

Modelos animais

FERNANDO GUARIENTO

Universidade Presbiteriana Mackenzie (UPM), São Paulo, Brasil.

E-mail: prof.fernandoguariento@gmail.com

SAMUEL PEREIRA BATISTA

Universidade Presbiteriana Mackenzie (UPM), São Paulo, Brasil.

E-mail: samupb1@hotmail.com

MIRIAM OLIVEIRA RIBEIRO

Universidade Presbiteriana Mackenzie (UPM), São Paulo, Brasil.

E-mail: miriamribeiro@mackenzie.br

Resumo

A pesquisa básica que utiliza modelos animais tem sido uma ferramenta importante para a compreensão dos mecanismos envolvidos nos transtornos do desenvolvimento. Além disso, é fundamental para a proposta de novas abordagens terapêuticas que podem ser aplicadas em seres humanos. O uso de modelos animais em pesquisa é uma prática utilizada desde a Grécia antiga e que vem sendo transformada desde então para aprimorar as condições dos animais, de modo a preservar o bem-estar deles e minimizar o estresse a que são submetidos. No Brasil, o grande marco para o cuidado dos animais de experimentação foi a aprovação da Lei Arouca de 2008, com a criação do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (Concea) e das Comissões de Ética no Uso de Animais (Ceua) para normatizar a pesquisa animal no país. A correta escolha dos modelos animais para estudarmos os transtornos do desenvolvimento deve levar em consideração a sua capacidade de reproduzir os sintomas, os aspectos fisiopatológicos e a resposta aos tratamentos da condição clínica estudada. O estudo de estados dos tipos ansioso, depressivo e motivado, e a capacidade de aprendizado e memória são alguns dos comportamentos que podem ser avaliados nos animais. A avaliação desses comportamentos pode trazer informações muito importantes na elucidação dos mecanismos envolvidos em vários transtornos, tais como o espectro autista, transtornos depressivos, transtornos de ansiedade, transtorno específico da aprendizagem, transtorno de déficit de atenção/hiperatividade. Assim, a presente revisão tem como objetivos trazer uma contextualização da evolução do uso de modelos animais

Recebido em: 13/10/2022

Aprovado em: 28/11/2022



ao longo dos anos e evidenciar a importância disso para o estudo dos transtornos do neurodesenvolvimento.

Palavras-chave

Modelo animal. Transtornos do neurodesenvolvimento. Testes comportamentais. Aprendizado. Comportamento.

Animal models

Abstract

Basic research with animal models is an important tool for understanding the mechanisms involved in developmental disorders. In addition, it is fundamental for the proposal of new therapeutic approaches that can be applied in humans. Animal models have been used in research since ancient Greece, but the handling of the animals has been transformed since then in order to improve their well-being and minimize the stress of the experimental manipulation. In Brazil, the great milestone for the animals experimentation was the approval of the Arouca Law in 2008, with the creation of the National Council for the Control of Animal Experimentation (Concea) and the Ethics Committees in the Use of Animals (Ceua) to regulate animal research in the country. The correct choice of animal models to study developmental disorders must consider their ability to reproduce the symptoms, the pathophysiological aspects and the response to treatments of the clinical condition studied. The study of anxiety, depression and motivated states, in addition to the ability to learn and memory are some of the behaviors that can be evaluated in animals. The evaluation of these behaviors can provide very important information in the elucidation of the mechanisms involved in various disorders, such as the autism spectrum, depressive disorders, anxiety disorders, specific learning disorders, and attention deficit hyperactivity disorder. Thus, the objective of this review is to contextualize the evolution of the use of animal models over the years and to highlight the importance of using animal models for the study of neurodevelopmental disorders.

Keywords

Animal model. Neurodevelopmental disorders. Behavioral tests. Learning. Behavior.

Modelos animales

Resumen

La investigación básica que utiliza modelos animales ha sido una herramienta importante para comprender los mecanismos implicados en los trastornos del desarrollo. Además, es fundamental para la propuesta de nuevos abordajes terapéuticos que puedan ser aplicados en humanos. El uso de modelos animales en investigación es una práctica utilizada desde la antigua Grecia y que se ha transformado desde entonces para mejorar las condiciones de los animales, buscando su bienestar y minimizando el estrés al que están sometidos. En Brasil, el gran hito para el cuidado de los animales de experimentación fue la aprobación de la Ley Arouca de 2008, con la creación del Consejo Nacional para el Control de la Experimentación Animal (Concea) y los Comités de Ética en el Uso de Animales (Ceua) regular la investigación con animales en el país. La correcta elección de modelos animales para estudiar trastornos del desarrollo debe tener en cuenta su capacidad de reproducir los síntomas, los aspectos fisiopatológicos y la respuesta a los tratamientos del cuadro clínico estudiado. El estudio de estados ansiosos, depresivos y motivados, además de la capacidad de aprendizaje y la memoria son algunas de las conductas que se pueden evaluar en animales. La evaluación de estas conductas puede aportar información muy importante en el esclarecimiento de los mecanismos implicados en diversos trastornos, como el espectro autista, los trastornos depresivos, los trastornos de ansiedad, los trastornos específicos del aprendizaje, el trastorno por déficit de atención con hiperactividad. Así, el objetivo de esta revisión es contextualizar la evolución del uso de modelos animales a lo largo de los años y resaltar la importancia del uso de modelos animales para el estudio de los trastornos del neurodesarrollo.

Palabras clave

Modelo animal. Trastornos del neurodesarrollo. Pruebas de comportamiento. Aprendizaje. Comportamiento.

INTRODUÇÃO

O uso de *animais como modelos de estudo* é uma prática histórica na civilização e baseia-se na ideia de que outras espécies animais têm características fisiológicas, fisiopatológicas e comportamentais semelhantes aos humanos.

A presente revisão tem como objetivos trazer uma contextualização da evolução do uso de modelos animais ao longo dos anos e evidenciar a importância disso para o estudo dos transtornos do neurodesenvolvimento.

Relatos mostram que o uso de modelos animais era praticado desde antes de Cristo na Grécia antiga com Hipócrates, o pai da medicina, e Aristóteles, entre outros estudiosos que se dedicaram a isso e contribuíram para o que conhecemos hoje (ERICSSON; CRIM; FRANKLIN, 2013).

Passando um pouco pela história, o famoso Galeno, médico dos gladiadores romanos, realizava suas primeiras vivisseções com objetivo experimental em 130-200 d.C. Ele observou inúmeras consequências nos gladiadores que eram derivadas de lesões cerebrais nas lutas, mas suas principais conclusões sobre o encéfalo vieram pelo estudo em animais, mais precisamente em ovelhas. Essas observações sugeriram que o cérebro era responsável pelas sensações e que o cerebelo era responsável por comandar os movimentos organizados pelos músculos. Seus achados basearam-se nas texturas exibidas por essas estruturas: mais gelatinosas ou mais rígidas (ERICSSON; CRIM; FRANKLIN, 2013; BEAR; CONNORS; PARADISO, 2016).

William Harvey, no final do século XVI, trouxe uma visão mais clara e científica da fisiologia do sistema cardiovascular ao publicar uma observação sistemática de mais de 80 espécies, na qual descrevia a fisiologia da circulação sanguínea. Com base nessas investigações, ele foi o primeiro a descrever com riqueza de detalhes o funcionamento do sistema cardiovascular de seres humanos (ERICSSON; CRIM; FRANKLIN, 2013; GUIMARÃES; FREIRE; MENEZES, 2016).

Foi no período do racionalismo moderno que a experimentação animal atingiu seu auge, quando Descartes formulou a teoria do modelo animal. De acordo com o filósofo francês, como os animais eram desprovidos de espírito, não exibiam a capacidade de sentir dor. Para ele, os animais eram máquinas, o que serviu como justificativa para o grande número de animais usados em pesquisas da época (GUIMARÃES; FREIRE; MENEZES, 2016).

Contrapondo os conceitos de Descartes, Jeremy Bentham, no final do século XVII, lançou a base para princípios morais e legislação ética dos procedimentos de experimentação animal usados atualmente. Com isso estimulou a discussão da sociedade sobre o sofrimento dos animais nos experimentos, sugerindo uma *reflexão* sobre o principal problema que, para ele, era a *capacidade de sofrer dos animais* e que deveria ser levada em consideração (MIZIARA *et al.*, 2012; GUIMARÃES; FREIRE; MENEZES, 2016).

Essa discussão ao longo dos anos promoveu ações da sociedade em defesa dos animais, e criaram-se órgãos e leis que protegiam os animais e regulamentavam a prática da pesquisa em modelos animais. Em 1822, foi instituída a Lei Inglesa Anticrueldade para proteger os animais de grande porte de maus-tratos. Em 1824, também na Inglaterra, foi fundada a Sociedade para a Prevenção da Crueldade Animal. Com sua criação, outros países aderiram a ela e formaram sociedades semelhantes. Porém, somente em 1876, no Reino Unido, surgiu a primeira lei para regulamentar o uso de animais em pesquisa (RAYMUNDO; GOLDIM, 2002; MIZIARA *et al.*, 2012; GUIMARÃES; FREIRE; MENEZES, 2016).

A partir desses marcos regulamentadores, em 1909, publicou-se nos Estados Unidos o primeiro guia de aspectos éticos do uso de animais em experimentação, proposto pela Associação Médica Norte-Americana (RAYMUNDO; GOLDIM, 2002; MIZIARA *et al.*, 2012). Em 1959, foi criado o conceito dos 3 “R_s”: *replace*, *reduce* and *refine*. *Replace* significa substituir procedimentos em animais por técnicas que prescindem do uso de animais, *reduce* refere-se a diminuir o número de animais utilizados nos experimentos e *refine* preconiza o uso de técnicas aprimoradas de modo a diminuir o sofrimento do animal (MIZIARA *et al.*, 2012; GUIMARÃES; FREIRE; MENEZES, 2016). Construindo cada vez mais valores éticos sobre o uso de animais para experimentação, foram criadas as “cinco liberdades” dos animais, que são:

- I. Livre de sede, fome e desnutrição por pronto acesso à água fresca e a uma dieta para manter plena saúde e vigor.
 - II. Livre de desconforto, proporcionando um adequado ambiente, incluindo abrigo e uma confortável área de descanso.
 - III. Livre de dor, lesões e doenças através da prevenção ou de rápido diagnóstico e tratamento.
 - IV. Livre para expressar comportamento normal, fornecendo espaço suficiente, instalações adequadas à espécie do animal.
 - V. Livre de medo e angústia, assegurando condições que evitem o sofrimento mental.
- Apesar dos avanços em prol do bem-estar dos animais de experimentação, ainda são necessárias discussões para aprimorar esses conceitos (PACHECO; SAAD; TREVIZAN, 2012).

LEGISLAÇÃO

Seguindo os movimentos que aconteciam pelo mundo, o Brasil iniciou a criação de uma legislação para regulamentar a pesquisa animal. Em 1979,

a Lei nº 6.638 serviu para normatizar o uso de animais na pesquisa, em instituições do ensino superior, acomodando-os em instalações que não causassem sofrimento. Em 2008, a Lei nº 11.794, conhecida como Lei Arouca, revogou a lei anterior e é a que regulamenta atualmente o uso de animais em pesquisa, em todo o território brasileiro (PACHECO; SAAD; TREVIZAN, 2012; GUIMARÃES; FREIRE; MENEZES, 2016).

A Lei Arouca resultou no Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (Concea) e determinou a criação das Comissões de Ética no Uso de Animais (CEUA) em instituições com atividades de ensino ou pesquisa com animais (PACHECO; SAAD; TREVIZAN, 2012; MIZIARA *et al.*, 2012; GUIMARÃES; FREIRE; MENEZES, 2016).

O papel do Concea é determinar e rever todas as diretrizes sobre pesquisa animal no país, zelando pelo cumprimento das normas técnicas em todo o território nacional. Além disso, mantém atualizado o cadastro de procedimentos de ensino e pesquisa realizados ou em andamento, assim como o registro dos pesquisadores, a partir das informações enviadas pelas Ceua (MIZIARA *et al.*, 2012; GUIMARÃES; FREIRE; MENEZES, 2016).

MODELO ANIMAL: PESQUISA DOS TRANSTORNOS DO DESENVOLVIMENTO

Os animais mais usados na pesquisa são os roedores, mais especificamente ratos e camundongos. O uso dos animais para estudar os transtornos do neurodesenvolvimento permite avaliar aspectos comportamentais e análises dos mecanismos subjacentes a essas alterações.

A escolha do animal deve ser amparada pela validação do modelo, que avalia características e comportamentos semelhantes ao objetivo do estudo. Devemos considerar não somente a viabilidade financeira e o histórico de experimentos anteriores, mas também as características biológicas da espécie e a variedade de imagens e técnicas disponíveis (ERICSSON; CRIM; FRANKLIN, 2013).

As pesquisas com modelos animais trouxeram grande contribuição para o desenvolvimento de vacinas, procedimentos cirúrgicos e medicações posteriormente usadas em humanos com sucesso. Por exemplo, em 1920 a insulina foi descoberta por experimentos realizados em cães como modelo para diabetes. Assim como em 1930 a vacina para poliomielite foi desenvolvida por meio de experimentos com macacos (ROBINSON *et al.*, 2019).

De modo a garantir os resultados obtidos com experimentos usando os modelos animais, é importante considerar a validade de face, de construto e de predição. A validade de face considera a capacidade de o modelo animal reproduzir os sintomas de uma determinada condição clínica. Já a validade de construto se refere à capacidade de o modelo animal reproduzir os aspectos fisiopatológicos da condição clínica estudada, ou seja, os mecanismos subjacentes à biologia da doença que se esteja tentando reproduzir. E, por último, a validade preditiva diz respeito à capacidade de o modelo animal responder a agentes terapêuticos para a doença como em humanos (MCGONIGLE, 2014). Por exemplo, melhora do comportamento depressivo no animal em resposta à medicação antidepressiva utilizada em seres humanos.

O estudo de estados dos tipos ansioso, depressivo e motivado, e capacidade de aprendizado e memória são alguns dos comportamentos que podem ser avaliados nos animais, pois podem trazer informações muito importantes na elucidação dos mecanismos envolvidos em vários transtornos. Assim, deficiências na formação de memória declarativa em modelos animais podem auxiliar a compreender quais mecanismos estão subjacentes aos transtornos específicos da aprendizagem e quais estratégias podem ser empregadas para melhorar o desempenho dos indivíduos. A análise da interação social pode ser importante para avaliar transtornos do espectro autista (TEA). Também podemos estudar os transtornos depressivos, transtornos de ansiedade e transtorno de déficit de atenção/hiperatividade.

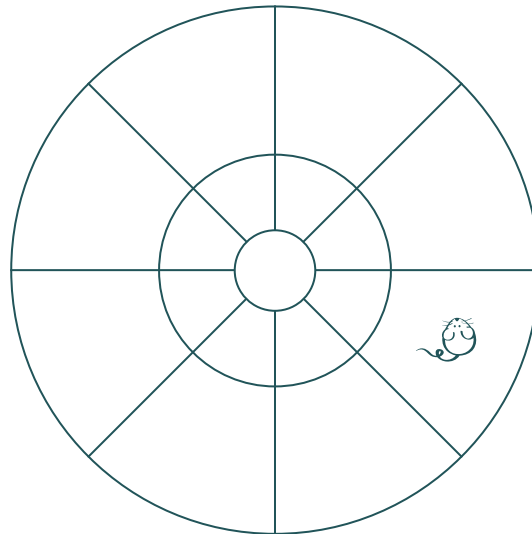
Todos os testes são gravados e analisados por meio de *software* de captura conectado a um computador. Isso reduz o viés do pesquisador e garante resultados mais precisos. Quando um *software* não está disponível, a análise pode ser feita por um avaliador “cego”, ou seja, que não sabe a que grupo experimental o animal pertence, ou por dois pesquisadores independentes (ANDOH *et al.*, 2019). A seguir, apresentam-se alguns testes comportamentais que são avaliados nos modelos animais.

- *Campo aberto*: É um teste amplamente usado para verificar locomoção, ansiedade e comportamentos estereotipados em roedores, e se vale da curiosidade exibida pelos roedores ao avaliar a atividade locomotora do animal e, portanto, a sua motivação em conhecer um novo ambiente. Também pode fazer parte do conjunto de testes comportamentais nas pesquisas em transtornos de ansiedade, hiperatividade, além do comportamento estereotipado.

Os testes ocorrem em uma arena de formato variável (circular ou retangular) (Figura 1), cujo piso pode ser revestido com fórmica ou outro material para dar contraste com o animal e facilitar sua visualização. A arena é fechada por paredes que circundam o piso, geralmente feitas com acrílico.

O tempo total de duração do teste para cada animal varia de acordo com o protocolo utilizado. Geralmente duram 15 minutos, cinco de habituação e dez de teste. Durante o teste, podemos observar diferentes parâmetros, como distância percorrida, quantidade de idas ao centro e comportamentos repetitivos, que podem indicar atividade locomotora, ansiedade e estereotipia (VIANA *et al.*, 2021; MACHADO *et al.*, 2006; KRAEUTER; GUEST; SARNYAI, 2019).

Figura 1 ■ Representação visual da arena de campo aberto (*open field*)



Fonte: Elaborada pelos autores.

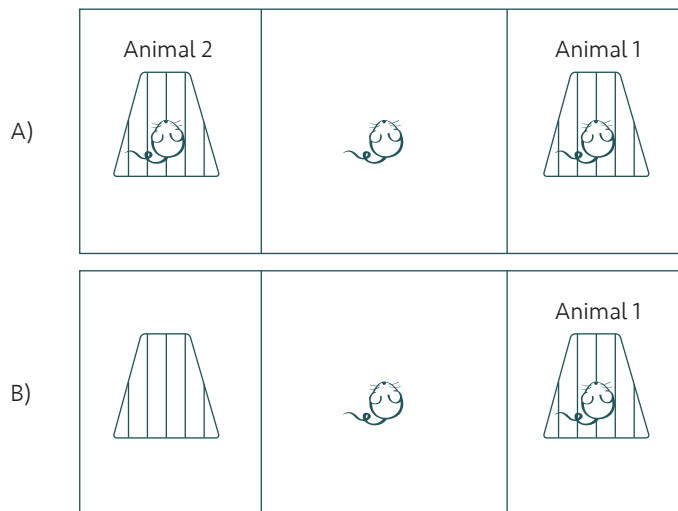
- *Preferência e discriminação social*: É um teste utilizado para avaliar a interação social e a capacidade de formar memória de um animal diante de um estímulo social, e se vale do paradigma da curiosidade dos roedores e do interesse pela novidade. Esse teste pode ser usado para avaliar o caráter social do TEA e a capacidade de aprendizado, consolidação e evocação da memória.

O teste é realizado em um aparato dividido em três câmaras conectadas por passagens que podem ser fechadas e abertas (Figura 2a). O animal pode

explorar todo o aparato de modo a se habituar ao novo ambiente normalmente por dez minutos. Após esse momento, é colocado um animal novo em uma das câmaras dentro da pequena gaiola vazada. Outra gaiola vazia é colocada na outra câmara. A gaiola que contém o animal novo é uma caixa de acrílico com furos para que possa ter contato com o animal que está sendo estudado. Essa etapa do teste dura dez minutos, e espera-se que o animal estudado prefira passar mais tempo com o novo animal fazendo interações e passe menos tempo na câmara vazia. Modelos animais de TEA, por exemplo, não se interessam pelo animal novo e não demonstram preferência por seu coespecífico.

Na fase seguinte do teste, outro animal é colocado na gaiola que estava vazia na câmara ao lado (Figura 2b). O tempo que o animal estudado passa investigando o novo animal e o tempo que passa investigando o animal conhecido são registrados. Espera-se que o animal estudado passe mais tempo em busca da novidade investigando o novo animal e menos tempo com o animal já conhecido (MOY *et al.*, 2004). Em modelos com transtornos de aprendizagem e TEA, o animal fica tempo semelhante com a novidade e com o conhecido.

Figura 2 ■ Representação visual da arena de preferência e discriminação social



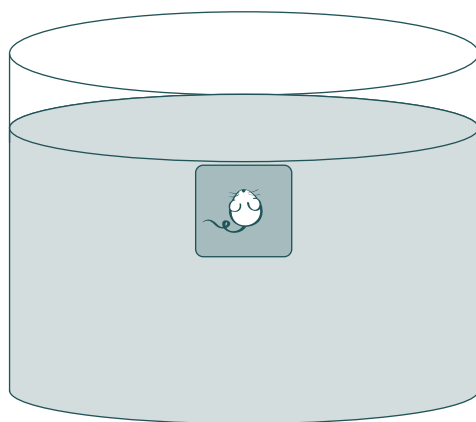
Fonte: Elaborada pelos autores.

- *Teste de nado forçado:* É um teste desenvolvido para avaliar comportamento do tipo depressivo. Os animais são colocados dentro de um cilindro de acrílico cheio de água a aproximadamente 37 °C (Figura 3).

Os animais lutam para sair da água, e o tempo transcorrido para o momento em que desistem dessa luta e se tornam imóveis é analisado. A rapidez com que o animal desiste e exibe imobilidade dentro da água traz-nos um indício de comportamento do tipo depressivo.

As dimensões do cilindro de acrílico, a altura, o diâmetro, a quantidade de água e o tempo de teste podem variar de acordo com o protocolo utilizado. O teste consiste em colocar o animal estudado dentro da água e registrar o tempo despendido a nadar para sobreviver. São avaliados os seguintes parâmetros: flutuação (imobilidade completa ou movimentos suaves para manter nariz/cabeça na superfície da água), escalada (movimentos fortes com as patas dianteiras acima da superfície da água ou contra o cilindro) e natação (movimentação do animal na posição horizontal, sem ultrapassar com as patas dianteiras a superfície da água) (FERNANDES *et al.*, 2012).

Figura 3 ■ Representação visual do aparato de nado forçado



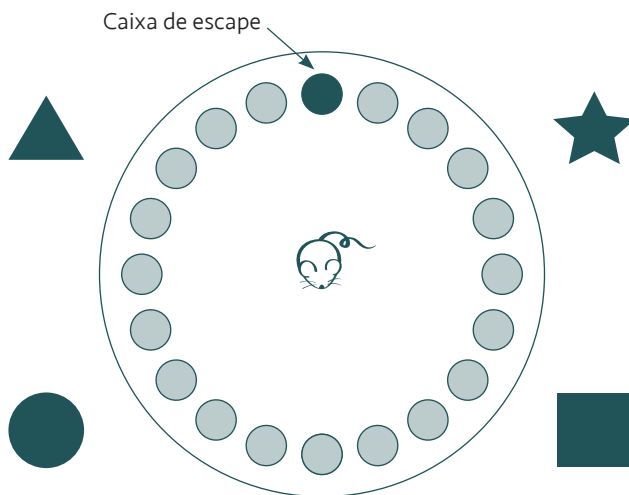
Fonte: Elaborada pelos autores.

- *Labirinto de Barnes*: É um teste relevante para avaliar a memória visuoespacial, em um contexto com estímulos ansiogênicos. Esse teste pode ser usado para avaliar prejuízos na memória quando se observam transtornos de aprendizagem.

Consiste em uma plataforma aberta e suspensa a um metro de altura para ratos e 80 centímetros para camundongos (Figura 4), onde o animal é exposto

a estímulos aversivos, como luz direcionada. Em um dos buracos, encontra-se um escape, e a aversividade favorece a locomoção e a busca pelo escape. O teste tem o objetivo de avaliar a aprendizagem e a memória visuoespacial. A aprendizagem é avaliada pela reprodução (acerto) e pelo aprimoramento (tempo reduzido para acerto) da resposta.

Figura 4 ■ Representação visual do aparato labirinto de Barnes



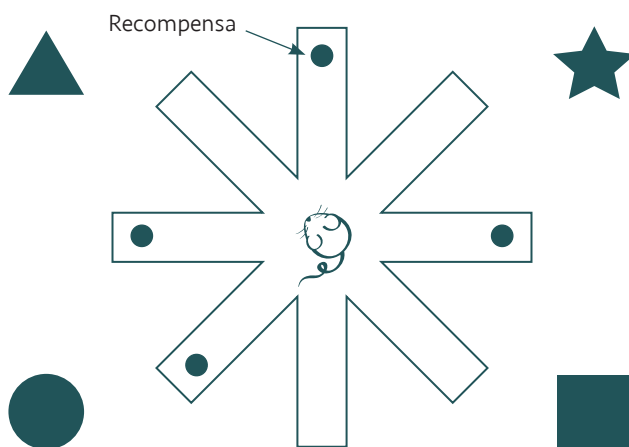
Fonte: Elaborada pelos autores.

- *Labirinto radial de oito braços*: o teste avalia principalmente a memória de trabalho e a memória visuoespacial. A memória visuoespacial é a habilidade de se localizar e navegar em determinado espaço por meio de pistas visuais. A memória de trabalho, por sua vez, é uma habilidade que permite manipular a memória para a resolução de tarefas (AMATO; BRUNONI; BOGGIO, 2018). Esse teste se concentra em avaliar os déficits cognitivos encontrados nos transtornos de aprendizagem, por exemplo.

O aparato consiste em uma arena central ligada a oito braços (Figura 5). Em quatro deles, é colocada uma recompensa (um pedaço de chocolate), e o objetivo é que o animal aprenda onde estão esses chocolates e colete todas as recompensas em um tempo predeterminado. O teste se baseia na premissa de erros, acertos e omissões, e a resposta apresentada pelo animal é um possível reflexo de como está sua memória de trabalho, bem como os processos

cognitivos envolvidos na memória visuoespacial. O animal é exposto ao aparato com as recompensas por oito vezes em dias consecutivos, de modo a memorizar onde estão as recompensas: esse é chamado de período de treinamento. Após o treinamento, o animal é exposto ao aparato, e esse momento é considerado como o dia do teste. No teste avaliamos a memória visuoespacial computando os acertos (entrar no braço com recompensa) e erros (entrar no braço sem recompensa). Se o animal entra em um braço no qual a recompensa já foi coletada, isso é considerado como erro no trabalho.

Figura 5 ■ Representação visual do aparato labirinto radial de oito braços



Fonte: Elaborada pelos autores.

IMUNO-HISTOQUÍMICA

A imuno-histoquímica é um método que mede a expressão de proteínas nos tecidos. Essa técnica se vale da ligação específica de anticorpo e antígeno para identificar e quantificar a presença de variadas substâncias nas células e nos tecidos, tais como proteínas, neurotransmissores e receptores. Em termos práticos, pode ser usada para visualmente avaliar e comparar áreas com maiores concentrações de neurotransmissores-alvo em estruturas ligadas à pesquisa, como os níveis de dopamina na amígdala em transtornos de ansiedade.

Pode-se dizer que a imuno-histoquímica se apresenta como um poderoso meio de identificação *in situ* de várias estruturas celulares e teciduais que podem estar diretamente associadas a prejuízos morfológicos e funcionais (FERRO, 2014).

A REAÇÃO EM CADEIA DA POLIMERASE

A reação em cadeia da polimerase (*polymerase chain reaction* – PCR) foi desenvolvida nos anos 1980. Trata-se de uma técnica da biologia molecular para amplificar uma única ou poucas cópias de um pedaço de DNA e baseia-se no processo de replicação do DNA que ocorre *in vivo*. A PCR encontra sua principal aplicação em situações em que a quantidade de DNA disponível é pequena.

Já a transcrição reversa seguida de reação em cadeia da polimerase (*reverse transcriptase polymerase chain reaction* – RT-PCR) é um método laboratorial que utiliza a enzima transcriptase reversa para transformar o RNA em DNA complementar (cDNA). É usado principalmente para medir a quantidade de um RNA específico.

A primeira etapa do procedimento é isolar o RNA do tecido estudado. Uma vez que o RNA é isolado, inicia-se a síntese de uma fita de DNA complementar ao RNA isolado (cDNA) utilizando-se *primers*. Ao cDNA aplica-se a técnica de PCR utilizando-se *primers* específicos para o gene de interesse. No RT-qPCR, é possível comparar as amostras logo no início desses ciclos, uma vez que o pesquisador consegue ver a quantidade de cDNA sendo amplificada em tempo real. A amplificação é quantificada a cada ciclo de produção de mRNA por meio de um marcador fluorescente que se liga à fita de mRNA.

Por fim, comparamos os valores da quantificação para sugerir a quantidade de RNA que codifica proteínas em determinado tecido. Isso permite a observação de diferentes expressões de RNA entre grupos de controle e experimental. O uso dessa técnica permite avaliar quais genes podem estar relacionados com as alterações comportamentais observadas nos indivíduos que exibem transtornos do desenvolvimento (ADAMS, 2020).

REFERÊNCIAS

ADAMS, G. A beginner's guide to RT-PCR, qPCR and RT-qPCR. *The Biochemist*, v. 42, n. 3, p. 48-53, 2020. DOI 10.1042/BIO20200034

AMATO, C. A. de La H.; BRUNONI, D.; BOGGIO, P. S. *Distúrbios do desenvolvimento: estudos interdisciplinares*. São Paulo: Memnon, 2018.

ANDOH, M. *et al.* Exercise reverses behavioral and synaptic abnormalities after maternal inflammation. *Cell Reports*, v. 27, n. 10, p. 2817-2825, 2019. DOI 10.1016/j.celrep.2019.05.015

BEAR, M.; CONNORS, B.; PARADISO, M. A. *Neuroscience: exploring the brain*. 4. ed. Massachusetts: Jones & Bartlett Learning, 2016.

BRASIL. Lei nº 11.794, de 08 de outubro de 2008. Regulamenta o inciso VII do § 1o do art. 225 da Constituição Federal, estabelecendo procedimentos para o uso científico de animais; revoga a Lei no 6.638, de 8 de maio de 1979; e dá outras providências. *Diário Oficial da União*: Brasília, DF, out. 2008. Disponível em: http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2007-2010/2008/lei/111794.htm. Acesso em: 17 fev. 2023.

ERICSSON, A. C.; CRIM, M. J.; FRANKLIN, C. L. A brief history of animal modeling. *Missouri Medicine*, v. 110, n. 3, p. 201-205, 2013.

FERNANDES, E. V. *et al.* Efeitos comportamentais e imunológicos da fluoxetina em ratos submetidos ao nado forçado. *Psicologia: Teoria e Pesquisa*, Brasília, v. 28, n. 4, p. 409-415, 2012. DOI 10.1590/S0102-37722012000400008

FERRO, A. B. *Imunohistoquímica*. Lisboa: Autor, 2014.

GUIMARÃES, M. V.; FREIRE, J. E. da C.; MENEZES, L. M. B. de. Utilização de animais em pesquisas: breve revisão da legislação no Brasil. *Revista Bioética*, Brasília, v. 24, n. 2, p. 217-224, 2016. DOI 10.1590/1983-80422016242121

KRAEUTER, A. K.; GUEST, P. C.; SARNYAI, Z. The open field test for measuring locomotor activity and anxiety-like behavior. In: WALKER, J. M. (ed.). *Methods in Molecular Biology*. Germany: Springer, 2019. p. 99-103. v. 1916. DOI 10.1007/978-1-4939-8994-2_9

MACHADO, B. B. *et al.* Topolino: Software livre para automatização do experimento do campo aberto. In: SEMINÁRIO DE COMPUTAÇÃO, 15., 2006, Blumenau. *Anais [...]*. Blumenau: [s.n.] 2006. p. 19-28. Disponível em: <http://www.inf.furb.br/seminco/2006/artigos/25035.pdf>. Acesso em: 31 jan. 2023.

MCGONIGLE, P. Animal models of CNS disorders. *Biochemical Pharmacology*, v. 87, n. 1, p. 140-149, 2014. DOI 10.1016/j.bcp.2013.06.016

MIZIARA, I. D. *et al.* Ética da pesquisa em modelos animais. *Brazilian Journal of Otorhinolaryngology*, Campinas, v. 78, n. 2, p. 128-131, 2012. DOI 10.1590/S1808-86942012000200020

MOY, S. S. *et al.* Sociability and preference for social novelty in five inbred strains: an approach to assess autistic-like behavior in mice. *Genes, Brain and Behavior*, v. 3, n. 5, p. 287-302, 2004. DOI 10.1111/j.1601-1848.2004.00076.x

PACHECO, G. F. E.; SAAD, F. M. O. B.; TREVIZAN, L. Aspectos éticos no uso de animais de produção em experimentação científica. *Acta Veterinaria Brasilica*, Mossoró, Rio Grande do Norte, v. 6, n. 4, p. 260-266, 2012.

RAYMUNDO, M. M.; GOLDIM, J. B. Ética da pesquisa em modelos animais. *Bioética*, Brasília, v. 10, n. 1, p. 31-44, 2002. Disponível em: https://revistabioetica.cfm.org.br/index.php/revista_bioetica/article/view/196/199. Acesso em: 31 jan. 2023.

ROBINSON, N. B. *et al.* The current state of animal models in research: a review. *International Journal of Surgery*, v. 72, p. 9-13, 2019. DOI 10.1016/j.ijssu.2019.10.015

VIANA, C. de O. *et al.* Testes comportamentais em roedores para o estudo do transtorno do espectro autista. *Infarma-Ciências Farmacêuticas*, Brasília, v. 33, n. 2, p. 106-116, 2021. DOI 10.14450/2318-9312.v33.e2.a2021.pp106-116