapas como codificação, consolidação e evocação de informações. Na codificação ocorre toda a organização das informações adquiridas

para que elas sejam armazenadas. A consolidação é a etapa em que toda a informação adquirida é fixada, é nessa fase que pode ocorrer interrupções de agentes farmacológicos ou outras memórias. A evocação é o momento de acessar ou recordar aquela memória armazenada (Izquierdo, 2000).

1.3. Consolidação de memória

O processo de aprendizado de novas informações pode ser classificado em dois tipos principais de memória: a processual e a declarativa. Ambas pertencem à categoria de memória de longo prazo, ou seja, envolvem mecanismos que armazenam e recuperam fatos, eventos e dados. Para que uma memória instável se torne duradoura, o sono é considerado um fator essencial, pois fortalece a informação e a organiza dentro de redes de memória já existentes (Girardeau & Zugaro, 2011).

A consolidação da memória ocorre em três etapas fundamentais: codificação, armazenamento e recuperação (Squire et al., 2015). A codificação é o primeiro estágio, no qual a informação adquirida é transformada em memória armazenada. Esse processo é crucial para a eficiência da aprendizagem (Kandel et al., 2014). Vários fatores influenciam a codificação, incluindo o volume e a complexidade do conteúdo a ser aprendido. Informações extensas ou pouco familiares podem dificultar esse processo. Além disso, fatores ambientais, como o estado emocional do indivíduo, a presença de ruídos, luzes intensas e variações extremas de temperatura, também podem interferir na codificação da memória (Kandel et al., 2014).

O armazenamento, por sua vez, é um mecanismo ativo que estabiliza a memória, permitindo a seleção, organização e preservação das informações codificadas (Kandel et al., 2014). As memórias armazenadas possuem tanto aspectos quantitativos, diferenciando-se entre memórias de curto e longo prazo, quanto qualitativos. Segundo a literatura, a consolidação da memória não ocorre apenas uma vez; ela pode ser reativada em determinados contextos, um processo denominado reconsolidação (Kandel et al., 2014; Haubrich & Machado, 2017). Durante a reconsolidação, informações previamente processadas podem ser acessadas, permitindo que lembranças e reconhecimentos sejam evocados. Esse processo é particularmente relevante para a manipulação farmacológica, sendo possível bloquear memórias indesejáveis, como as associadas ao medo (Haubrich & Machado, 2017). Estudos sugerem que inibidores da síntese proteica podem interromper a estabilização da memória quando administrados logo após a recuperação da

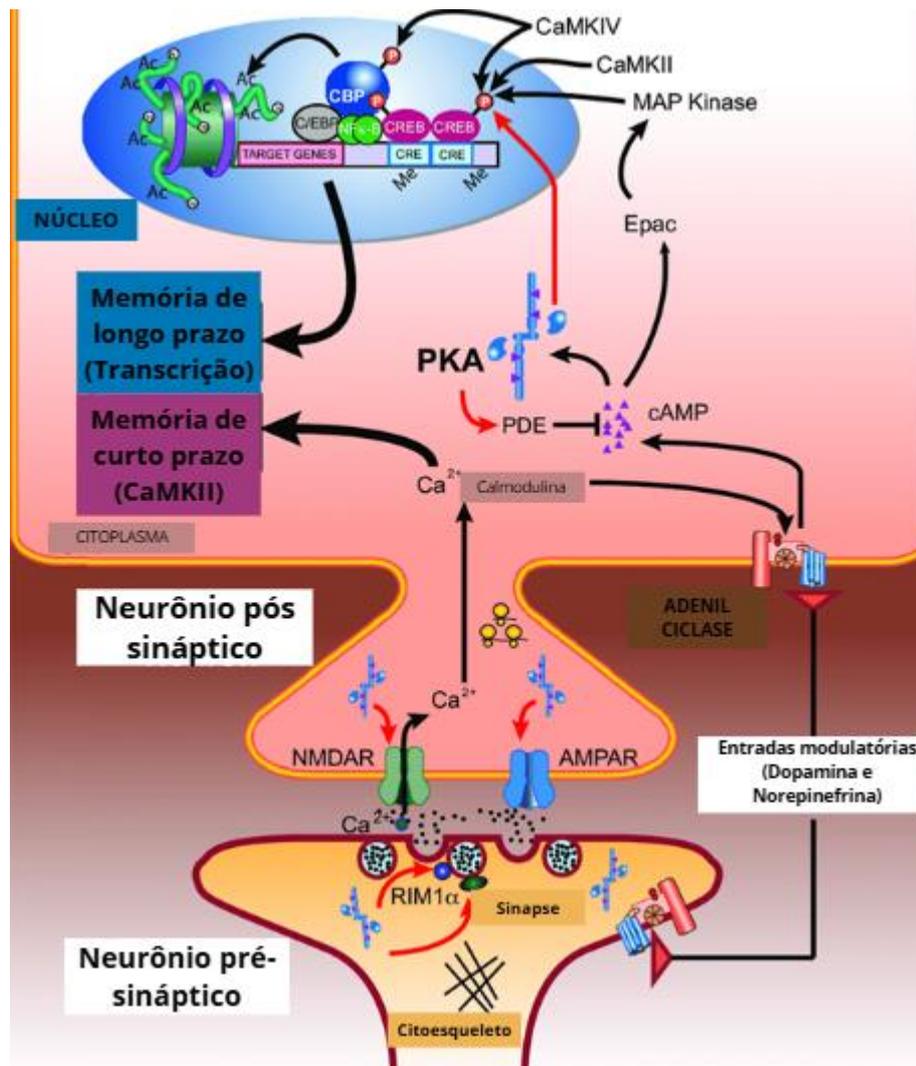
informação, embora os mecanismos envolvidos ainda não sejam totalmente compreendidos (Lee et al., 2014; Kandel et al., 2014).

Em nível molecular, a consolidação da memória de longo prazo depende da síntese de proteínas e da ativação de genes envolvidos na conectividade sináptica. Fatores como inibidores da síntese proteica, estresse intenso e certos fármacos podem interferir nesse processo (Alberini, 2005). Estudos demonstram que memórias de curto e médio prazo são armazenadas por um período relativamente breve, durando de minutos a horas, enquanto as de longo prazo podem persistir por semanas ou meses (Castellucci et al., 1978; Carew et al., 1979; Kandel et al., 2014).

Pesquisas revelaram que a consolidação da memória de longo prazo requer síntese proteica e expressão gênica.

Do ponto de vista bioquímico, a consolidação da memória requer uma cascata de sinalização molecular. O primeiro passo envolve a ativação de receptores glutamatérgicos, como o N-metil-D-aspartato (NMDA), o ácido α -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazol-propiónico (AMPA) e os receptores metabotrópicos de glutamato (mGluR), levando a um aumento na liberação intracelular de cálcio (Ca^{2+}). Esse aumento ativa diversas enzimas, como a proteína quinase II dependente de cálcio-calmodulina (CaMKII), a fosfolipase C e a proteína quinase C (PKC), que amplificam a liberação de glutamato. A ativação sustentada dessas vias leva à indução da proteína quinase A (PKA) e das proteínas quinases ativadas por mitógenos (MAPK), que regulam fatores de transcrição como CREB, responsáveis pela expressão de genes essenciais para a plasticidade sináptica, incluindo c-Fos e Arc (Figura 1). Além disso, a síntese do fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) desempenha um papel central na manutenção da plasticidade sináptica, contribuindo para a consolidação da memória (Izquierdo & McGaugh, 2002; Roesler & McGaugh, 2010).

Figura 1. Sinalização da cascata de eventos bioquímicos da formação de memória de longo prazo e curto prazo.



Fonte: (Adaptada de Hawk, 2011)

1.4. Extinção da memória de medo

O termo “engrama” foi introduzido por Richard Semon no século XX para descrever como a memória é armazenada de forma mais permanente no cérebro. A memória é armazenada em células de engramas, ou seja, conjuntos de neurônios e elas são importantes para a recuperação da memória e essa recuperação pode acarretar a extinção ou reconsolidação dela (Josselyn e Tonegawa., 2020, Ortega de San-Luis e Ryan, 2022). Dessa forma, a extinção de uma memória é o processo no qual uma resposta em que foi condicionado após a utilização de um estímulo aversivo, é diminuída de forma gradual (Garelick e Storm, 2005). Essas respostas

condicionadas são diminuídas através da consolidação de memórias inibitórias, que consiste em elaborar novas memórias por meio de treinamentos utilizando roedores no mesmo ambiente no qual houve o trauma, porém sem o estímulo traumático.

Na literatura, há diferentes abordagens para investigar a redução da memória do medo associada a traumas. No contexto do TEPT, uma estratégia amplamente estudada é a extinção da memória traumática, que não implica em seu esquecimento, mas sim na diminuição da resposta emocional associada ao trauma (Kaplan et al., 2018). Estudos recentes avançaram no entendimento desse processo, demonstrando que áreas encefálicas envolvidas na consolidação da memória, como a amígdala e o hipocampo, também participam de sua extinção. O córtex pré-frontal medial (mPFC), responsável pela tomada de decisões e regulação emocional, desempenha um papel central nesse mecanismo. Especificamente, a região pré-límbica (PL) está associada à expressão do medo, enquanto a região infra-límbica (IL) contribui para sua supressão (Quirk e Mueller., 2008; Arihara et al., 2023)

A inativação do IL durante tarefas de condicionamento ao medo compromete tanto a aquisição quanto a recuperação da memória de extinção (Marek et al., 2018). Além disso, a infusão de BDNF na IL do mPFC auxilia na supressão da memória do medo, reforçando a ideia de que a plasticidade sináptica nessa região está diretamente relacionada ao processo de extinção do medo (Peters et al., 2010; Edelman et al., 2013; Fitzgerald et al., 2014). Estudos utilizando optogenética e mapeamento de engramas (Kheirbek et al., 2013; Bernier et al., 2017; Denny et al., 2014; Cazzulino et al., 2016) demonstram que o giro denteado (GD), especialmente sua porção dorsal, desempenha um papel crucial na formação de memórias contextuais (Kheirbek et al., 2013).

O silenciamento dessa região durante tarefas de medo condicionado sugere que o GD é essencial para a aquisição e evocação da memória do medo (Bernier et al., 2017). A marcação de circuitos neuronais por meio de engramas revelou a existência de traços de memória que se estendem do GD dorsal até a região CA3 do hipocampo (Denny et al., 2014; Cazzulino et al., 2016). Essa interação contribui para o entendimento dos circuitos envolvidos na resposta ao medo condicionado. Além disso, os receptores de glutamato desempenham um papel fundamental no processo de extinção do medo. Como a extinção envolve a plasticidade sináptica na modulação das respostas condicionadas, os receptores NMDA e AMPA são fundamentais para

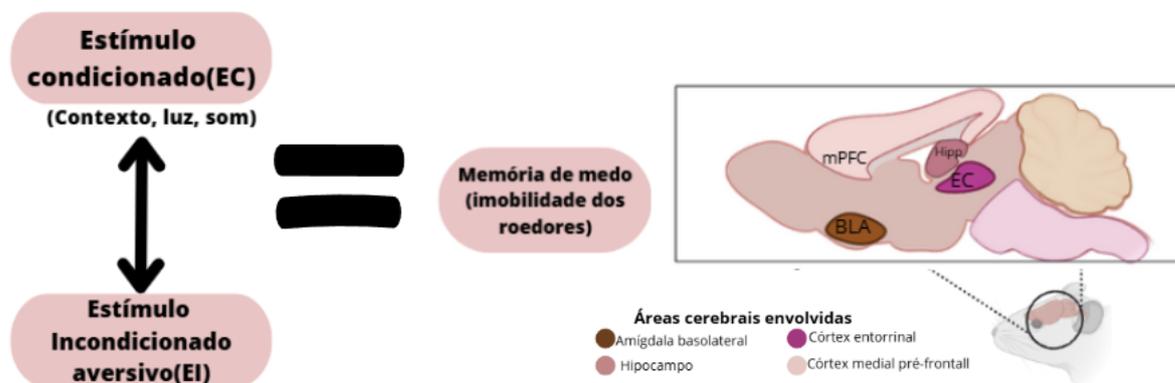
esse processo. O bloqueio dos receptores NMDA dificulta a extinção da memória do medo, evidenciando sua importância na modulação e reorganização das conexões sinápticas associadas a essa memória (Sotres-Bayon, 2007).

1.5. Medo Condicionado Contextual

Modelos animais com roedores e camundongos são amplamente utilizados para investigar os processos sinápticos e moleculares envolvidos no TEPT, permitindo a reprodução de traumas que resultam em memórias de medo.

O condicionamento pavloviano do medo consiste em um paradigma de aprendizagem associativa no qual um estímulo condicionado (EC), como um contexto, luz ou som, é associado a um estímulo incondicionado aversivo (EI), como um choque elétrico, recompensa ou omissão de recompensa. Essa associação EC-EI leva à formação de uma memória de medo, avaliada por meio da resposta de imobilidade ("freezing") dos roedores no dia do teste, realizado 24 horas após a experiência traumática (Lovibond, 2004; Chang et al., 2009). A extinção desse condicionamento ocorre quando o animal é repetidamente exposto ao EC na ausência do EI, levando à formação de um novo aprendizado e reduzindo a associação inicial de medo. Esse teste é amplamente empregado não apenas para investigar estratégias que minimizem a consolidação de memórias traumáticas, mas também para estudar a atividade neurológica envolvida na resposta a conflitos (Curzon, Rustay e Browman, 2009).

Figura 2. Esquema do condicionamento de medo contextual em ratos. A junção do estímulo condicionado com o estímulo incondicionado resulta na memória de medo nos roedores, a qual está presente em estruturas da região límbica como a amígdala basolateral, córtex entorrinal, hipocampo e o córtex pré-frontal.



Fonte: A autora, (2025).

As respostas comportamentais observadas nesse modelo, como aumento da frequência cardíaca, congelamento, liberação de hormônios do estresse e elevação da pressão arterial, são comparáveis às reações observadas em indivíduos com TEPT. Assim, o condicionamento pavloviano permite a investigação dos mecanismos neurobiológicos do transtorno em modelos animais (Schafe et al., 2001; Gomes et al., 2010; Rubenstein et al., 2024).

Os circuitos cerebrais envolvidos no medo condicionado e no medo condicionado contextual apresentam semelhanças com aqueles observados em humanos com TEPT. A ativação da amígdala, especialmente sua região basolateral, desempenha um papel central na resposta ao medo condicionado, impulsionada pela ativação de receptores NMDA que projetam sinais para o núcleo da amígdala (Plas et al., 2024). No medo condicionado contextual, a participação dos receptores NMDA é mais evidente no hipocampo, onde ocorre a integração das informações contextuais e sua comunicação com a amígdala basolateral e seu núcleo (LeDoux, 2000; Plas et al., 2024).

A exposição ao medo induz a formação de uma memória forte e duradoura devido ao seu armazenamento em regiões específicas do cérebro, como a amígdala basolateral e o hipocampo. Esse processo envolve a potenciação de longa duração

(LTP), um mecanismo persistente de plasticidade sináptica essencial para a consolidação dessas memórias (Abraham et al., 2019).

Dada a relevância dos circuitos neurais envolvidos no medo condicionado e na extinção de memórias traumáticas, o teste de medo condicionado contextual e o teste de extinção representam ferramentas valiosas para a investigação de novas abordagens terapêuticas para o TEPT. Esses modelos permitem avaliar o impacto de intervenções farmacológicas na modulação da plasticidade sináptica, especialmente nas regiões da amígdala basolateral, hipocampo e córtex pré-frontal medial. Além disso, possibilitam a identificação de compostos que promovam a extinção da memória de medo sem comprometer outras funções cognitivas. Assim, o uso desses paradigmas experimentais pode contribuir significativamente para o desenvolvimento de novos fármacos capazes de reduzir os sintomas do TEPT, oferecendo alternativas mais eficazes e com menos efeitos adversos em comparação aos tratamentos atuais.

1.6. Derivados Tiazolidina

A literatura discute que os tratamentos farmacológicos utilizando inibidores seletivos da recaptção de serotonina (ISRS), entre eles a sertralina e fluoxetina, podem ajudar a reduzir os sintomas emocionais do TEPT (Einstein, Jorge e Lima, 2009). Mas o tratamento farmacológico não é responsivo a todos pacientes. Desta forma, novas alternativas são constantemente estudadas.

A Tiazolidina é um anel heterocíclico pentâmero que possui um largo espectro de atividades biológicas, tais como antimicrobiana, anticâncer, antidiabética, antioxidante e anti-inflamatória (Sucheta et al., 2017; Sahiba, et al 2020). Os derivados tiazolidínicos vem ganhando notoriedade no planejamento de fármacos que apresentam variadas ações já conhecidas no sistema nervoso central, como anticonvulsivante, antipsicótica, analgésica, hipnótica e anti-amnésica (Verma e Saraf, 2008).

Figura 3. Estrutura molecular do LPSF/NA-7 (5-(4-hidroxibenzilideno)-3-(naftalen-2-ilmetil) tiazolidina-3,5-diona)



Fonte: (Branco-Junior, 2022)

O composto LPSF-/NA-7 é um derivado tiazolidínico que foi sintetizado pelo Laboratório de Planejamento e Síntese de Fármacos (LPSF/UFPE) e teve sua atividade anticonvulsivante comprovada em modelos animais (Branco-Junior, 2022).

Compostos tiazolidínicos podem modular canais de sódio dependentes de voltagem e apresentam efetiva ação agonista no receptor PPAR γ , (Viveka et al, 2015; Pandey, Sonar e Saraf, 2016). O naftaleno é uma estrutura amplamente conhecida, resultante da conjugação de dois anéis benzeno, e mostrou-se como um grupo hidrofóbico com grande potencial neuroativo. Estudos recentes com esse grupo farmacofórico demonstraram sua capacidade de diminuir a frequência de desencadeamento de crises e minimizar fatores pró-epileptogênicos, como a inflamação, através da inibição de canais de sódio NMDA e ação imunomoduladora através da ligação ao receptor PPAR γ (Kerru et al, 2018; Makar, Saha e Singh, 2019). Dessa forma, a hibridização do núcleo ou tiazolidínico com outros núcleos farmacofóricos, como o naftaleno, pode levar a obtenção de moléculas mais eficazes com potencial ação multi alvo, capazes de promover a redução dos sintomas de ansiedade através da modulação de diferentes vias de sinalização. O composto LPSF-/NA-7 apresenta tais características estruturais e desta forma, explorar os efeitos de LPSF-/NA-7 em modelos animais de TEPT pode contribuir com a descoberta de novas moléculas a distúrbios emocionais.

2.Objetivos

2.1 Objetivo geral

- Identificar se o derivado LPSF/NA-7 é capaz de enfraquecer o traço de memória traumática e ter atividade ansiolítica em ratos.

2.2 Objetivos específicos

- Analisar se o composto LPSF/NA-7 facilita a extinção de memórias traumáticas;
Verificar se o composto LPSF/NA-7 apresenta atividade ansiolítica;

3. Metodologia

3.1 Animais

Foram utilizados ratos machos (4–6 semanas), de 300-400g, fornecidos pela Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), que foram mantidos em um biotério climatizado sob temperatura constante de 22°C a 27°C, o número total de animais foram 15, em que 8 foram utilizados para o grupo de tratamento e 7 para o grupo controle. A equipe fez o necessário para minimizar o desconforto ou sofrimento dos animais submetidos aos procedimentos experimentais, seguindo a Lei nº 11.794/2008, que condiz com Políticas sobre o Uso de Animais e Seres Humanos em Pesquisas em Neurociências (Processo 0079/2023). Os experimentos foram conduzidos após o processo de aprovação do comitê de ética animal da Universidade Federal de Pernambuco.

3.2 Tratamento

O composto LPSF-/NA-7 na dose de 300mg/kg (Branco-Junior, 2022), foi administrado pela via intraperitoneal (i.p) imediatamente após o treino da tarefa de medo condicionado. O composto foi dissolvido em PBS e Tween 80, 20%. Os animais controles receberam PBS 20% pela via i.p. imediatamente após o treino na tarefa de medo condicionado contextual.

3.3 Teste de medo condicionado contextual

O experimento foi executado em duas etapas, a primeira foi o dia do treino e a outra foi o dia do teste. Como estabelecido por Rosa et al. (2012), o teste de medo condicionado contextual (MCC) foi realizado em um aparelho formado por barras de metal no chão condutoras de corrente elétrica (EC). Nesse teste ocorreram duas etapas gerais: treinamento do medo condicionado e análise de retenção da memória após 24 horas. No treino, o roedor foi deixado livre para explorar o espaço do aparato por 3 minutos (EC). Depois, foram disparados três choques com uma corrente elétrica de 0,6 mA por 1 segundo, e 30 segundos de intervalo/choque (EI) (Ferreira et al., 2022), com intuito de induzir uma memória traumática naquele animal. Após o último pareamento EI-EC, os animais permaneceram por 60 segundos antes de retornar a sua gaiola. O teste para análise de retenção da memória ocorreu 24 horas após o

treino e a resposta de imobilidade dos animais foi quantificada como parâmetro de memória aversiva, ou seja, uma memória de medo.

3.4 Teste de extinção do medo condicionado contextual

O teste de extinção do medo condicionado contextual foi realizado 24 horas após o teste de MCC e foi realizado no mesmo aparelho utilizado no referido experimento. O teste consistiu em deixar o animal por 6 minutos no aparelho, porém sem o choque. A retenção de memória foi avaliada pelo comportamento de imobilidade do animal. Quanto maior o tempo de imobilidade, maior a retenção da memória, ou seja, maior é a capacidade do animal de lembrar da situação aversiva. Este teste é muito utilizado para verificar se compostos facilitam a consolidação de memórias contextuais.

- Extinção do medo condicionado contextual: por 4 dias consecutivos os animais foram observados conforme a resposta de imobilidade frente ao contexto, na ausência do EI, por 6 minutos. O teste de extinção avalia se compostos auxiliam na formação de novas memórias contextuais, mas não aversivas. Quanto menor o número de congelamentos ao longo dos dias, mais forte é o indício de que o animal aprendeu uma nova associação que não necessariamente aquela do EC-EI. Este teste é muito utilizado para análise de alternativas para memórias aversivas, memórias traumáticas.

3.5 Teste de campo aberto

Após o teste do MCC, os animais foram submetidos aos testes de campo aberto e labirinto em cruz elevada. No teste de campo aberto, o comportamento ansioso foi avaliado com base na atividade locomotora e exploratória dos roedores. O aparato de 72 x 72 cm é dividido em quadrantes no assoalho, permitindo a análise comportamental dos animais. O tempo de exposição ao aparato foi de 5 minutos (Hall, 1934). O teste do campo aberto avalia respostas de crossing (número de cruzamentos pelos quadrantes), rearing (respostas de levantar do animal) e tempo que o animal fica no centro do aparato. Os dois últimos são utilizados como análise da resposta ansiolítica de compostos administrados nos animais. O número de crossing avalia atividade locomotora de animais, muitas vezes influenciada pela administração de compostos (Archer, 1973).

3.6 Teste do labirinto em cruz elevado

Após o teste de campo aberto, os animais foram avaliados no teste de labirinto em cruz elevado. Este teste ocorreu em um aparelho suspenso do chão, com dois braços abertos e dois braços fechados. Os animais foram colocados, individualmente no aparelho, de frente para um braço fechado. Os ratos ficaram livres por 5 min, enquanto os seguintes parâmetros foram registrados: número total de entradas nos braços abertos e fechados, número de entradas em braços abertos e tempo gasto em cada braço. Uma entrada foi definida como cruzar os limites do braço com as quatro patas. A maior permanência em braços fechados e alteração nos valores de cruzamentos, sinalizam respostas ansiosas (Handley e Mithani, 1984).

3.7 Análise estatística

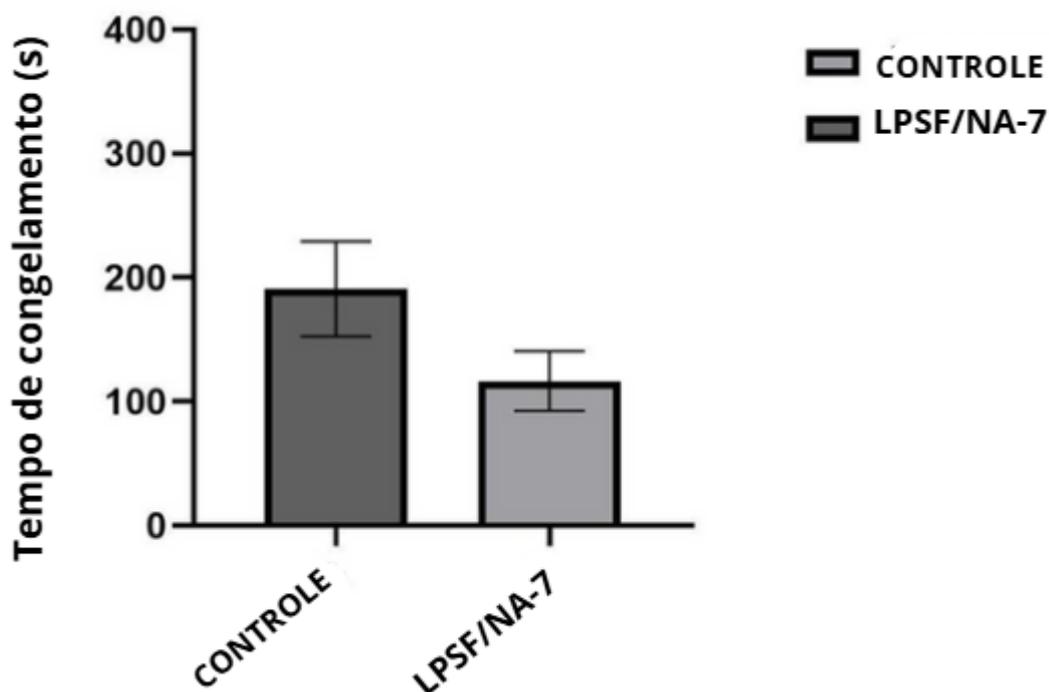
Para a análise estatística e a verificação de possíveis diferenças entre o grupo tratado e o controle, foi utilizado o teste “T” do Student não-pareado para amostras independentes, quando a distribuição foi gaussiana. Para a avaliação de dois fatores independentes, foi utilizada a ANOVA de duas vias. Os valores são mostrados como desvio padrão (Média \pm DP), $P < 0,05$ foi aceito como um valor significativo. O software utilizado para as análises foi o GraphPad Prism 10.

4. Resultados e Discussão

4.1 Análise da atividade do composto LPSF/NA7 na consolidação e extinção de memórias traumáticas

O presente estudo propôs analisar se o tratamento com o LPSF/NA-7 foi efetivo em relação à extinção da memória de medo e também avaliar a sua atividade ansiolítica em testes comportamentais. O teste de MCC foi realizado 24h após o treino. A imobilidade dos animais, o tempo de congelamento (freezing) foi utilizada como um parâmetro de memória aversiva nos animais. Observou-se que a administração i.p do composto LPSF/NA7 no dia 1 não alterou a consolidação da memória aversiva dos animais (figura 4) (Teste T).

Figura 4. Avaliação do congelamento (freezing) do 1º dia do teste de MCC após o treino de medo condicionado.



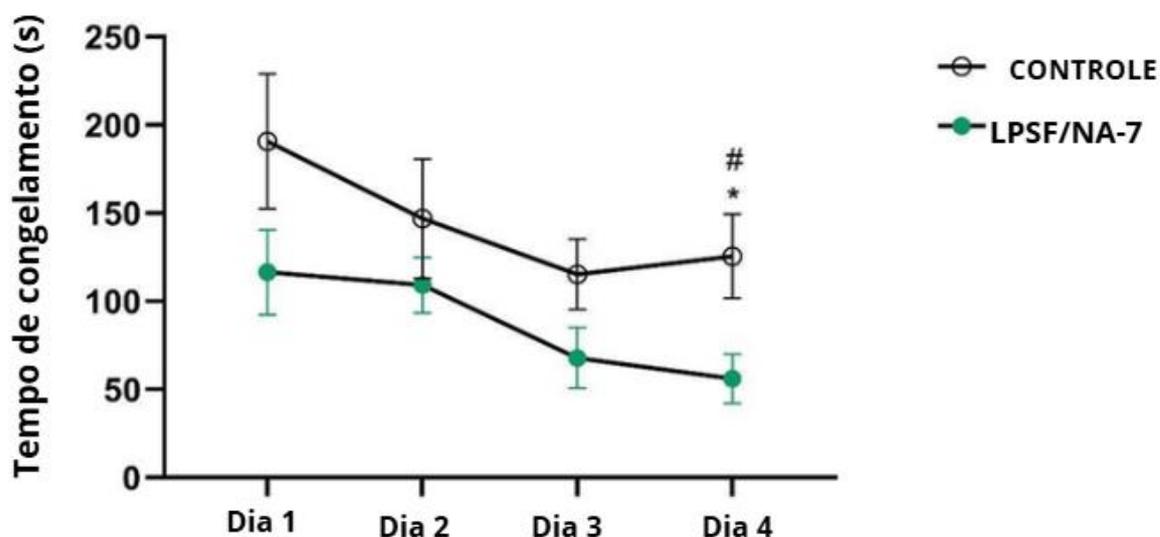
Os dados do gráfico são da média \pm o desvio padrão de um experimento independente ($p > 0,10$).

4.2 Extinção do medo condicionado contextual

A Figura 5 apresenta a resposta de congelamento (freezing) dos animais ao longo de quatro dias consecutivos de teste. O teste de extinção da memória contextual avalia se uma nova memória é consolidada, permitindo que o animal aprenda que o contexto previamente associado ao estímulo aversivo não representa mais uma ameaça. Para isso, os animais são expostos ao mesmo ambiente durante quatro dias consecutivos, sem a apresentação do estímulo incondicionado (choque), apenas do estímulo condicionado.

A análise de variância, Two-Way ANOVA, detectou um enfraquecimento da memória aversiva ao longo dos dias do teste de extinção de MCC, principalmente no último dia (4º dia) em que foi analisado o congelamento nos animais, quando comparada a resposta do controle (* $p < 0,02$; $F = 3,72$), e também aos dias seguintes da extinção, no 4º dia (# $p < 0,001$; $F = 1,72$).

Figura 5. Análise entre o grupo controle e o grupo tratado com LPSF/NA-7 (300mg via i.p) em relação a extinção do medo condicionado contextual do primeiro dia após o teste do MCC até o último dia.



Os dados do gráfico são da ANOVA de duas vias seguida por Turkey como test *post hoc* (* $p < 0,02$ em relação ao grupo controle e # $p < 0,001$ em relação aos dias, 4º dia; $F = 3,72$)

Há pouca relação na literatura de compostos tiazolidínicos e consolidação de memória. Bem como, há pouca explicação sobre o possível mecanismo de ação destes compostos.

Um estudo prévio do grupo demonstrou que nosso composto apresenta ligação preditiva a receptores GABAérgicos (Branco-Junior, 2022). A análise *in silico* por docking molecular indicou afinidade do composto LPSF/NA-7 pelos receptores GABAA. O ácido gama-aminobutírico (GABA) é o principal neurotransmissor inibitório do SNC, desempenhando um papel essencial na neuromodulação e na homeostase neuronal. A sinalização via GABA está diretamente envolvida na farmacologia de distúrbios como ansiedade, epilepsia e insônia (Perucca et al., 2023; Greenblatt e Greenblatt, 2018).

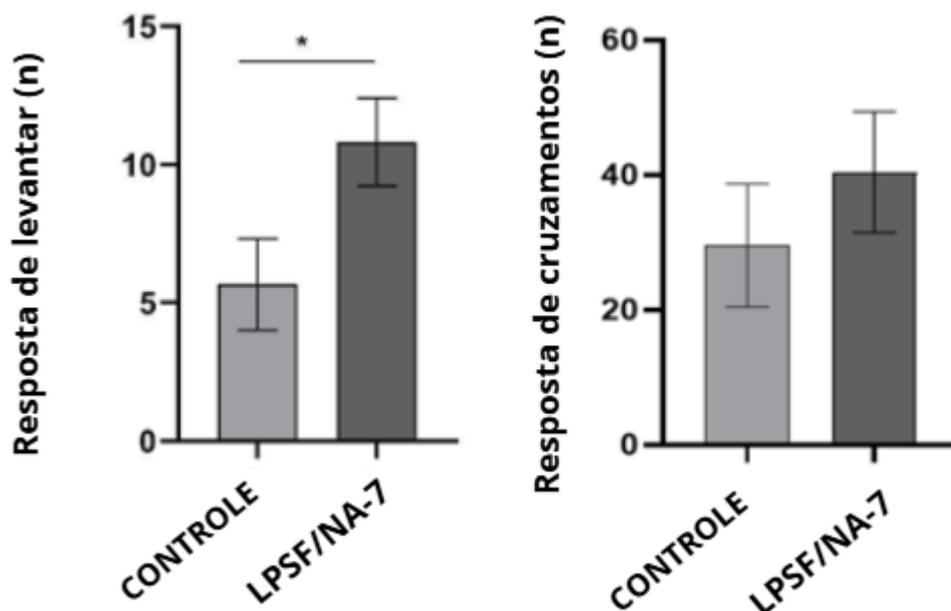
Os derivados da tiazolidina-2,4-diona constituem uma classe de compostos heterocíclicos de cinco membros, contendo enxofre e nitrogênio em sua estrutura. Esses compostos têm sido amplamente estudados devido às suas diversas atividades farmacológicas, incluindo propriedades anti-inflamatórias, antitumorais, antidiabéticas e antiparasitárias (Cleiton, 2011).

Muitos derivados da tiazolidina-2,4-diona atuam como agonistas dos receptores ativados por proliferadores de peroxissoma gama (PPAR- γ). A ativação desses receptores nucleares regula a transcrição de genes envolvidos no metabolismo de glicose e lipídios, bem como na modulação de respostas inflamatórias. Por exemplo, as tiazolidinedionas, uma subclasse desses derivados, são utilizadas no tratamento do diabetes mellitus tipo 2 devido à sua capacidade de aumentar a sensibilidade à insulina (Silva, 2013).

Embora a maioria das pesquisas sobre derivados tiazolidínicos se concentre em áreas como inflamação e metabolismo, há evidências sugerindo seu potencial impacto em processos neurobiológicos. A ativação dos receptores PPAR- γ tem sido associada à neuroproteção, possivelmente devido à redução de processos inflamatórios no sistema nervoso central. No entanto, estudos específicos sobre o efeito desses compostos na memória ou em funções cognitivas ainda são limitados (Bordet et al., 2006). Pesquisas adicionais são necessárias para esclarecer o papel dos derivados tiazolidínicos em processos neurobiológicos e sua possível aplicação em distúrbios cognitivos.

4.3 Análise ansiolítica do composto LPSF/NA-7

Figura 6. Análise da atividade exploratória e locomotora (crossing) e respostas de levantar (rearing) no teste do campo aberto.



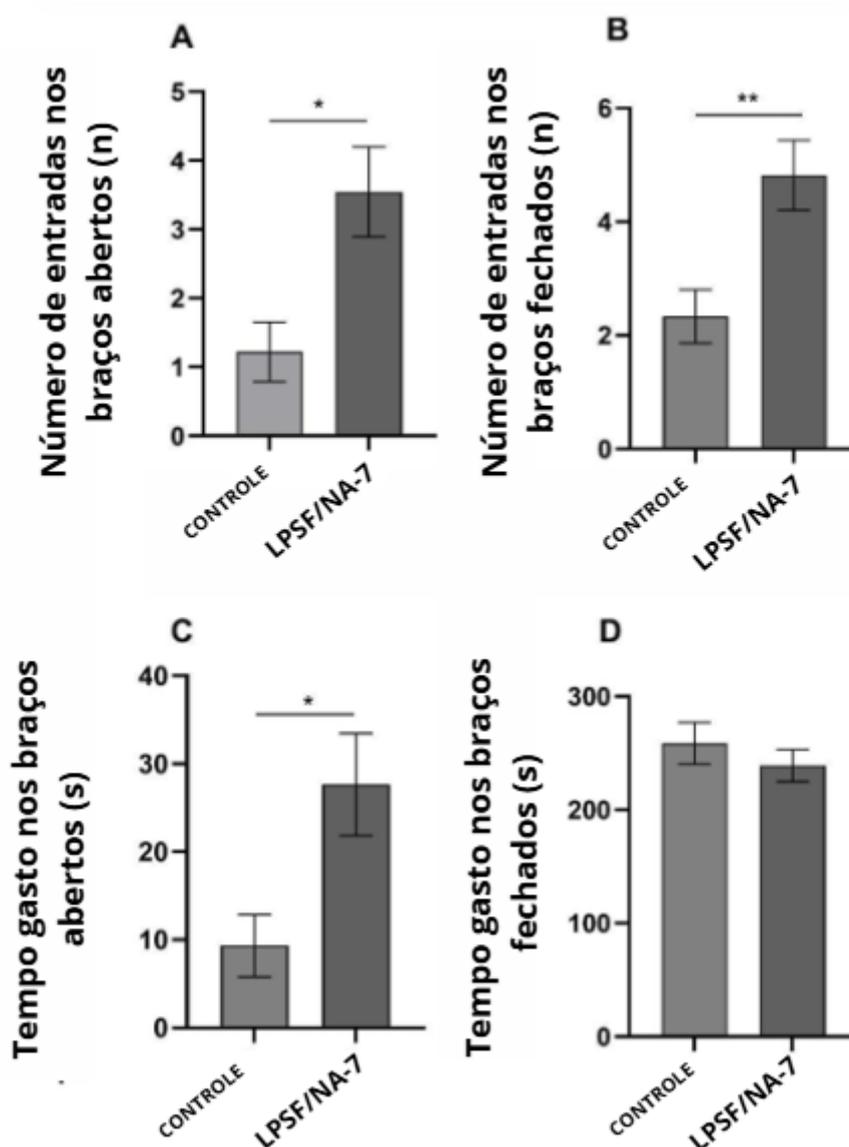
Os dados do gráfico são da média \pm o desvio padrão de dois experimentos independentes do Rearing (* $p > 0,03$ em relação ao grupo controle) e o Crossing ($p > 0,4$) Controle; LPSF/NA-7: Tratamento.

A Figura 6 apresenta a atividade exploratória e locomotora dos animais (6A), enquanto 6B ilustra as respostas de levantamento (rearing), que podem refletir alterações na exploração e na ansiedade dos animais no teste de campo aberto. A análise estatística do Teste T ($p > 0,04$) para o número de cruzamentos (crossing) não revelou diferenças significativas. No entanto, observou-se um efeito significativo no rearing (* $p > 0,03$), sugerindo que o tratamento influenciou a disposição dos animais para explorar o ambiente. Esse aumento da exploração no grupo tratado sugere um efeito ansiolítico do fármaco, de acordo com critérios estabelecidos na literatura (Rex et al., 1998). O rearing é um comportamento associado à exploração do ambiente. O aumento desse comportamento sugere que os animais estão mais confortáveis e menos inibidos pela ansiedade. Isso é frequentemente observado com ansiolíticos, como benzodiazepínicos, que reduzem o medo e promovem a exploração (Kaplan & DuPont, 2005). Entretanto, quando analisado de forma isolada, o rearing também pode refletir um aumento do comportamento ansioso dos animais (Carola et al., 2002).

Para saber se o aumento do rearing reflete ansiedade ou efeito ansiolítico, é importante analisar outros parâmetros no mesmo teste, por exemplo se o rearing aumenta e o freezing diminui, sugere-se provável efeito ansiolítico (Carola et al., 2002).

Embora o LPSF/NA-7 possua uma estrutura química e um mecanismo de ação distintos, alguns compostos tiazolidínicos modulam vias neurotransmissoras associadas à serotonina e à dopamina, semelhantes às dos benzodiazepínicos (Liessen et al., 2008). É possível que o referido composto teste também possa atuar em algumas destas vias, as quais estão relacionadas ao tratamento atual de distúrbios de ansiedade. Para tal comprovação, mais estudos precisam ser realizados.

Figura 7. Número de entradas e tempo gasto nos braços abertos e fechados do labirinto em cruz elevado.



Os dados do gráfico são da média \pm o desvio padrão de quatro experimentos independentes para o N^o de entradas nos braços abertos (* $p > 0,01$ em relação ao grupo controle); N^o de entradas nos braços fechados (** $p > 0,006$ em relação ao grupo controle); Tempo gasto nos braços abertos (* $p > 0,02$ em relação ao grupo controle); Tempo gasto nos braços fechados ($p > 0,04$).

Para avaliar comportamentos de evitação e fuga e comprovar o efeito ansiolítico do composto LPSF/NA7, foi realizado o teste do labirinto em cruz elevado. A Figura 7 apresenta o número de entradas nos braços abertos (7A) e fechados (7B). Foram utilizados sete animais no grupo controle e oito no grupo tratado. Observou-se um resultado significativo entre os grupos, com o grupo tratado exibindo um número

maior de entradas em ambos os braços do aparato, em comparação com o grupo controle.

Estudos sugerem que um aumento nas entradas tanto nos braços abertos quanto fechados pode indicar maior conforto na exploração do ambiente, refletindo uma possível redução da ansiedade (Walf e Frye, 2007).

A Figura 7C apresenta o tempo gasto pelos animais nos braços aberto e fechado (7D) do teste do labirinto em cruz elevado. A análise estatística revelou um efeito significativo (Teste t, $p = 0,02$), indicando que o composto LPSF/NA-7 influencia a resposta ansiolítica dos animais. Um maior tempo no braço fechado sugere maior ansiedade, pois essa região do aparato proporciona mais segurança aos animais (Komada et al., 2008). Por outro lado, um maior tempo no braço aberto indica uma redução na ansiedade, visto que os animais exploram um ambiente normalmente aversivo (Handley e Mithani, 1984). No presente estudo, os animais tratados passaram mais tempo nos braços abertos, enquanto o grupo controle permaneceu predominantemente nos braços fechados, reforçando o potencial ansiolítico do composto.

Resultados semelhantes foram descritos por Branco-junior (2022), que utilizou um ensaio de transição claro-escuro para avaliar a atividade ansiolítica do LPSF/NA-7. Nesse teste, os animais tratados passaram mais tempo na área iluminada, um ambiente geralmente evitado devido à maior exposição, comportamento compatível com o aumento da exploração dos braços abertos no labirinto em cruz elevado, comprovando um efeito ansiolítico do composto. Adicionalmente, compostos como gabapentina e pregabalina, que possuem estruturas semelhantes ao GABA, diferindo apenas no tamanho da cadeia carbônica ligada a cadeia do GABA como radical e são conhecidos por seus efeitos ansiolíticos e neuroprotetores em modelos de roedores. Estudos prévios (Singh et al., 1996) demonstraram que esses fármacos reduzem a ansiedade em testes como o labirinto em cruz elevado e o ensaio claro-escuro. Os achados do presente estudo seguem essa mesma tendência, sugerindo que o LPSF/NA-7 pode atuar por mecanismos semelhantes, sem comprometer a locomoção dos animais.

5. Conclusão

Os resultados deste estudo sugerem que o composto tiazolidínico LPSF/NA-7 pode modular a consolidação de memórias traumáticas, reduzindo a resposta de medo ao longo do tempo, além de apresentar um possível efeito ansiolítico. Esses achados indicam seu potencial como uma ferramenta promissora para futuras investigações sobre os mecanismos neurobiológicos envolvidos na extinção de memórias aversivas e na regulação da ansiedade. Estudos adicionais são necessários para confirmar seus efeitos neuroprotetores e explorar suas aplicações terapêuticas.

REFERÊNCIAS

ABRAHAM, W. C.; JONES, O. D.; GLANZMAN, D. L. Is plasticity of synapses the mechanism of long-term memory storage? *NPJ Science of Learning*, v. 4, p. 9, 2 jul. 2019.

ALBERINI, C. M. Mechanisms of memory stabilization: are consolidation and reconsolidation similar or distinct processes? *Trends in Neurosciences*, v. 28, n. 1, p. 51-56, jan. 2005.

AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION (APA). *Manual diagnóstico e estatístico de transtornos mentais: DSM-5*. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2014.

ARIHARA, Y.; FUKUYAMA, Y.; KIDA, S. Consolidation, reconsolidation, and extinction of contextual fear memory depend on de novo protein synthesis in the locus coeruleus. *Brain Research Bulletin*, v. 202, p. 110746, out. 2023.

ARSHAD, M. F. et al. Thiazole: A versatile standalone moiety contributing to the development of various drugs and biologically active agents. *Molecules*, v. 27, n. 13, p. 3994, 2022.

ASMUNDSON, G. J. G.; STAPLETON, J. A.; TAYLOR, S. Are avoidance and numbing distinct PTSD symptom clusters? *Journal of Traumatic Stress*, v. 17, n. 6, p. 467-475, 2004.

BARROS, Cleiton Diniz. Síntese de novos derivados da tiazolidina-2,4-diaril-diona e avaliação como potenciais agentes terapêuticos. 2011. 98 f. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2011.

BEVILAQUA, L. R. et al. The role of the entorhinal cortex in extinction: influences of aging. *Neural Plasticity*, v. 85, p. 192-197, 2008.

BERNIER, B. E. et al. Dentate gyrus contributes to retrieval as well as encoding: evidence from context fear conditioning, recall, and extinction. *Journal of Neuroscience*, v. 37, n. 26, p. 6359-6371, 2017.

BRASIL, L. S. et al. Covid-19: impacto na saúde mental da população em tempos de pandemia, uma revisão integrativa. *Research, Society and Development*, Vargem Grande Paulista, v. 10, n. 16, 2021.

BRANCO JÚNIOR, Jeann Fabiann. *Síntese, elucidação estrutural, avaliação da atividade anticonvulsivante e mecanismo de ação de novos derivados tiazolidínicos e imidazolidínicos*. 2022. 180 f. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2022.

BREMNER, J. D. Neuroimaging in posttraumatic stress disorder and other stress-related disorders. *Neuroimaging Clinics of North America*, v. 17, n. 4, p. 523-538, 2007.

BREMNER, J. D. Traumatic stress: effects on the brain. *Dialogues in Clinical Neuroscience*, v. 8, n. 4, p. 445-461, 2006.

BRIDGLAND, V. M. E. et al. Why the COVID-19 pandemic is a traumatic stressor. *PLoS ONE*, v. 16, n. 1, p. e0240146, 11 jan. 2021. Disponível em: <https://jornal.usp.br/atualidades/estresse-pos-traumatico-pela-covid-19-afeta-sobretudo-os-profissionais-de-saude/>

BORDET, R.; GELÉ, P.; DURIEZ, P.; FRUCHART, J. C. PPARs: a new target for neuroprotection. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*, v. 77, n. 3, p. 285-287, mar. 2006.

CARDONER, N. et al. Impact of stress on brain morphology: insights into structural biomarkers of stress-related disorders. *Current Neuropharmacology*, v. 22, n. 5, p. 935-962, 2024.

CARMASSI, C. et al. PTSD symptoms in healthcare workers facing the three coronavirus outbreaks: what can we expect after the COVID-19 pandemic. *Psychiatry Research*, v. 292, p. 113312, out. 2020.

CAROLA, V.; D'OLIMPIO, F.; BRUNAMONTI, E.; MANGIA, F.; RENZI, P. Evaluation of the elevated plus-maze and open-field tests for the assessment of anxiety-related behaviour in inbred mice. *Behavioural Brain Research*, v. 134, p. 49–57, 2002.

CARTER, R. N.; PINNOCK, S. B.; HERBERT, J. Does the amygdala modulate adaptation to repeated stress? *Neuroscience*, v. 126, p. 9-19, mai. 2004.

COELHO, Bruno Mendonça; PANG, Wang Yuan; WANG, Yuan. *Correlação e Prevalência de Transtornos do Estresse Pós-traumático na Região Metropolitana de São Paulo*. São Paulo: Agência Brasil, 2023.

CHANG, C. et al. Fear extinction in rodents. *Current Protocols in Neuroscience*, v. 47, n. 1, 2009.

CHAPMAN, D. P.; PERRY, G. S.; STRINE, T. W. Peer reviewed: the vital link between chronic disease and depressive disorders. *Preventing Chronic Disease*, v. 2, n. 1, 2005.

CAZZULINO, A. S.; MARTINEZ, R.; TOMM, N. K.; DENNY, C. A. Improved specificity of hippocampal memory trace labeling. *Hippocampus*, v. 26, n. 6, p. 752-762, 2016.

CHO, S. H.; KIM, S. H.; SHIN, D. Recent applications of hydantoin and thiohydantoin in medicinal chemistry. *European Journal of Medicinal Chemistry*, v. 164, p. 517-545, 2019.

CURZON, P.; RUSTAY, N. R.; BROWMAN, K. E. Cued and contextual fear conditioning for rodents. In: BUCCAFUSCO, J. J. (Ed.). *Methods of Behavior Analysis in Neuroscience*. 2. ed. Boca Raton (FL): CRC Press/Taylor & Francis, 2009.

DAVIS, M. Neural systems involved in fear and anxiety measured with fear-potentiated startle. *American Psychologist*, v. 61, n. 8, p. 741-756, 2006.

DAVIS, M.; MYERS, K. M.; CHHATWAL, J.; RESSLER, K. J. Pharmacological treatments that facilitate extinction of fear: relevance to psychotherapy. *NeuroRx*, v. 3, n. 1, p. 82-96, jan. 2006.

DENNY, C. A. et al. Hippocampal memory traces are differentially modulated by experience, time, and adult neurogenesis. *Neuron*, v. 83, n. 1, p. 189-201, 2014.

DE QUERVAIN, D. et al. Glucocorticoids and the regulation of memory in health and disease. *Frontiers in Neuroendocrinology*, v. 30, p. 358-370, 2009.

EBNER, K.; RUPNIAK, N. M.; SARIA, A.; SINGEWALD, N. Substance P in the medial amygdala: emotional stress-sensitive release and modulation of anxiety-related behavior in rats. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, v. 101, p. 4280-4285, mar. 2004.

EDELMANN, E.; LESSMANN, V.; BRIGADSKI, T. Pre- and postsynaptic twists in BDNF secretion and action in synaptic plasticity. *Neuropharmacology*, v. 76, Pt C, p. 610-627, 2014.

EISENSTEIN, Evelyn; JORGE, Eduardo; LIMA, Lucia Abelha. Transtorno do estresse pós-traumático e suas repercussões clínicas durante a adolescência. *Adolescência e Saúde*, v. 6, n. 3, p. 7-15, 2009.

FERREIRA, Manoela de Aguiar. *Um estudo sobre galectinas 1, 3, 4 e PAR-4 na modulação da memória de medo*. 2022. 65 f. TCC (Graduação em Biomedicina) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2022.

FITZGERALD, P. J.; SEEMANN, J. R.; MAREN, S. Can fear extinction be enhanced? A review of pharmacological and behavioral findings. *Brain Research Bulletin*, v. 105, p. 46-60, jun. 2014.

FRANK, Jean; LANDEIRA-FERNANDEZ, J. Rememoração, subjetividade e as bases neurais da memória autobiográfica. *Psicologia Clínica*, Rio de Janeiro, v. 18, n. 1, p. 35-47, 2006. Disponível em: http://pepsic.bvsalud.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-56652006000100004&lng=pt&nrm=iso.

GARELICK, M. G.; STORM, D. R. The relationship between memory retrieval and memory extinction. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, v. 102, n. 26, p. 9091-9092, jun. 2005.

GIRADEAU, G.; ZUGARO, M. Hippocampal ripples and memory consolidation. *Current Opinion in Neurobiology*, v. 21, n. 3, p. 452-459, jun. 2011.

GREENBLATT, H. K.; GREENBLATT, D. J. Gabapentin and Pregabalin for the Treatment of Anxiety Disorders. *Clin Pharmacology & Therapeutics*, v. 7, n. 3, p. 228-232, mar. 2018.

GOMES, G. M. et al. Polyaminergic agents modulate contextual fear extinction in rats. *Neurobiology of Learning and Memory*, v. 93, n. 4, p. 589-595, 2010.

HAUBRICH, J. et al. Enhancement of extinction memory by pharmacological and behavioral interventions targeted to its reactivation. *Scientific Reports*, v. 7, p. 10960, 2017. DOI: 10.1038/s41598-017-11261-6.

HAUCK, Simone. *Pesquisa sobre Transtorno de Estresse Pós-Traumático após enchentes no Rio Grande do Sul*. Porto Alegre: Hospital de Clínicas de Porto Alegre, 2024. Disponível em: <https://diariogaicho.clicrbs.com.br/dia-a-dia/noticia/2024/09/depois-da-enchente-pesquisa-revela-que-42-de-gauchos-entrevistados-desenvolveram-sintomas-de-transtorno-de-estresse-pos-traumatico-cm0l3eqli0034015bhem453cm.html>.

HAWK, Joshua. Investigation of the role of histone acetylation in hippocampus-dependent memory formation. 2011.

HERRMAN, Helen et al. Reducing the global burden of depression: a Lancet–World Psychiatric Association Commission. *The Lancet*, v. 393, n. 10189, p. e42-e43, 2019.

HESSELINK, J. M. K.; KOPSKY, D. J. PHENYTOIN: 80 years young, from epilepsy to breast cancer, a remarkable molecule with multiple modes of action. *Journal of Neurology*, v. 264, p. 1617-1621, 2017.

HORI, H. et al. The efficacy of memantine in the treatment of civilian posttraumatic stress disorder: an open-label trial. *European Journal of Psychotraumatology*, v. 12, n. 1, p. 1859821, 15 jan. 2021.

IZQUIERDO, I. Memória Porto Alegre. Porto Alegre: ArtMed, 2002.

JESULOLA, Emmanuel; MICALOS, Peter; BAGULEY, Ian J. Understanding the pathophysiology of depression: From monoamines to the neurogenesis hypothesis model - are we there yet? *Behavioural Brain Research*, v. 341, p. 79-90, 2018.

JOSSELYN, S. A.; TONEGAWA, S. Memory engrams: recalling the past and imagining the future. *Science*, v. 367, n. 6473, p. eaaw4325, 3 jan. 2020.

KANDEL, E. R.; DUDAI, Y.; MAYFORD, M. R. The molecular and systems biology of memory. *Cell*, v. 157, n. 1, p. 163-186, 27 mar. 2014.

KAPLAN, G. B. et al. Pathophysiological bases of comorbidity: traumatic brain injury and post-traumatic stress disorder. *Journal of Neurotrauma*, v. 35, p. 210-225, 2018.

KARL, A. et al. A meta-analysis of structural brain abnormalities in PTSD. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, v. 30, n. 7, p. 1004-1031, 2006.

KERRU, N. et al. Current anti-diabetic agents and their molecular targets: A review. *European Journal of Medicinal Chemistry*, v. 152, p. 436-488, 2018.

KHEIRBEK, M. A. et al. Differential control of learning and anxiety along the dorsoventral axis of the dentate gyrus. *Neuron*, v. 77, n. 5, p. 955-968, 2013.

KRISHNAN, V.; BASKARAN, P.; THYAGARAJAN, B. Troglitazone activates TRPV1 and causes deacetylation of PPAR γ in 3T3-L1 cells. *Biochimica et Biophysica Acta – Molecular Basis of Disease*, v. 1865, n. 2, p. 445-453, 2019.

KOMADA, M.; TAKAO, K.; MIYAKAWA, T. Elevated plus maze for mice. *Journal of Visualized Experiments*, 22, p. 1088, 2008.

LEDOUX, J. E. Emotion circuits in the brain. *Annual Review of Neuroscience*, v. 23, p. 155-184, 2000.

LEE, J. L.; EVERITT, B. J.; THOMAS, K. L. Independent cellular processes for hippocampal memory consolidation and reconsolidation. *Science*, v. 304, n. 5672, p. 839-843, 7 mai. 2004.

LOVIBOND, P. F. Cognitive processes in extinction. *Learning & Memory*, v. 11, n. 5, p. 495-500, 2004.

MAKAR, S.; SAHA, T.; SINGH, S. K. Naphthalene, a versatile platform in medicinal chemistry: skyhigh perspective. *European Journal of Medicinal Chemistry*, v. 161, p. 252-276, 2017.

MAKKAR, S. R.; ZHANG, S. Q.; CRANNEY, J. Behavioral and neural analysis of GABA in the acquisition, consolidation, reconsolidation, and extinction of fear memory. *Neuropsychopharmacology*, v. 35, n. 8, p. 1625-1652, jul. 2010.

MARTINS-MONTEVERDE, Camila Maria Severi; PADOVAN, Thalita; JURUENA, Mario Francisco. Transtornos relacionados a traumas e a estressores. *Medicina (Ribeirão Preto)*, Ribeirão Preto, Brasil, v. 50, n. supl.1, p. 37–50, 2017. Disponível em: <https://www.revistas.usp.br/rmrp/article/view/127536>.

MAREK, R. et al. Hippocampus-driven feed-forward inhibition of the prefrontal cortex mediates relapse of extinguished fear. *Nature Neuroscience*, v. 21, n. 3, p. 384-392, 2018.

MARWAHA, S.; KNOWLES, J. W.; ASHLEY, E. A. A guide for the diagnosis of rare and undiagnosed disease: beyond the exome. *Genome Medicine*, v. 14, n. 1, p. 23, 2022.

MCEWEN, B. S. Sex, stress, and the hippocampus: allostasis, allostatic load and the aging process. *Neurobiology of Aging*, v. 23, p. 921-939, 2002.

MEEJURU, G. F. et al. Protective effects of duloxetine against chronic immobilization stress-induced anxiety, depression, cognitive impairment, and neurodegeneration in mice. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, v. 73, n. 4, p. 522-534, 8 mar. 2021.

MCGAUGH, J. L.; IZQUIERDO, I. The contribution of pharmacology to research on the mechanisms of memory formation. *Trends in Pharmacological Sciences*, v. 21, n. 6, p. 208-210, jun. 2000.

MICHAEL KAPLAN, E.; DUPONT, R. L. Benzodiazepines and anxiety disorders: a review for the practicing physician. *Current Medical Research and Opinion*, v. 21, n. 6, p. 941-950, jun. 2005.

MICHOPOULOS, V. et al. Inflammation in fear- and anxiety-based disorders: PTSD, GAD, and beyond. *Neuropsychopharmacology*, v. 42, p. 1-18, 2017.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. *Estudo sobre a prevalência de transtornos de ansiedade no Brasil. 2019.* Disponível em: <https://www.who.int/news-room/factsheets/detail/mental-disorders>.

ORTEGA-DE SAN LUIS, C.; RYAN, T. J. Understanding the physical basis of memory: Molecular mechanisms of the engram. *Journal of Biological Chemistry*, v. 298, n. 5, p. 101866, maio 2022.

PACELLA, M. L.; HRUSKA, B.; DELAHANTY, D. L. The physical health consequences of PTSD and PTSD symptoms: a meta-analytic review. *Journal of Anxiety Disorders*, v. 27, n. 1, p. 33-46, jan. 2013.

PANDEY, S.; SONAR, P. K.; SARAF, S. K. Synthesis and characterization of novel conjugates of 4-[3-(aryl/heteroaryl)-3-oxo-propenyl]-benzaldehyde with thiazole and thiazolidinones as possible voltage-gated sodium channel blockers. *Medicinal Chemistry Research*, v. 25, p. 1484-1496, 2016.

PERUCCA, E.; BIALER, M.; WHITE, H. S. New GABA-Targeting Therapies for the Treatment of Seizures and Epilepsy: I. Role of GABA as a Modulator of Seizure Activity and Recently Approved Medications Acting on the GABA System. *CNS Drugs*, v. 37, n. 9, p. 755-779, set. 2023.

PETERS, J. et al. Induction of fear extinction with hippocampal-infralimbic BDNF. *Science*, v. 328, n. 5983, p. 1288-1290, 4 jun. 2010.

PLAS, S. L. et al. Neural circuits for the adaptive regulation of fear and extinction memory. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, v. 18, p. 1352797, 2 fev. 2024.

PONOMAREVA, O. Y.; FENSTER, R. J.; RESSLER, K. J. Enhancing fear extinction: pharmacological approaches. *Current Topics in Behavioral Neuroscience*, v. 64, p. 289-305, 2023.

QUIRK, G. J.; MUELLER, D. Neural mechanisms of extinction learning and retrieval. *Neuropsychopharmacology*, v. 33, n. 1, p. 56-72, jan. 2008.

RAUCH, S. et al. Neurocircuitry models of posttraumatic stress disorder and extinction: human neuroimaging research - past, present, and future. *Biological Psychiatry*, v. 60, p. 376-382, 2006.

ROSA, M. M. et al. Opioid mechanisms are involved in the disruption of arcaïne-induced amnesia by context pre-exposure. *Neurobiology of Learning and Memory*, v. 97, n. 3, p. 294-300, 2012.

RUBENSTEIN, A. et al. To expose or not to expose: a comprehensive perspective on treatment for posttraumatic stress disorder. *American Psychologist*, v. 79, n. 3, p. 331-343, abr. 2024.

SAHIBA, N. et al. Saturated five-membered thiazolidines and their derivatives: from synthesis to biological applications. *Topics in Current Chemistry*, v. 378, p. 1-90, 2020.

SANTOS SOARES, D. C.; SANTOS, L. A.; DONADON, M. F. Transtorno de estresse pós-traumático e prejuízos cognitivos, intervenções e tratamentos: uma revisão de literatura. *Revista Eixo*, v. 10, n. 2, p. 15-24, 2021.

SAREEN, J. Posttraumatic stress disorder in adults: impact, comorbidity, risk factors, and treatment. *Canadian Journal of Psychiatry*, v. 59, n. 9, p. 460-467, 2014.

SILVA, Vinicius Barros Ribeiro da. Síntese, Caracterização e Atividade Anti-inflamatória de Novos Derivados Indólicos Tiazolidínicos e 4-tioxo-imidazolidínicos. 2012. 76 f. Tese – (Mestrado). Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2012.

SCHAFE, G. E. et al. Memory consolidation of Pavlovian fear conditioning: a cellular and molecular perspective. *Trends in Neurosciences*, v. 24, n. 9, p. 540-546, set. 2001.

SOTRES-BAYON, F.; BUSH, D. E.; LEDOUX, J. E. Acquisition of fear extinction requires activation of NR2B-containing NMDA receptors in the lateral amygdala. *Neuropsychopharmacology*, v. 32, n. 9, p. 1929-1940, set. 2007.

SQUIRE, L. R.; GENZEL, L.; WIXTED, J. T.; MORRIS, R. G. Memory consolidation. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, v. 7, n. 8, p. a021766, 2015.

SUCHETA, S.; TAHLAN, S.; VERMA, P. K. Biological potential of thiazolidinedione derivatives of synthetic origin. *Chemical Biology & Drug Design*, v. 11, n. 1, p. 130, 8 dez. 2017.

VERMA, A.; SARAF, S. K. 4-thiazolidinone a biologically active scaffold. *European Journal of Medicinal Chemistry*, v. 43, n. 5, p. 897-905, 2008.

WALF, A. A.; FRYE, C. A. The use of the elevated plus maze as an assay of anxiety-related behavior in rodents. *Nature Protocols*, v. 2, n. 2, p. 322-328, 2007.

YUAN, K. et al. Prevalence of posttraumatic stress disorder after infectious disease pandemics in the twenty-first century, including COVID-19: a meta-analysis and systematic review. *Molecular Psychiatry*, v. 26, n. 9, p. 4982-4998, 2021.