



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE FARMACOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FARMACOLOGIA

Francisco Canatiah Carneiro Gomes Figueiredo

**Efeitos do propranolol no comportamento defensivo em ratos:
revisão sistemática**

Florianópolis,
2023

Francisco Canatiah Carneiro Gomes Figueiredo

**Efeitos do propranolol no comportamento defensivo em ratos:
revisão sistemática**

Dissertação submetida ao Programa de Farmacologia da Universidade Federal de Santa Catarina para a obtenção do título de mestre em Farmacologia.

Orientador: Prof. Dr Antonio de Pádua Carobrez
Coorientadora: Prof^ª. Dr^ª. Juliana Amorim V. Kroon

Florianópolis,

2023

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Figueiredo, Francisco Canatiah Carneiro Gomes

Efeitos do propranolol no comportamento defensivo em ratos: revisão sistemática / Francisco Canatiah Carneiro Gomes Figueiredo ; orientador, Antonio de Pádua Carobrez, coorientadora, Juliana Amorim Vieira Kroon, 2023.

69 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Biológicas, Programa de Pós Graduação em Farmacologia, Florianópolis, 2023.

Inclui referências.

1. Farmacologia. 2. Ansiedade. 3. Propranolol. 4. Ratos de laboratório. 5. Modelo animal. I. Carobrez, Antonio de Pádua . II. Kroon, Juliana Amorim Vieira . III. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós Graduação em Farmacologia. IV. Título.

Francisco Canatiah Carneiro Gomes Figueiredo
**Efeitos do propranolol no comportamento defensivo em ratos: revisão
sistemática**

O presente trabalho em nível de mestrado foi avaliado e aprovado por banca
examinadora composta pelos seguintes membros:

Prof.(a) Eloisa Pavesi, Dr.(a)
Instituição (Universidade Federal de Santa Catarina)

Prof.(a) Leandro Jose Bertoglio, Dr.(a)
Instituição (Universidade Federal de Santa Catarina)

Prof.(a) Marcelo Giachero Dr.(a)
Instituição (Universidad Favaloro)

Prof.(a) Geison De Souza Izídio, Dr.(a)
Instituição (Universidade Federal de Santa Catarina)

Certificamos que esta é a **versão original e final** do trabalho de conclusão que
foi julgado adequado para obtenção do título de mestre em Farmacologia.

Coordenação do Programa de Pós-Graduação

Prof. Antonio de Pádua Carobrez, Dr.
Orientador

Florianópolis/SC, 2023.

Este trabalho é dedicado à minha família, aos professores e colegas de pós-graduação.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à minha família por todo suporte e apoio durante esse período intenso de dedicação à pesquisa e aprendizagem.

Aos coordenadores, professores e funcionários do Programa de Pós-Graduação em Farmacologia da Universidade Federal de Santa Catarina. Em especial, ao orientador da dissertação desenvolvida, Professor Dr. Antonio de Pádua Carobrez, e à coorientadora Dra. Juliana Amorim Vieira Kroon, pelos ensinamentos, paciência, dedicação, colaboração. Foram muitas reuniões e discussões especialmente produtivas, enriquecedoras, interessantes e momentos intensos de conhecimentos adquiridos.

Agradeço aos colegas de trabalhos das disciplinas por compartilhar conhecimentos e pelas relações interpessoais que sempre acrescentam na minha formação e crescimento pessoal.

À Letícia e Luciane, colegas de laboratório, por estarem sempre dispostas a me ajudar nas questões do laboratório e, também, pelas trocas de materiais relevantes para a pesquisa e compartilhamento de conhecimentos e informações, durante as reuniões sempre muito proveitosas.

Não poderia deixar de agradecer às instituições de fomento à pesquisa, CAPES e CNPq, não só pelo apoio financeiro, mas também por serem responsáveis pelo aprimoramento da política de promoção de pesquisas nacionais, esta que é tão importante para o desenvolvimento do país.

A dose certa diferencia um veneno de um remédio.

(PARACELSO, 1538)

RESUMO

A revisão sistemática da literatura reúne artigos sobre uma questão formulada utilizando um protocolo pré-estabelecido, que busca nos bancos de dados da literatura estudos relevantes para uma determinada área de pesquisa. Este tipo de estudo é considerado uma importante evidência para tomadas de decisões em pesquisas clínicas e pré-clínicas. Animais muitas vezes são utilizados em experimentos para o estudo sobre transtornos relacionados à ansiedade, e para isso são observados em protocolos comportamentais. Os modelos experimentais em animais tentam estabelecer um paralelo entre os efeitos induzidos por intervenções físicas, químicas e/ou biológicas que provocam sinais comportamentais e/ou fisiológicos. Uma análise crítica dos modelos e metodologias aplicadas nos testes comportamentais podem fornecer abordagens farmacológicas para transtornos de ansiedade, aprendizado e memória. O presente trabalho realizou uma revisão sistemática da literatura para avaliar o efeito do propranolol no comportamento defensivo de ratos de laboratório. A busca dos artigos foi realizada nos bancos de dados eletrônicos *PubMed*, *Scopus* e *Web of Science*, utilizando-se, como estratégia, os seguintes termos para busca dos artigos de interesse: *(rats) AND (propranolol) AND (fear OR aversive learning)*. Foram encontrados um total de 1.173 estudos. Após a eliminação de artigos duplicados e a aplicação dos critérios de elegibilidade pré-estabelecidos, n= 37 (3,15%) das referências encontradas foram incluídas na revisão. A respeito dos protocolos utilizados pré-estabelecidos nos critérios de elegibilidade (condicionamento aversivo, sobressalto potencializado pelo medo, labirinto em cruz elevado e campo aberto), foram analisados um total de 39 estudos devido ao fato de que dois estudos utilizaram mais de um modelo para analisar o comportamento dos animais no mesmo artigo e n = 30 (77%) relataram em, pelo menos um estudo, o efeito do propranolol nos comportamentos defensivos e n = 9 (23%) dos artigos não apresentaram efeito do fármaco no comportamento defensivo. Foi verificado que o efeito do propranolol depende da intensidade do estímulo aversivo, do momento da administração da droga e da dose administrada sistemicamente. A dose mais utilizada para ratos nos testes comportamentais foi de 10 mg/kg (54,5% dos estudos). O momento da intervenção farmacológica é uma questão controversa, o que pode gerar uma discrepância nos resultados e uma heterogeneidade alta com relação à metodologia e resultado dos estudos. Este estudo encontrou evidências sobre o efeito do propranolol na diminuição do comportamento defensivo de ratos previamente estressados, e constata que a dose, o momento da intervenção farmacológica, o nível de estresse dos animais e o tipo de protocolo experimental também vão afetar na diminuição deste comportamento.

Palavras-chave: Campo Aberto; Condicionamento Aversivo; Comportamento Defensivo; Labirinto em cruz elevado; Propranolol; Ratos; Sobressalto Potencializado pelo Medo.

ABSTRACT

The systematic review brings articles from formulated question using a pre-established protocol, which searches the literature databases for studies relevant to a given area of research. This type of study is considered important evidence for decision-making in clinical and preclinical research. Animals are often used in experiments to study anxiety-related disorders, and for that they are observed in behavioral protocols. Experimental models in animals try to establish a parallel between the effects induced by physical, chemical and/or biological interventions that cause behavioral and/or physiological signals. A critical analysis of the models and methodologies applied in behavioral tests can provide pharmacological approaches to anxiety, learning and memory disorders. The present work carried out a systematic review of the literature to evaluate the effect of propranolol on the defensive behavior of laboratory rats. The search for articles was carried out in the electronic databases PubMed, Scopus and Web of Science, using the following terms as a strategy to search for articles of interest: (rats) AND (propranolol) AND (fear OR aversive learning). A total of 1,173 studies were found. After eliminating duplicate articles and applying the pre-established eligibility criteria, $n = 37$ (3.15%) of the references found were included in the review. Regarding the pre-established protocols used in the eligibility criteria (elevated plus-maze; fear conditioning; potentiated startle; open field). A total of 39 studies were analyzed due to two studies used more than one model for analyzing the behavior of animals in the same article and $n = 30$ (77%) reported in at least one study the effect of propranolol on defensive behaviors and $n = 9$ (23%) of the articles did not show the effect of the drug on defensive behavior. It was found that the effect of propranolol depends on the intensity of the aversive stimulus, the time of drug administration and the systemically administered dose. The most used dose for rats in behavioral tests was 10 mg/kg (54.5% of studies). The timing of pharmacological intervention is a controversial issue, which can generate discrepancies in results and high heterogeneity methodology and results of studies. This study found evidence on the effect of propranolol on the behavior of previously stressed rats, however, the dose, the moment of the pharmacological intervention, the stress level of the animals and the type of experimental protocol will affect the decrease in defensive behavior.

Keywords: Defensive Behavior; Elevated Plus-Maze; Fear conditioning; Potentiated Startle; Open Field; Propranolol; Rats.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Fluxograma dos resultados de cada etapa de seleção dos artigos para análise...	31
Figura 2 – Planilha elaborada para cálculo do teste estatístico Kappa de Cohen.....	31
Figura 3 – Porcentagem dos estudos que descrevem o efeito do propranolol.....	32
Figura 4 – Porcentagem dos estudos que descrevem o efeito do propranolol por faixas de doses.....	34
Figura 5 – Modelo do mecanismo molecular do processo de formação de memórias....	48

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Pergunta estruturada pela ferramenta PICO.....	24
Quadro 2 – Descritores e palavras-chave utilizadas na Revisão Sistemática.....	25
Quadro 3 – Valores de referência para interpretação do Kappa de Cohen.....	29

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Porcentagem de artigos, por faixa de dose, que descrevem o efeito do propranolol sobre o comportamento defensivo em ratos submetidos aos protocolos experimentais analisados.....	33
Tabela 2 – Efeito do propranolol sobre o comportamento defensivo em ratos submetidos ao condicionamento aversivo	35
Tabela 3 – Efeito do propranolol sobre o comportamento defensivo em ratos submetidos ao sobressalto potencializado pelo medo (SPM).....	39
Tabela 4 – Efeito do propranolol sobre o comportamento defensivo em ratos submetidos ao labirinto em cruz elevado (LCE).....	41
Tabela 5 – Efeito do propranolol sobre o comportamento defensivo em ratos submetidos ao teste do campo aberto (TCA).....	43

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AC	Adenil Ciclase
AMPC	Adenosina 3',5'-monofosfato cíclico
BH	Barreira Hematoencefálica
CAA	Condicionamento Aversivo Auditivo
CAC	Condicionamento Aversivo Contextual
CAO	Condicionamento aversivo Olfatório
CREB	Proteína de ligação responsiva ao AMPC
EC	Estímulo Condicionado
EI	Estímulo Incondicionado
FC	Frequência Cardíaca
ISO	Isoprenalina
LCE	Labirinto em Cruz Elevado
NE	Norepinefrina
PAM	Pressão Arterial Média
PKA	Proteína quinase A
PROP	Propranolol
RNA	Ácido Ribonucleico
SNC	Sistema Nervoso Central
SPM	Sobressalto Potencializado pelo Medo
TCA	Teste Campo Aberto
TEPT	Transtorno do Estresse Pós-Traumático

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	16
1.1	REVISÃO SISTEMÁTICA.....	16
1.2	PROPRANOLOL, UM BLOQUEADOR β -ADRENÉRGICO	17
1.3	RECEPTORES ADRENÉRGICOS E COMPORTAMENTOS DEFENSIVOS.....	18
1.4	MEMÓRIA AVERSIVA.....	22
2	OBJETIVOS	23
3	METODOLOGIA.....	23
3.1	REGISTRO PROSPECTIVO.....	23
3.2	PERGUNTA E REVISÃO SISTEMÁTICA.....	24
3.2.1	Fontes de informação e estratégia de busca.....	24
3.2.2	Critérios de elegibilidade.....	25
3.2.2.1	<i>Critérios de inclusão.....</i>	<i>26</i>
3.2.2.2	<i>Critérios de exclusão.....</i>	<i>27</i>
3.2.3	Amostragem.....	27
3.2.4	Seleção e viés de seleção.....	28
3.2.5	Extração de dados.....	29
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	30
4.1	SELEÇÃO BIBLIOGRÁFICA.....	30
4.2	RELAÇÃO ENTRE DOSES E EFEITOS DO PROPRANOLOL.....	32
4.3	RELAÇÃO DO SEXO DOS ANIMAIS COM A QUANTIDADE DE ESTUDOS.....	33
4.4	RESULTADOS DO EFEITO DO PROPRANOLOL POR PROTOCOLO.....	34
4.5	EFEITO DO PROPRANOLOL NO CONDICIONAMENTO AVERSIVO.....	35

4.5.1	Discussão sobre o efeito do propranolol em ratos testados no condicionamento aversivo.....	36
4.6	EFEITO DO PROPRANOLOL NO SOBRESSALTO POTENCIALIZADO PELO MEDO (SPM).....	39
4.6.1	Discussão sobre o efeito do propranolol em ratos testados no teste de sobressalto potencializado pelo medo.....	39
4.7	EFEITO DO PROPRANOLOL NO LABIRINTO EM CRUZ ELEVADO (LCE).....	40
4.7.1	Discussão sobre o efeito do propranolol em ratos testados no labirinto em cruz elevado.....	41
4.8	EFEITO DO PROPRANOLOL NO TESTE CAMPO ABERTO (TCA).....	42
4.8.1	Discussão sobre o efeito do propranolol em ratos testados no teste campo aberto.....	43
4.9	DISCUSSÃO GERAL.....	44
5	CONCLUSÃO.....	50
	REFERÊNCIAS.....	51
	APÊNDICE A – Publicações incluídas na revisão sistemática separadas por protocolos experimentais.....	63
	ANEXO A – Estratégias de busca e resultados nas bases de dados.....	67
	ANEXO B – Fluxograma PRISMA para revisão sistemática	69

1 INTRODUÇÃO

1.1 REVISÃO SISTEMÁTICA

Os tratamentos farmacológicos e psicoterapêuticos da ansiedade têm se tornado cada vez mais eficientes, porém algumas questões a respeito dos substratos neurobiológicos do transtorno da ansiedade permanecem em debate (ANDREATINI, 2001). Ressalta-se a importância de estudos colaborativos entre pesquisadores de ciências básicas na geração de ideias e alvos potenciais para contribuir com a compreensão das bases biológicas de transtornos da ansiedade (CAROBREZ, 2003). Devido à grande quantidade de publicações que abordam o tema da pesquisa desenvolvida no presente estudo, foi possível realizar uma revisão sistemática da literatura para avaliar o efeito do propranolol no comportamento defensivo de ratos da espécie (*Rattus norvegicus*) de ambos os sexos.

A ansiedade é um comportamento humano que pode ser estudada com modelos animais que apresentam respostas defensivas em determinadas situações de estresse. Na prática, as deficiências dos modelos animais representam um dos principais obstáculos no caminho entre a ciência médica básica e os aperfeiçoamentos terapêuticos no que tange aos estudos sobre os sentimentos, emoções e memórias. As espécies não-humanas também mostram sinais em relação ao medo provocado por estímulos externos e internos (GIACHERO et al., 2019). Assim, torna-se possível modular tais comportamentos defensivos relacionados aos transtornos da ansiedade em animais.

A revisão sistemática de estudos com animais experimentais ainda não é uma prática comum. A metodologia para revisões sistemáticas de ensaios clínicos precisa ser adaptada e otimizada para estudos de intervenção em animais (HOOIJMANS et al., 2014). Revisores e editores podem utilizar esse estudo de base como orientação para avaliar a integridade e transparência do protocolo de revisão sistemática sugerido (MOHER et al., 2015).

Encontrar um critério de divisão em subgrupos pode ser aplicado *a priori* para redução de viés na análise dos artigos. Assim, alguma correlação entre variáveis comportamentais, fisiológicas ou bioquímicas pode contribuir para prever o desempenho do animal no teste de interesse (FERREIRA, 2019).

1.2 PROPRANOLOL, UM BLOQUEADOR β -ADRENÉRGICO

Os receptores adrenérgicos são classificados em alfa (α) e beta (β) adrenérgicos. Até o momento foram identificados dois subtipos de receptores α nomeados α_1 e α_2 , e três subtipos de receptor β nomeados β_1 , β_2 e β_3 , todos acoplados à proteína G (AHLQUIST, 1948). Embora os receptores β_1 estejam localizados principalmente no coração e no córtex cerebral, e o subtipo β_2 estejam predominantemente nos pulmões e no cerebelo. Estes dois receptores, em alguns órgãos, coexistem em um mesmo tecido (KUHAR et al., 1999).

O propranolol é um fármaco antagonista competitivo dos receptores β -adrenérgicos (BLACK et al., 1964), geralmente é usado em transtornos causados pelo sistema adrenérgico periférico, como por exemplo, hipertensão, doenças arteriais e arritmias cardíacas. Após a síntese do propranolol, no início da década de 1960, dois pesquisadores relataram em um artigo o efeito ansiolítico causado pela redução na frequência cardíaca em pacientes acometidos pelo hipertireoidismo (TURNER; GRANVILLE-GROSSMAN, 1965), tratados com propranolol para tratar os efeitos cardiovasculares desta condição clínica.

O propranolol além de atuar sobre os nervos, tecidos e órgãos periféricos ultrapassa a barreira hematoencefálica (BH), atingindo o sistema nervoso central (SNC). Os receptores β -adrenérgicos estão amplamente distribuídos no coração, no músculo liso, em células sanguíneas, no tecido adiposo, no músculo esquelético e no SNC. Com as informações químicas disponíveis na corrente sanguínea, essas mensagens neurais informam o encéfalo sobre o estado de boa parte do interior do corpo, e a percepção do estado dos componentes viscerais e químicos do corpo é chamada interocepção (DAMÁSIO, 2011). A interocepção refere-se ao processo pelo qual o sistema nervoso recebe e integra informações sobre o estado interno do corpo. E os processos fisiológicos são importantes para a regulação e a manutenção da homeostase corporal (HASSANPOUR et al., 2016), a capacidade do organismo manter-se em constante equilíbrio bioquímico.

Estudos mostram efeitos ansiolíticos dos bloqueadores β -adrenérgicos devido à redução nas respostas autonômicas causadas em situações de estresse. No entanto, por estas drogas serem menos efetivas que os benzodiazepínicos, o papel destes no tratamento de distúrbios relacionados à ansiedade parece ser limitado (RUSSELL NOYES, 1985).

Alguns autores sugerem que o propranolol é eficaz como agente redutor do medo quando combinado com terapia comportamental logo após o trauma, sobretudo quando o estresse psicológico é alto, possivelmente prevenindo ou atenuando o desenvolvimento posterior de transtorno do estresse pós-traumático (TEPT) (GIUSTINO et al., 2016).

Situações estressoras podem desencadear um efeito desorganizador da homeostase no indivíduo e as respostas a elas variam entre os indivíduos na sua forma de apresentação, podendo ocorrer manifestações psicopatológicas diversas como depressão, ansiedade ou até TEPT (MARGIS et al., 2003). Indivíduos com TEPT tendem a experimentar hiperexcitação noradrenérgica a longo prazo. No entanto nos indivíduos que sofrem de TEPT por um longo período, o propranolol pode ser menos eficaz em interromper a evocação de memórias aversivas (GIUSTINO et al., 2016), além disso, estudos clínicos sugerem que as evidências para a eficácia do propranolol atualmente são insuficientes para apoiar seu uso rotineiro no tratamento de qualquer um dos transtornos de ansiedade (STEENEN et al., 2016). Por outro lado, pesquisas realizadas para avaliar os efeitos dos compostos beta-adrenérgicos na extinção de respostas defensivas contextuais têm atraído muita atenção por causa do uso no tratamento de transtornos como o TEPT (NACHTIGALL et al., 2019).

Em estudos com camundongos o tratamento não apaga a memória, mas reduz a relevância emocional associada ao estímulo estressante (VILLAIN et al., 2016). Isso pode mitigar algumas dessas preocupações éticas e aumentar o potencial terapêutico do fármaco para transtornos psiquiátricos caracterizados por memórias mal adaptadas (COGAN et al., 2018).

1.3 RECEPTORES ADRENÉRGICOS E COMPORTAMENTOS DEFENSIVOS

Ao estudar estímulos físicos e psicológicos capazes de ativar as glândulas adrenais, Walter Cannon elaborou, em 1914, o conceito de “reação de emergência”. Essa reação imediata à percepção de ameaça, mediada pela epinefrina, secretada pela medula adrenal, teria a função de preparar o organismo para luta ou fuga. A ativação simpática compreende tanto o componente humoral, destacado por Cannon, como o sistema nervoso responsável por alterações no calibre das arteríolas que desviam sangue das vísceras e da pele para o cérebro e músculos esqueléticos, além de outras mudanças que dão sustentação fisiológica à demanda comportamental exigida pela luta ou fuga (GRAEFF, 2003).

A observação inicial de Charles Darwin, de que os animais e os seres humanos compartilham características semelhantes na expressão da emoção, sinalizam para a

possibilidade de estudar os mecanismos de transtornos psiquiátricos em outros mamíferos. O desenvolvimento de modelos animais de ansiedade e estresse ajudou a identificar os fatores farmacológicos e mecanismos dos efeitos clínicos de vários medicamentos potenciais. Modelos animais de ansiedade são baseados em situações de conflito que podem gerar estados motivacionais opostos induzidos por situações e abordagens que provocam aversão dos animais estudados (CAMPOS et al., 2013).

Animais, às vezes, mostram respostas diferentes de acordo com os estímulos, ou seja, não se pode reproduzir fidedignamente neles as características dos transtornos humanos, porém há muitas evidências que indicam que há sistemas cerebrais similares em roedores e primatas (CANTERAS et al. 2009; GORENSTEIN; SCAVONE, 1999).

Quando organismos entram em contato com uma fonte de perigo, uma ameaça ou uma situação desagradável, mecanismos comportamentais e neuroendócrinos de defesa são ativados para proteger e reduzir possíveis danos ao indivíduo (CAVALLI, 2013). Assim os organismos desenvolvem mecanismos para avaliar e modular experiências desagradáveis que possam sinalizar perigo (GOMES, 2018). Além disso, estudos têm demonstrado que um potente estímulo ansiogênico fornece elementos para a avaliação do comportamento defensivo natural em roedores (DO MONTE, 2006).

O estresse desencadeia um processo de adaptação por aumentar a secreção de adrenalina, produzindo diversas manifestações fisiológicas e psicológicas (MARGIS et al., 2003). O estresse representa um grande valor adaptativo para as espécies animais que foram selecionadas ao longo de processos evolutivos (CAMPOS et al., 2013). Experiências passadas guiam comportamentos futuros e são essenciais para a sobrevivência, já que representam relevância para a adaptação da espécie. A sobrevivência de um animal depende da sua habilidade em responder adequadamente a estímulos que possam sinalizar uma ameaça (BACK, 2012; GOMES, 2018; MCGAUGH, 2015).

O choque elétrico nas patas em ratos é um estímulo aversivo que pode ser usado na tentativa de compreender as bases biológicas do estresse, do medo e da ansiedade. Frente a estes estímulos, roedores apresentam uma vigorosa resposta comportamental de defesa (DE SOUZA, 2007). Esse comportamento ocorre em resposta a ameaças aprendidas, e isto também permite que a memória seja estudada através desses estímulos ambientais que evocam tais respostas (RODRIGUES et al., 2009).

Muitas das pesquisas sobre a ansiedade baseiam-se em princípios de condicionamento, pelos quais animais adquirem uma memória e exibem respostas a este

evento. A interação de uma experiência estressante e o estabelecimento de uma memória aversiva causam uma resposta de defesa extrema e evidente como comportamentos defensivos (BACK, 2012; CANTERAS et al., 2009; GIACHERO et al., 2019).

Comportamentos adotados frente a eventos estressantes revelam processos associativos de aprendizado, vulnerabilidade ao ambiente, flexibilidade comportamental e tomada de decisões (SOBOTA, 2013). Portanto modelos animais são capazes de testar várias etapas das reações comportamentais de animais expostos a situações de perigo e as memórias aversivas podem ser associadas com experiências emocionais (KROON, 2007; PAVESI, 2010).

Os comportamentos defensivos, são reações dos animais frente a uma situação ameaçadora e elas podem ser quantificadas (BLANCHARD; BLANCHARD, 1969). A análise de diferentes protocolos comportamentais utilizados nesta revisão sistemática permite uma ampla discussão sobre o efeito do propranolol no comportamento defensivo e no comportamentos que os animais expressam frente a situações de conflito ou aprendizagem, que podem indicar diferentes estados emocionais (TROTT et al., 2022), sob efeito do propranolol. Os modelos que foram contemplados de acordo com os critérios de elegibilidade estabelecidos nesta revisão sistemática serão brevemente descritos nos parágrafos seguintes.

1. Condicionamento clássico ou Pavloviano: Conforme Pavlov, em 1927, foi possível elucidar conexões entre estímulos externos e a resposta resultante, tanto no comportamento locomotor como em outras reações dos animais (PAVLOV, 2010). No entanto, o condicionamento envolve o aprendizado dos animais estudados (CAMPOS et al., 2013), este aprendizado pode ser feito através de estímulos aversivos, que provocam respostas defensivas. O estímulo aversivo pode ser aplicado a partir de fontes exteroceptivas (ex. estímulo elétrico, odor de predador etc.) ou interoceptivas (ex. efeito de drogas ansiogênicas) (CAVALLI, 2009). Os processos de memória: a aquisição (aprendizagem), seguindo-se a retenção durante tempos variáveis. A retenção por tempos curtos pode ser transformada em retenção de longa duração pelo processo de consolidação da memória. Em ambos os casos, pode haver evocação (lembrança) das informações memorizadas (LENT, 2010). Ratos condicionados recebem o teste de reativação de memória no dia seguinte ao condicionamento (DEBIEC; LEDOUX, 2004). Os protocolos geralmente usados na literatura são de 3 dias: condicionamento aversivo no dia 1, reexposição não reforçada ao contexto de condicionamento seguido de injeção sistêmica da droga amnésica no dia 2, e um teste de memória (retenção) no dia 3 (SCHROYENS et

al., 2019). Porém muitos estudos avaliam a memória aversiva utilizando o protocolo com diferentes intervalos de tempo entre: o condicionamento; o momento da administração da droga; e o momento da avaliação do comportamento.

2. Sobressalto potencializado pelo medo: neste protocolo, as respostas de sobressalto são provocadas por estímulos auditivos de alta intensidade emitidos através de um alto-falante localizado acima do animal (INAGAKI et al., 2010). O repertório defensivo em resposta a estímulos ameaçadores consiste em um sistema de comportamentos inter-relacionados influenciados por duas variáveis principais, como distância da ameaça e contexto evitável/inescapável (CARLI; FARABOLLINI, 2022). Os animais podem ser previamente estressados o que fazem do aparato um ambiente aversivo, e então, são colocados no aparato onde são apresentados os estímulos sonoros que provocam sobressaltos.

3. Labirinto em cruz elevado: este protocolo é conhecido por ser um modelo animal de ansiedade (CAROBREZ; BERTOGLIO, 2005; DE OLIVEIRA et al., 1996). Por se tratar de um protocolo que avalia o comportamento espontâneo, a atividade dos animais no aparato é afetada por diversos fatores, como condições de moradia, níveis de iluminação, variações do ciclo circadiano, manuseio, exposição a um estresse prévio e familiaridade dos animais com o labirinto. Por exemplo, a exposição prévia ao estresse (choque nas patas, derrota social, exposição a predadores) marcadamente aumenta os comportamentos defensivos (CAMPOS et al., 2013).

4. Teste do campo aberto: Neste protocolo não há necessariamente um condicionamento prévio do aparato com um estímulo aversivo. Mesmo quando há um estímulo aversivo ou um protocolo de estresse prévio, a análise do comportamento do animal no teste é realizado em um ambiente diferente de onde os animais receberam o protocolo de estresse, podendo não causar a associação do aparato com o estímulo aversivo. Linhas desenhadas no chão da arena dividem-na em uma região periférica e uma região central de dimensões aproximadamente iguais. O número de cruzamentos das linhas e o tempo gasto na região central são avaliados e pontuados por um observador. O animal, quando não está estressado tende a explorar mais as zonas centrais do aparato. Conforme Justel e colaboradores (2014), os comportamentos estão relacionados com a motivação (estado emocional) dos animais.

Esta revisão sistemática da literatura contempla os principais protocolos utilizados para avaliar as respostas defensivas provocadas pelo estresse em roedores nos laboratórios de pesquisa (CAMPOS et al., 2013).

1.4 MEMÓRIA AVERSIVA

Muito estudos incluídos nesta revisão sistemática estudam o comportamento dos ratos em diferentes protocolos de aprendizado e memória aversiva, inclusive alguns estudos que tentam traçar um paralelo entre modelos animais e distúrbios de ansiedade do TEPT. Os estudos sobre o efeito do propranolol sobre a memória tentam explicar se a redução no comportamento defensivo dos animais poderia estar relacionada com o prejuízo da memória provocada pelo propranolol.

No caso da análise do comportamento de roedores no teste de condicionamento aversivo de primeira ordem, é possível avaliar a aquisição, a consolidação e a expressão de memórias aversivas (BACK, 2016, DE SOUZA, 2011). Além disso o condicionamento em animais tem sido amplamente utilizado para o estudo das bases neuroanatômicas, celulares e moleculares da memória aversiva. O condicionamento aversivo pavloviano é um procedimento comportamental em que um estímulo emocionalmente neutro é emparelhado com um estímulo aversivo (RODRIGUES et al., 2009).

A apresentação apenas do estímulo neutro sem o reforço do estímulo aversivo induz a extinção da memória (CAMMAROTA et al., 2004). A extinção é uma sobreposição de memórias. Quando um estímulo neutro não representa uma ameaça, a memória aversiva pode ser remodelada. E a exposição a um novo ambiente antes ou depois do treinamento pode aumentar a extinção do condicionamento aversivo contextual (NACHTIGALL et al., 2019). Ao receber o pareamento dos estímulos, os animais supõem que o estímulo aversivo será sempre apresentado junto com o estímulo neutro, o que causa uma resposta comportamental de apreensão no animal estudado. Esta apreensão pode ser relacionada com o comportamento de ansiedade, pois causa uma suposição de que o estímulo neutro será apresentado juntamente com o estímulo aversivo.

Quando as experiências são aversivas, o tipo de aprendizagem que codificam memórias de tais eventos são geralmente chamados de aprendizagem aversiva (*aversive learning*) (MAREN, 2003). Muitos estudos clínicos e pré-clínicos avaliam o efeito do propranolol tanto na memória quanto nos comportamentos relacionados com a ansiedade.

Com base nestes estudos esta revisão tem o objetivo de avaliar se este fármaco realmente poderia ser utilizado para diminuir as respostas defensivas que se apresentam em animais quando são expostos a situações de estresse.

2 OBJETIVOS

O presente trabalho foi delineado com o objetivo de realizar uma revisão sistemática da literatura sobre o efeito do propranolol no comportamento defensivo de ratos.

3 METODOLOGIA

3.1 REGISTRO PROSPECTIVO

O protocolo dessa revisão sistemática foi elaborado e publicado no banco internacional de registro prospectivo de revisões sistemáticas PROSPERO (*International Prospective Register of Systematic Reviews*) no dia 13/12/2021, com o número de registro CRD42021272096.

3.2 PERGUNTA E REVISÃO SISTEMÁTICA

O protocolo para uma revisão sistemática deve ter quatro componentes essenciais: o problema; a intervenção, teste ou exposição de interesse; as intervenções de comparação; e os resultados de interesse. Assim, a pergunta deve ser estruturada em uma tabela, constituída com as iniciais PICO (AKOBENG, 2005), composta de palavras provenientes da língua inglesa “*Population*” (Paciente ou Problema), “*Intervention*” (Intervenção), “*Comparison*” (Comparação) e “*Outcomes*” (Resultados ou Desfecho). O quadro 1 demonstra como foi estruturada a pergunta tendo como referência o acrônimo PICO.

Quadro 1 – Pergunta estruturada pela ferramenta PICO.

P	População	Ratos
I	Intervenção	Propranolol
C	Comparação	Animais tratados com propranolol e não tratados (controle)
O	Desfecho	Alterações na resposta defensiva de ratos tratados com propranolol

Fonte: elaborado pelo autor (2021).

3.2.1 Fontes de informação e estratégia de busca

Foi feito o levantamento bibliográfico dos artigos científicos indexados em três bancos de dados eletrônicos de relevância nacional e internacional: *MEDLINE/Pubmed*, *Web of Science* e *Scopus*. A busca no *Medline* foi realizada na plataforma *Pubmed* em (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>). A pesquisa no *SCOPUS* e no *Web of Science* foi realizada por meio do acesso ao portal de Periódicos da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), disponível em <https://www-periodicos-capes.gov.br.ez1.periodicos.capes.gov.br/>.

Os artigos foram obtidos nos bancos de dados de acordo com os descritores (palavras registradas nos bancos de busca como conceitos relacionados ao termo de interesse) e palavras-chave relacionadas a interesses e estudos prévios do Laboratório de Neurobiologia Comportamental/UFSC. Foram utilizados os seguintes descritores referentes a ratos (*Rats*), e ao fármaco (Propranolol). Além desses descritores, foram utilizadas as palavras-chave: referentes aos comportamentos defensivos (*Fear*) e (*Aversive learning*).

Com base nos descritores e palavras-chave selecionados para esta revisão, foram selecionados os artigos que avaliaram o propranolol no comportamento defensivo de ratos e utilizaram os seguintes protocolos (subgrupos): condicionamento aversivo (auditivo, contextual ou olfatório), sobressalto potencializado pelo medo, labirinto em cruz elevado e teste campo aberto.

Apenas artigos originais, sem qualquer restrição de data de publicação ou restrições de idioma, foram selecionados nesta pesquisa. Em 27/09/2021, foi realizada uma busca abrangente dos estudos *in vivo* que investigaram os efeitos do propranolol em testes comportamentais. Como exemplificado no quadro 2, destacam-se as palavras-

chave e descritores que foram utilizadas para a busca de cada item relacionado com a questão que este estudo pretende responder.

Quadro 2 – Descritores e palavras-chave utilizadas na Revisão Sistemática

PICO	Item	Estratégia de Busca
População:	Ratos	("Rats" OR "Rat" OR "Rattus" OR "Rattus norvegicus" OR "Rats, Norway" OR "Rats, Laboratory" OR "Laboratory Rat" OR "Laboratory Rats" OR "Rat, Laboratory")
Intervenção/ Comparação:	Propranolol	("Propranolol" OR "Propanolol" OR "Inderal" OR "Avlocardyl" OR "AY-20694" OR "AY 20694" OR "AY20694" OR "Rexigen" OR "Dexpropranolol" OR "Dociton" OR "Obsidan" OR "Obzidan" OR "Propranolol Hydrochloride" OR "Hydrochloride, Propranolol" OR "Anaprilin" OR "Anapriline" OR "Betadren")
Desfecho:	Comportamento defensivo	("Fear" OR "Aversive learning")

Fonte: elaborado pelo autor (2021).

3.2.2 Critérios de elegibilidade

A construção dos critérios de elegibilidade foi feita considerando termos que caracterizam a pergunta da pesquisa estruturada pelo acrônimo PICO. Para a elaboração da revisão sistemática, foram incluídos artigos publicados que utilizaram os protocolos previamente descritos e que possuíam dados referentes ao comportamento defensivo do animal após a administração do propranolol pela via sistêmica.

Os primeiros critérios de exclusão foram aplicados em artigos publicados que envolvem outros animais, outros roedores ou humanos e em estudos com animais geneticamente modificados. Os critérios de elegibilidade estabelecidos que orientaram a seleção dos artigos científicos são apresentados, a seguir.

3.2.2.1 Critérios de inclusão

- a) artigos contendo estudos que descrevam os efeitos do propranolol em comparação com animais controle (ex. veículo ou não tratados);

- b) artigos contendo experimentos que utilizam testes comportamentais em ratos independentemente da idade, do sexo ou da linhagem, e que mostrem os dados das medidas comportamentais;
- c) artigos contendo experimentos com os seguintes protocolos experimentais: condicionamento aversivo (auditório, contextual ou olfatório), sobressalto potencializado pelo medo, labirinto em cruz elevado, teste campo aberto, teste de esquiva inibitória, teste de caixa claro-escuro, teste de interação social e teste de exposição ao predador;
- d) artigos sobre a administração de propranolol antes, durante ou depois do protocolo experimental, por meio da via de administração sistêmica (intraperitoneal, subcutânea, endovenosa e oral);
- e) artigos que tratam de todos os esquemas de dosagem (sem restrições de dose, horário ou frequência);
- f) artigos que abordam qualquer fase do experimento em que o propranolol tenha sido administrado anteriormente ao teste comportamental utilizado (estudos em que o propranolol foi administrado nas etapas de aquisição, consolidação e extinção da memória aversiva);
- g) artigos referentes a ratos saudáveis previamente estressados (animais com indução a comportamentos defensivos), ou não estressados, mas tratados com propranolol e testados nos protocolos comportamentais após o tratamento; e
- h) artigos que relatam os dados referentes ao comportamento defensivo (por exemplo: tempo, percentagem, médias, pontuações, comportamento de congelamento, reflexo de esquiva passiva, esquiva ativa, resposta emocional condicionada e condicionamento contextual, locomoção dos animais nos casos do teste de campo aberto, etc.) e que avaliam o comportamento dos ratos nos testes de comportamento, aprendizagem ou memória.

3.2.2.2 Critérios de exclusão

- a) Resenhas, revisões sistemáticas, meta-análises, cartas e editoriais foram excluídos;
- b) artigos referentes a estudos não originais (revisões, relatos de caso, etc.). Estudos ex vivo, estudos in vitro, estudos em outros animais e/ou humanos e estudos em sílico. Estudos sem um grupo controle;

- c) artigos sobre experimentos relatando dados de co-tratamentos (tratamento prévio com qualquer outra droga) ;
- d) artigos sobre estudos de aquisição, consolidação e extinção em que não relatem os dados relativos ao efeito do propranolol;
- e) artigos sobre experimentos que não apresentam grupo controle;
- f) artigos sobre outros critérios de seleção dos animais (por exemplo: animais previamente modificados geneticamente);
- g) artigos que não avaliam a resposta defensiva dos animais e/ou aquisição de comportamentos defensivos nos protocolos comportamentais e
- h) artigos sobre estudos que não mostram os dados das medidas comportamentais antes ou durante os testes de comportamento.

3.2.3 Amostragem

Os artigos encontrados nos bancos de dados foram exportados para o gerenciador de referência *EndNote*, onde as referências duplicadas foram excluídas.

As referências selecionadas no processo anterior foram importadas para outro gerenciador de referências *Mendeley Desktop*®, para, então, proceder outra triagem de exclusão das referências duplicadas de duas formas: 1- Pela função automática e 2- Pela exclusão manual. Após esse filtro, as referências bibliográficas ficaram prontas para a extração dos dados e elaboração da síntese qualitativa.

3.2.4 Seleção e viés de seleção

A seleção dos artigos para a revisão sistemática foi realizada de maneira independente por dois revisores. Os artigos foram selecionados após a leitura do título e resumo por meio da plataforma de seleção e análise de artigos Rayyan¹.

A estatística kappa é frequentemente usada para testar a confiabilidade entre avaliadores. A medição da concordância é realizada através de dados que os revisores (avaliadores) atribuem aos estudos (MCHUGH, 2012). Após a obtenção da quantidade de concordância e discordância dos dois pesquisadores, que são fornecidos pela própria

¹ Rayyan inteligente systematic review. Disponível em: <https://www.rayyan.ai/>

plataforma Rayyan, o índice Kappa foi calculado utilizando-se a plataforma <https://www.graphpad.com/>².

A fórmula Kappa, uma medida de concordância corrigida, desconta a proporção da concordância observada pela concordância esperada, sob a condição de que os pesquisadores fazem avaliações independentes (COHEN, 1960). Ou seja, a fórmula para o cálculo do índice Kappa de Cohen (k) faz uma relação entre a quantidade de concordâncias entre os observadores (Po) e a quantidade de concordância esperada ao acaso (Pe).

Kappa de Cohen (k):

$$k = \frac{Po - Pe}{1 - Pe}$$

A concordância observada (Po) é calculada pelo número de concordâncias dos dois pesquisadores em relação ao número total de observações. A concordância esperada por acaso (Pe), é obtida através da multiplicação individual das observações de cada avaliador.

Em estudos na área da saúde, uma força de concordância de Kappa de Cohen pode ser aceitável a partir de 0,41 (MCHUGH, 2012). O índice Kappa tem intervalos definidos variando de 0 a 1, sendo 0 o grau de discordância que pode ser esperado a partir do acaso, e 1 representa uma concordância perfeita entre os observadores.

Quadro 3 – Valores de referência para interpretação do Kappa de Cohen

Kappa	Força de concordância
< 0	Menor que ao acaso
0,00-0,20	Concordância leve
0,21-0,40	Concordância razoável
0,41-0,60	Concordância moderada
0,61-0,80	Concordância substancial
0,81-0,99	Concordância quase perfeita

Fonte: adaptado de Landis e Koch (1977).

² Disponível em: <https://www.graphpad.com/quickcalcs/kappa1/>

As discordâncias foram resolvidas por um terceiro revisor, e os estudos que atenderam os critérios de elegibilidade foram lidos na íntegra para novamente aplicar os critérios de elegibilidade e posterior inclusão ou exclusão na/da revisão.

3.2.5 Extração de dados

Os artigos primeiramente selecionados com base no título e/ou resumo, foram escolhidos de acordo com os critérios pré-estabelecidos e os que tiveram consenso entre os três revisores foram analisados na íntegra para que os dados dos estudos fossem extraídos e compilados em tabelas. Em seguida, foi feito o preenchimento com a extração dos seguintes dados:

- a) **Identificação do estudo:** autor(es), ano de publicação e referência completa;
- b) **Desenho do estudo:** número de experimentos ou replicação, grupo comparador (controle ou tratado), exposição a outra droga (antes ou depois do teste comportamental);
- c) **Características da população:** sexo e protocolo de estresse (modelo/teste experimental utilizado);
- d) **Características da intervenção:** dose(s) utilizada(s), via de administração e o desfecho (efeito relatado);
- e) **Características dos desfechos:** comportamentos defensivos. Valor de “p” (probabilidade de haver diferença entre os tratamentos) após o teste no modelo aversivo em que os animais foram tratados previamente.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 SELEÇÃO BIBLIOGRÁFICA

As etapas de estratégia de busca, triagem e elegibilidade da revisão sistemática estão representados no fluxograma (Figura 2). Dos artigos publicados nos bancos de dados até 27/09/2021, foram identificadas 44 publicações relevantes no *Pubmed*, 1.015 publicações relevantes no *Scopus* e 114 publicações relevantes no *Web of Science*, totalizando 1.173 artigos rastreados nos três bancos de dados. Desses registros

selecionados, 142 publicações foram excluídas com o auxílio do programa *EndNote*, por tratar-se de artigos duplicados.

Do total de 1.031 artigos, que foram selecionados pela leitura do título e do resumo, 848 artigos foram excluídos. Desta forma, cento e oitenta e três artigos foram selecionados conforme os critérios de elegibilidade estabelecidos. Uma segunda avaliação foi realizada para garantir um maior rigor dos critérios de elegibilidade, e sessenta publicações adicionais foram excluídas por tratar-se de experimentos com injeções não sistêmicas.

A partir de 123 publicações selecionadas e importadas para o programa *Mendeley Desktop*®, foram realizadas 86 exclusões na etapa de leitura do texto dos artigos. As razões para a exclusão incluem: 1) a presença de um artigo duplicado; 2) um estudo em camundongo; 3) três artigos não encontrados na íntegra para análise do texto completo; 4) Setenta e seis artigos que não preenchiam os critérios de elegibilidade referentes aos testes comportamentais; e 5) cinco artigos não relataram os dados referentes ao comportamento dos animais. Por fim, o total de 37 artigos foram considerados relevantes e selecionados para análise e síntese descritiva (fluxograma PRISMA no anexo B).

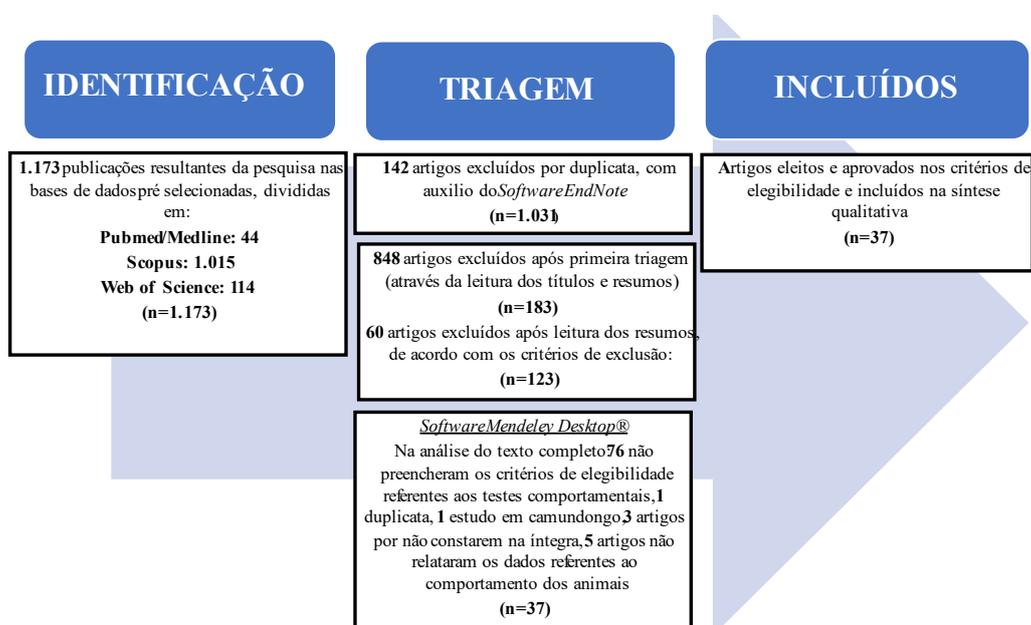


Figura 1 – Fluxograma dos resultados de cada etapa de seleção dos artigos para análise. Resultados das etapas de identificação, triagem e artigos incluídos na seleção dos artigos da revisão sistemática. Fonte: elaborada pelo autor (2022)

Através da plataforma Rayyan, foram aplicados os critérios de elegibilidade por dois pesquisadores, na etapa de triagem, a partir da leitura dos títulos e resumos dos 1.031 artigos. Nesta etapa foi aplicado o teste Kappa, para medir o índice de concordância. Foram excluídos 772 artigos que tiveram concordância entre os dois pesquisadores após a leitura do título e do resumo, com base nos critérios de elegibilidade.

		Revisor B		
		Aceitar	Rejeitar	Total
Revisor A	Aceitar	159	22	181
	Rejeitar	78	772	850
	Total	237	794	1031

Figura 2 – Planilha elaborada para cálculo do teste estatístico Kappa de Cohen. O valor obtido nesta planilha gerou um índice Kappa= $0,7 \pm 0,028$; intervalo de confiança de 0,647 até 0,755. Número de concordância entre avaliadores: 931 (159 + 772; 90,30% das observações). Número de concordâncias esperadas ao acaso: 696,2 (67,53% das observações). Fonte: elaborada pelo autor (2021).

O resultado de 0.7 do índice Kappa calculado, mostra que houve uma concordância substancial (Quadro 3) na avaliação dos artigos, respeitando-se os critérios de elegibilidade utilizados, na primeira fase, pelos dois pesquisadores possibilitando um maior controle sobre um possível viés de seleção.

Houve, portanto, concordância entre os dois pesquisadores na leitura do título e do resumo para a inclusão de 159 artigos. Após a análise pelo terceiro pesquisador, de 100 artigos que foram alvo de discordância entre os dois pesquisadores, foram adicionados mais 24 artigos ao quantitativo inicialmente selecionado.

4.4 RELAÇÃO ENTRE DOSES E EFEITOS DO PROPRANOLOL

A dose mais utilizada para ratos nos testes comportamentais foi a de 10 mg/kg, que representou 54,5% do total dos estudos selecionados. As doses de 4 a 5 mg/kg representaram 18,1% dos estudos, seguidos dos que utilizaram doses acima de 10 mg/kg que representaram 14,5% do total dos estudos analisados. Doses de 2 a 3 mg/kg representaram 12,7% do total dos estudos. A menor dose utilizada nos estudos foi de 2,0 mg/kg no CA e TCA, e a maior dose utilizada foi de 50 mg/kg no do LCE.

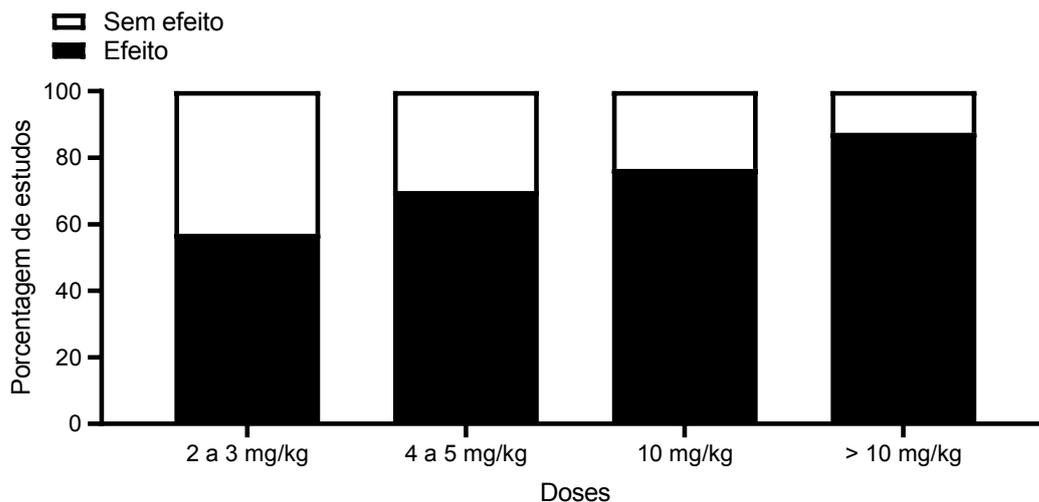


Figura 3 – Porcentagem dos estudos que descrevem o efeito do propranolol por faixas de doses. Fonte: elaborada pelo autor (2022)

Com base nesses resultados, do total de sete experimentos que utilizaram a dose de 2 a 3 mg/kg, quatro estudos (57,1%) mostraram efeitos do propranolol no comportamento defensivo dos animais. Dos dez estudos que utilizaram as doses de 4 a 5 mg/kg, houve efeito em sete estudos (70%). A dose mais utilizada foi a de 10 mg/kg, observada em trinta estudos e, destes, vinte e três (76,6%) mostraram efeitos do propranolol no que se refere à diminuição do comportamento defensivo dos animais. Em oito estudos, foram utilizadas mais de 10 mg/kg, sendo que destes últimos, sete estudos (87,5%) tiveram efeito na diminuição do comportamento defensivo.

A tabela a seguir mostra algumas das doses utilizadas nos estudos. Um total de 55 experimentos foram analisados. Este número deve-se ao fato de que alguns artigos utilizaram mais de uma dose para avaliar o comportamento dos animais em seus estudos (CAREAGA et al., 2015; INAGAKI et al., 2010; KROON; CAROBREZ, 2009; MORRIS; WESTBROOK, 2005; STERN et al., 2008; WALKER; DAVIS, 2002; ZHOU et al., 2015; ZHU et al., 2018).

Tabela 1 – Porcentagem de artigos, por faixa de dose, que descrevem o efeito do propranolol sobre o comportamento defensivo em ratos submetidos aos protocolos experimentais analisados.

Protocolos	Dose mg/kg							
	2,0 a 3,0		4,0 a 5,0		10,0		> 10,0	
	↓	↔	↓	↔	↓	↔	↓	↔
Condicionamento aversivo	4 (66%)	2 (34%)	7 (78%)	2 (22%)	19 (79%)	5 (21%)	1 (100%)	-
Sobressalto potencializado pelo medo	-	-	-	-	2 (100%)	-	4 (100%)	-
Labirinto em cruz elevado	-	-	-	1 (100%)	1 (50%)	1 (50%)	2 (66%)	1 (34%)
Teste Campo Aberto	-	1 (100%)	-	-	1 (50%)	1 (50%)	-	-

Legenda: ↓ = redução; ↔ = sem efeito (Fonte: elaborada pelo autor)

4.3 RELAÇÃO DO SEXO DOS ANIMAIS COM A QUANTIDADE DE ESTUDOS

Com relação ao sexo dos animais utilizados, quarenta e oito (87,2%) foram realizados apenas com animais machos. Desses estudos, em trinta e cinco (72,9%) houve redução do comportamento defensivo e, em treze (27%) o tratamento com propranolol não diferiu dos animais controle. Dos três estudos (5,4%) que utilizaram machos e fêmeas, todos mostraram efeitos do fármaco. Apenas um estudo (1,8%) utilizou somente fêmeas no experimento, e mostrou o efeito do propranolol na redução do comportamento de congelamento nos animais estudados. Outros três (5,4%) estudos não informaram o sexo dos animais utilizados e, destes, apenas um estudo um não mostrou efeito da droga.

4.2 RESULTADOS DO EFEITO DO PROPRANOLOL POR PROTOCOLO

O gráfico, a seguir (figura 4), mostra a porcentagem de estudos que descrevem o efeito do propranolol, independente das doses estudadas, para cada protocolo experimental.

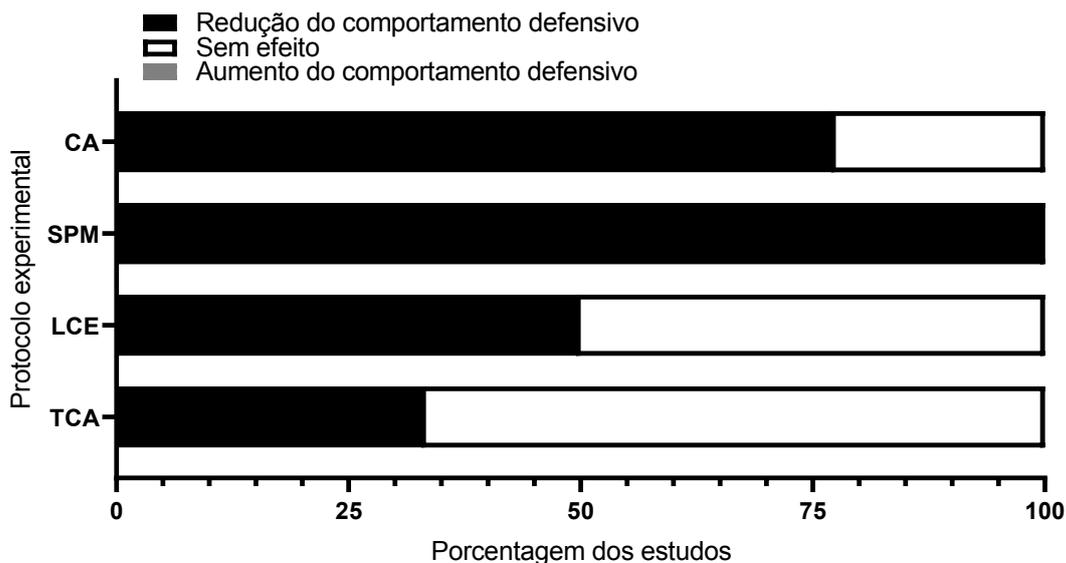


Figura 4 – Porcentagem dos estudos que descrevem o efeito do propranolol. Legenda: CA, Condicionamento Aversivo; SPM, Sobressalto Potencializado pelo Medo; LCE, Labirinto em Cruz Elevado; TCA, Teste Campo Aberto. Fonte: elaborada pelo autor (2022)

Os estudos mostraram uma redução do comportamento defensivo dos animais testados nos protocolos do CA (77%) e do SPM (100%). Já os estudos que utilizaram o LCE e o TCA, o tratamento com propranolol não mostrou um efeito evidente sobre o comportamento defensivo. Embora sejam protocolos que permitam avaliar o comportamento defensivo dos animais, no LCE 50% dos estudos não mostraram efeito do propranolol no comportamento defensivo dos animais, e no TCA apenas 33% dos estudos mostraram que os animais tratados com propranolol apresentaram mudanças dos comportamentos defensivos. Os outros protocolos experimentais selecionados para análise na metodologia: teste de esquiva inibitória, teste de caixa claro-escuro, teste de interação social e teste de exposição ao predador, não preencheram todos os critérios de elegibilidade pré-estabelecidos para a inclusão na análise qualitativa da revisão sistemática.

4.5 EFEITO DO PROPRANOLOL NO CONDICIONAMENTO AVERSIVO

Para o protocolo de condicionamento aversivo foram identificados quarenta estudos nos vinte e oito artigos selecionados. Como mostrado na tabela 2 a seguir, apenas quatro artigos (CAREAGA et al., 2020; CARRIVE, 2006; LUYTEN et al., 2021; RAFIQ et al., 2020), não apresentaram redução do comportamento defensivo. Conforme o

experimento de Kroon e Carobrez (2009), houve efeito com a dose de 10 mg/kg. De acordo com os estudos de Morris e Westbrook (2005), não foi observado efeito na dose de 2,5 e 10 mg/kg, porém, a dose de 5 mg/kg foi eficiente na redução do comportamento defensivo. Segundo Zhu et al. (2018), somente a dose de 10 mg/kg não reduziu o comportamento no condicionamento aversivo contextual e a dose de 5 mg/kg não mostrou alterações no comportamento aversivo auditório.

Tabela 2 – Efeito do propranolol sobre o comportamento defensivo em ratos submetidos ao condicionamento aversivo.

Dose	Via de adm.	Sexo	Resultados	Autor
20 mg/kg	i.p.	M/F	↓ (p < 0,05)	Kabitzke et al., 2011
10 mg/kg	s.c.	M	↓ (p < 0,01)	Bainbridge; Greenwood, 1971
10 mg/kg	i.p.	M	↓ (p < 0,01)	Careaga et al., 2015
10 mg/kg	i.p.	M	↔ (p > 0,05)	Careaga et al., 2020
10 mg/kg	i.p.	M	↓ (p < 0,001)	Debiec; Ledoux, 2004
10 mg/kg	i.p.	M	↓ (p < 0,01)	Díaz-Mataix, 2017
10 mg/kg	i.p.	M	↓ (p < 0,05)	Do-Monte et al., 2008
10 mg/kg	i.p.	M	↓ (p < 0,05)	Do-Monte et al., 2010
10 mg/kg	i.p.	M	↓ (p < 0,05)	Fitzgerald et al., 2015
10 mg/kg	i.p.	M	↓ (p < 0,01)	Gazarini et al., 2013
10 mg/kg	i.p.	M	↓ (p = 0,0023)	Giustino et al., 2020
10 mg/kg	i.p.	M	↓ (p < 0,05)	Kroon; Carobrez, 2009
10 mg/kg	i.p.	M	↔ (p = 0,72)	Luyten et al., 2021
10 mg/kg	i.p.	M	↔ (p > 0,05)	Morris; Westbrook, 2005
10 mg/kg	i.p.	M	↓ (p < 0,001) / CAA	Muravieva; Alberini, 2010
10 mg/kg	i.p.	M	↓ (p < 0,001) / CAC	Muravieva; Alberini, 2010
10 mg/kg	i.p.	M	↓ (p < 0,001)	Ninomiya et al., 2010
10 mg/kg	i.p.	M	↔ (p > 0,05)	Rafiq et al., 2020
10 mg/kg	i.p.	F	↓ (p < 0,01)	Robinson et al., 2019
10 mg/kg	i.p.	M	↓ (p = 0,04)	Rodriguez-Romaguera et al., 2009
10 mg/kg	i.p.	M	↓ (p < 0,01)	Schneider et al., 2014
10 mg/kg	i.p.	M	↓ (p = 0,003)	Wang et al., 2021
10 mg/kg	i.p.	M	↓ (p = 0,01)	Zhou et al., 2015
10 mg/kg	s.c.	M	↓ (p < 0,026) / CAA	Zhu et al., 2018
10 mg/kg	s.c.	M	↔ (p = 1,000) / CAC	Zhu et al., 2018
5 mg/kg	i.p.	M	↓ (p = 0,006)	Abrari et al., 2008
5 mg/kg	i.p.	M	↓ (p < 0,0001)	Archbold et al., 2013
5 mg/kg	i.p.	M	↓ (p = 0,01)	Careaga et al., 2015
5 mg/kg	i.p.	M	↔ (p > 0,05)	Kroon; Carobrez, 2009
5 mg/kg	i.p.	M	↓ (p < 0,05)	Morris; Westbrook, 2005
5 mg/kg	i.p.	-	↓ (p < 0,001)	Zaichenko et al., 2017

5 mg/kg	i.p.	M	↓ (p = 0,01)	Zhou et al., 2015
5 mg/kg	s.c.	M	↔ (p = 1,000) / CAA	Zhu et al., 2018
5 mg/kg	s.c.	M	↓ (p = 0,004) / CAC	Zhu et al., 2018
2,5 mg/kg	i.p.	M	↔ (p > 0,05)	Morris; Westbrook, 2005
2 mg/kg	i.p.	M	↓ (p = 0,04)	Careaga et al., 2015
2 mg/kg	i.p.	-	↓ (p < 0,05)	Camp; Johnson, 2015
2 mg/kg	i.v.	M	↔ (p > 0,1918)	Carrive, 2006
2 mg/kg	s.c.	M	↓ (p < 0,001) / CAA	Zhu et al., 2018
2 mg/kg	s.c.	M	↓ (p = 0,049) / CAC	Zhu et al., 2018

Legenda: ↓ = diferença no comportamento dos ratos submetidos ao tratamento com propranolol; ↔ = sem alteração no comportamento dos ratos submetidos ao tratamento; adm. = administração; CAA = Condicionamento Aversivo Auditório; CAC = Condicionamento Aversivo Contextual; i.p = intraperitoneal; i.v. = intravenosa; s.c. = subcutânea; v.o. = via oral; F = Fêmeas; M = Machos; mg/kg = miligramas por quilo; PROP = propranolol

Na tabela observa-se que a dose mais utilizada nos experimentos foi a de 10 mg/kg (57,5%). Agrupando todas as doses e protocolos de condicionamento aversivo em 77,5% o tratamento com propranolol provocou uma redução no comportamento defensivo quando comparados com os ratos do grupo controle.

4.5.1 Discussão sobre o efeito do propranolol em ratos testados no condicionamento aversivo

Nos testes de condicionamento aversivo, a administração sistêmica de propranolol levou a uma diminuição do comportamento defensivo em comparação com os grupos de ratos não tratados (ARCHBOLD et al., 2013; CAMP; JOHNSON, 2015; CAREAGA et al., 2015; DEBIEC; LEDOUX, 2004; DÍAZ-MATAIX, 2017; DO MONTE et al., 2008; DO MONTE et al., 2010; FITZGERALD et al., 2015; GAZARINI et al., 2013; GIUSTINO et al. 2020; KABITZKE et al., 2011; MORRIS WESTBROOK, 2005; NINOMIYA et al., 2010; RODRIGUEZ-ROMAGUERA et al., 2009; SCHNEIDER et al., 2014;; ZAICHENKO et al., 2017; ZHOU et al., 2015).

Mesmo durante o teste de retenção da memória (dois dias de condicionamento de extinção, após a administração da droga), o nível de comportamento defensivo do grupo propranolol foi menor quando comparado com grupo salina (WANG et al., 2021). Além de reduzir o comportamento defensivo no teste aversivo auditório, a droga provocou o aumento dos comportamentos exploratórios (BAINBRIDGE; GREENWOOD, 1971). O

propranolol também reduziu a porcentagem do comportamento de congelamento em um teste de reconsolidação após reforço de um estímulo aversivo (ABRARI et al., 2008).

Conforme Robinson et al. (2019), em um teste que avaliou o efeito do propranolol na memória aversiva dos animais, os comportamentos relacionados ao estresse mostraram-se reduzidos, mas apenas quando a droga foi administrada antes de cada sessão de reexposição ao estímulo aversivo previamente condicionado, e os animais também mostraram uma resiliência aos estímulos causadores do comportamento defensivo subsequentes.

O propranolol tanto pode diminuir a resposta defensiva como pode prejudicar a memória. O fármaco provocou a redução das respostas defensivas quando injetado antes ou após as sessões de condicionamento (KROON; CAROBREZ, 2009). Segundo Do Monte e colaboradores (2008), concluíram que: diferente dos ratos controle, os animais tratados com propranolol mostraram um aumento do tempo gasto perto da fonte do estímulo aversivo. Nesse caso, o β -bloqueador foi capaz de diminuir as respostas defensivas, bem como a aquisição do medo contextual ao odor de gato (DO MONTE et al., 2008). Injeções de propranolol após o condicionamento aversivo interferiram também na consolidação da memória aversiva (KABITZKE et al., 2011; KROON; CAROBREZ, 2009).

Testes de extinção realizados após o condicionamento mostram que os níveis de estresse psicológico permanecem altos, e provavelmente os níveis de hormônios relacionados ao estresse também permaneçam. Logo, os animais apresentam um déficit de extinção imediata (IED), do inglês *immediate extinction deficit*, mas quando o propranolol é administrado antes do teste, observa-se a redução do comportamento defensivo dos animais (FITZGERALD et al., 2015; WANG et al., 2021).

Em suma, em testes de pistas e de contexto, foram observados o efeito do propranolol no comportamento defensivo dos animais (MURAVIEVA; ALBERINI, 2010). Indicando o papel da atividade β -adrenérgica no comportamento defensivo (MORRIS; WESTBROOK, 2005).

No entanto outros estudos mostrados a seguir não apresentaram diferenças no comportamento dos ratos condicionados e tratados com propranolol. Mostrando que a reprodutibilidade dos estudos pode ser mais difícil de ser alcançada devido as diferentes condições experimentais e das peculiaridades de cada laboratório.

Em contraste com a maior parte dos dados disponíveis na literatura, a injeção da droga administrada antes do EC auditivo, o congelamento no grupo propranolol foi menor do que na condição de controle, mas o efeito não demonstrou diferença estatisticamente significativa e não foram encontradas evidências de amnésia induzida pela droga em ratos injetados após o condicionamento (LUYTEN et al., 2021), o que pode revelar um indício de que a memória do estímulo aversivo permanece após a consolidação, ou de que a dose da droga não foi capaz de prejudicar a consolidação do aprendizado.

Em um estudo que avalia a ativação simpática do condicionamento aversivo, a dose de 2 mg/kg apesar de abolir as respostas de aumento da frequência cardíaca características do comportamento defensivo, o propranolol não afetou as respostas comportamentais em comparação com o grupo salina (CARRIVE, 2006). Para a modificação nos testes comportamentais pode ser necessário uma dose mais elevada.

Outro aspecto aborda a questão dos testes realizados após grandes intervalos de tempo. O estudo mostra que 15 e 16 dias após a aquisição do condicionamento, o propranolol administrado após a reativação da memória no contexto aversivo não atenuou a expressão subsequente da memória contextual (CAREAGA et al., 2020). Ao encontro deste resultado anterior, o teste estatístico para o tempo de congelamento dos animais testados após uma longa sessão de extinção, ou seja, a injeção do propranolol administrada depois de 14 dias do condicionamento, não revelou diferenças entre os grupos tratados e não tratados (RAFIQ et al., 2020). Estes estudos sugerem que o propranolol não afetou a recuperação da memória aversiva de longo prazo.

Contudo o propranolol diminuiu o comportamento defensivo em 77,5% dos estudos de condicionamento aversivo. Geralmente estes estudos avaliam o comportamento defensivo após um período curto entre a administração do fármaco e o teste comportamental. Os resultados também mostram que após longos períodos de intervalo entre o tratamento e o teste, a droga não reduz o comportamento defensivo. O momento da administração do fármaco, a intensidade do estímulo aversivo, o tipo de pista e a dose interferem nos resultados dos estudos. Os estudos que avaliam o comportamento após longos períodos entre o condicionamento e a expressão da memória mostram que o fármaco não diminui o comportamento defensivo. Pode-se concluir que após a consolidação da memória aversiva o propranolol não interfere nesta memória.

4.6 EFEITO DO PROPRANOLOL NO SOBRESSALTO POTENCIALIZADO PELO MEDO (SPM)

Nos estudos que aplicaram o protocolo de sobressalto potencializado pelo medo, foram identificados quatro artigos. Destes artigos, dois utilizaram mais de uma dose em seus experimentos (INAGAKI et al., 2010; WALKER; DAVIS, 2002). E todos os estudos mostraram redução no comportamento defensivo dos animais tratados com propranolol.

Tabela 3 – Efeito do propranolol sobre o comportamento defensivo em ratos submetidos ao sobressalto potencializado pelo medo (SPM).

Dose	Via de adm.	Sexo	Resultados	Autor
20 mg/kg	i.p.	M/F	↓ (p < 0,01)	Weber et al., 2003
20 mg/kg	i.p.	M	↓ (p < 0,02)	Davis et al., 1979
20 mg/kg	i.p.	M	↓ (p < 0,01)	Inagaki et al., 2010
20 mg/kg	i.p.	M	↓ (p < 0,05)	Walker; Davis, 2002
10 mg/kg	i.p.	M	↓ (p < 0,01)	Inagaki et al., 2010
10 mg/kg	i.p.	M	↓ (p < 0,05)	Walker; Davis, 2002

Legenda: ↓ = diferença no comportamento dos ratos submetidos ao tratamento; ↔ = sem alteração no comportamento dos ratos submetidos ao tratamento; adm. = administração; i.p = intraperitoneal; F = Fêmeas; M= Machos; mg/kg = miligramas por quilo; PROP = propranolol

Na tabela do SPM, acima, pode-se observar que doses superiores a 10 mg/kg foram utilizadas em (66%) dos estudos. Do total de 6 experimentos, houve redução no comportamento defensivo, em resposta aos estímulos sonoros, em (100%) dos estudos que avaliaram o comportamento dos animais tratados com propranolol quando comparados com animais controles injetados com salina.

4.6.1 Discussão sobre o efeito do propranolol em ratos testados no teste de sobressalto potencializado pelo medo

Modelos comportamentais aplicados em animais são sensíveis a fármacos que afetam o comportamento defensivo: drogas que diminuem a transmissão de NE (propranolol) diminuíram o sobressalto potencializado, enquanto drogas que aumentam a transmissão de NE aumentaram a resposta de sobressalto potencializado pelo medo (DAVIS et al., 1979).

Nos grupos de ratos em que o propranolol foi injetado, o comportamento foi alterado pelo tratamento, que reduziu a amplitude do sobressalto potencializado pelo medo nos animais estudados (DAVIS et al., 1979; INAGAKI et al., 2010).

Os estímulos sonoros aos quais os animais são submetidos para provocar o sobressalto também foram testados com intensidade de luz diferentes (WALKER; DAVIS, 2002). Especificamente, altos níveis de iluminação foram responsáveis por aumentar as amplitudes de sobressalto em ratos. Além disso, o sobressalto intensificado pela luz observado nos animais foi prevenido por uma injeção sistêmica de propranolol (WEBER et al., 2003). Ratos tratados com salina tiveram uma amplitude de sobressalto maior do que os ratos que receberam propranolol (WALKER; DAVIS, 2002; WEBER et al., 2003).

Os ratos ao receberem estímulos aversivos que potencializam as respostas defensivas, mostraram uma diminuição destas respostas nos experimentos. Este modelo se mostrou eficiente em provocar uma situação de estresse e a administração do propranolol nestas situações indicam um efeito que modifica a resposta defensiva dos animais, ou seja, diminuíram a amplitude do sobressalto o que indica uma maior habituação e um menor estado de alerta dos animais estudados.

4.7 EFEITO DO PROPRANOLOL NO LABIRINTO EM CRUZ ELEVADO (LCE)

Com relação ao protocolo do labirinto em cruz elevado (LCE), como mostra a tabela 4 a seguir, foram identificados quatro artigos dentre os selecionados na revisão. No artigo de Parfitt e colaboradores (2012), em um protocolo que provocou um alto nível de estresse o estudo não mostrou alteração no comportamento dos animais tratados quando comparados com animais controle. No estudo de Stern e colaboradores (2008), quando os animais foram expostos diretamente ao aparato, sem um protocolo de estresse prévio, somente a dose de 20 mg/kg reduziu o comportamento defensivo, os dados referentes às outras doses (10 e 5 mg/kg) foram disponibilizadas no artigo na forma de gráfico que não houve diferença no total de tempo gasto nos braços abertos dos animais tratados.

Tabela 4 – Efeito do propranolol sobre o comportamento defensivo em ratos submetidos ao labirinto em cruz elevado (LCE).

Dose	Via de adm.	Sexo	Resultados	Autor
50 mg/kg	v.o.	M	↓ (p = 0,0004)	Zaidi et al., 2020
25 mg/kg	i.p.	M	↔ (p > 0,05)	Parfitt et al., 2012
20 mg/kg	i.p.	M	↓ (p < 0,05)	Stern et al., 2008
10 mg/kg	i.p.	M/F	↓ (p = 0,0063)	Aykac et al., 2012
10 mg/kg	i.p.	M	↔	Stern et al., 2008
5 mg/kg	i.p.	M	↔	Stern et al., 2008

Legenda: ↓ = diferença no comportamento dos ratos submetidos ao tratamento; ↔ = sem alteração no comportamento dos ratos submetidos ao tratamento; adm. = administração; i.p. = intraperitoneal; F = Fêmeas; M = Machos; mg/kg = miligramas por quilo; PROP = propranolol; v.o. = via oral.

Na tabela do subgrupo LCE, acima, os dados mostram que doses mais elevadas foram utilizadas nos experimentos. Os estudos que não indicaram o efeito do fármaco no tempo gasto nos braços abertos do aparato totalizaram 50%. Do total de 6 experimentos, os estudos que utilizaram 10 ou mais de 10 mg/kg totalizaram 92% dos experimentos.

4.7.1 Discussão sobre o efeito do propranolol em ratos testados no labirinto em cruz elevado

No teste do labirinto em cruz elevado, o menor o tempo gasto nos braços abertos do aparato pelos ratos torna-se um indicador de comportamento defensivo. Nos braços abertos do labirinto, o animal está mais exposto, e o tempo de permanência neste local do aparato indica que este animal está menos aversivo à plataforma de avaliação. Os dados do tempo gasto nos braços abertos por animais tratados com propranolol, em comparação com grupos não tratados, foram coletados dos artigos selecionados.

Para avaliar a participação dos receptores β -adrenérgicos em comportamentos relacionados ao estresse e ansiedade, alguns estudos avaliam a resposta dos animais quando o propranolol é administrado antes do teste (PARFITT et al., 2012).

Ratos expostos ao LCE, sem a utilização de drogas ansiolíticas, geralmente permanecem mais tempo nos braços fechados do aparato. Acredita-se que o fenômeno se deva à aversão associada ao explorar inicialmente um ambiente potencialmente perigoso (STERN et al., 2008). No estudo demonstrou-se o efeito dose-dependente do propranolol nas respostas comportamentais dos ratos testados no aparato, já que doses mais baixas 5 e 10 mg/kg, não alteraram o comportamento dos ratos em comparação com o grupo controle. Com relação à memória aversiva, o fármaco (20 mg/kg) prejudicou a aquisição,

mas não a consolidação da aprendizagem (STERN et al., 2008). Os animais testados foram expostos ao aparato em dois momentos distintos para a avaliação do efeito do propranolol sobre a memória.

Conforme Aykac et al. (2012), nos animais estressados previamente com odor de gato, o propranolol 10 mg/kg diminuiu os índices de comportamentos defensivos. Para chegar a essa conclusão, foi mensurado o tempo gasto nos braços abertos, e analisadas as entradas nos braços abertos e entradas total nos braços do aparato. Estes dados mostram um comportamento mais exploratório do aparato pelos animais estudados.

No estresse causado por imobilização, o teste no LCE demonstrou uma maior permanência dos animais nos braços protegidos, dependente do tempo de exposição ao estímulo aversivo. Testes de memória realizados no segundo dia de teste após a injeção do propranolol indicaram que não houve alteração na porcentagem de tempo gasto nos braços abertos entre os grupos dos animais tratados (25 mg/kg) e não tratados com propranolol (PARFITT et al., 2012). Além de mostrar que a intensidade do estímulo aversivo prévio interfere diretamente na aversão à tarefa.

Em outro modelo de estresse chamado derrota social (SD do inglês *social defeat*), observam-se encontros agressivos entre um grande rato macho Long-Evans e um rato macho Sprague-Dawley menor. Nesse experimento, quando os animais foram testados no LCE, o tempo gasto nos braços abertos por ratos estressados e tratados com propranolol (50mg/kg), foi maior do que ratos expostos somente ao estresse prévio tratados com salina (ZAIDI et al., 2020), indicando um efeito tranquilizante do propranolol.

Os estímulos aversivos prévios variaram bastante entre os estudos analisados. Ao serem expostos ao aparato do LCE os animais exibiram tanto comportamentos defensivos como não defensivos. Isto pode estar relacionado com o nível de estresse prévio, com as doses utilizadas e com o contexto, já que o teste no aparato é feito em um contexto diferente de onde os animais foram submetidos ao estresse.

4.8 EFEITO DO PROPRANOLOL NO TESTE CAMPO ABERTO (TCA)

Conforme mostra a tabela 5, foram identificados três artigos que utilizaram o teste campo aberto (TCA). Dois estudos não mostram efeito comportamental após o tratamento com propranolol (CAMP; JOHNSON, 2015; RODRIGUEZ-ROMAGUERA et al., 2009).

Tabela 5 – Efeito do propranolol sobre o comportamento defensivo em ratos submetidos ao teste do campo aberto (TCA).

Dose	Via de adm.	Sexo	Resultados	Autor
10 mg/kg	i.p.	M	↓ (p < 0,05)	Fan et al., 2011
10 mg/kg	i.p.	M	↔ (p = 0,73)	Rodriguez-Romaguera et al., 2009
2 mg/kg	i.p.	-	↔ (p = 0,196)	Camp; Johnson, 2015

Legenda: ↓ = diferença no comportamento dos ratos submetidos ao tratamento com propranolol; ↔ = sem alteração no comportamento dos ratos submetidos ao tratamento; adm. = administração; i.p = intraperitoneal; M = Machos; mg/kg = miligramas por quilo; PROP = propranolol

Um único experimento, 33,3% do total, que utilizou a dose 10 mg/kg, mostrou efeito do propranolol em reduzir os comportamentos defensivos. Os resultados mostram que 66,7% dos estudos não mostraram uma redução no comportamento dos animais tratados com propranolol quando comparados com animais injetados com salina (controle).

4.8.1 Discussão sobre o efeito do propranolol em ratos testados no teste campo aberto

Um estudo que avaliou as respostas no TCA após o condicionamento aversivo e posteriormente um treino de extinção da memória aversiva dos animais, o propranolol administrado sistemicamente na dose de 10mg/kg, não alterou a resposta defensiva no TCA (RODRIGUEZ-ROMAGUERA et al., 2009). Este estudo indica que o propranolol apesar de diminuir o comportamento defensivo no protocolo de condicionamento aversivo, não interfere na memória, pois o comportamento dos animais tratados, não apresenta diferença entre os animais controle quando expostos ao TCA.

Animais expostos a estressores graves ou exposição repetida a estressores crônicos leves CMSs (do inglês *chronic mild stressors*), quando injetados com 2 mg/kg de propranolol e testados no campo aberto, não apresentaram diferença no nível de estresse, ou seja, os animais tratados e não tratados com propranolol passaram uma quantidade parecida de tempo gasto na zona central e não houve diminuição na atividade locomotora geral, seja pela distância percorrida ou pelo tempo gasto em movimento (CAMP; JOHNSON, 2015).

Indo de encontro aos resultados anteriores, quando o teste foi utilizado para observar o comportamento exploratório e a reação dos ratos submetidos ao estresse leve imprevisível crônico (CUMS, do inglês *chronic unpredictable mild stress*), os animais

injetados com propranolol, na dose de 10 mg/kg, apresentaram tempo maior no centro do aparato do que o grupo não tratado (FAN et al., 2011).

O TCA também pode ser utilizado como modelo para o estudo do comportamento defensivo. Estudos indicam que os ratos expostos ao aparato tendem a adquirir um comportamento mais exploratório caso não estejam estressados. O efeito do propranolol, como indicado em outros protocolos, depende da dose e da intensidade do estímulo aversivo que interferem nas respostas defensivas. Porém a presente revisão sistemática rastreou poucos estudos que empregaram este protocolo, impedindo uma análise mais detalhada sobre o efeito do propranolol no TCA.

4.9 DISCUSSÃO GERAL

Os resultados da análise dos dados, realizada nesta revisão sistemática da literatura, sugerem que o tratamento com propranolol provoca a redução das respostas defensivas em ratos expostos a testes de condicionamento. Porém, o efeito do propranolol pode sofrer interferência da intensidade do estímulo aversivo prévio, do protocolo de estresse, do tempo entre a administração do propranolol e do teste comportamental, do tipo de comportamento analisado em cada protocolo experimental e da dose do fármaco. Estas variáveis devem ser consideradas para uma análise estatística e/ou meta-análise em estudos futuros. É importante ressaltar que a avaliação matemática só deve ser executada se houver homogeneidade nas intervenções avaliadas, ou seja, as características dos estudos incluídos devem ser similares e as variáveis dos estudos devem ser conceituadas e avaliadas da mesma forma. Caso contrário a revisão terá apenas uma avaliação qualitativa e descritiva (BARBOSA et al., 2019).

A estimulação adrenérgica, que atua predominantemente na periferia por causa do transporte mínimo através da barreira hematoencefálica aumenta a pressão arterial média (PAM) e a frequência cardíaca (FC) que são parâmetros cardiovasculares que muitas vezes são utilizados para avaliar as modificações referentes ao comportamento animal (GOMES, 2018). Ao investigar-se a ação do sistema β -adrenérgico periférico, pode-se concluir que a estimulação deste sistema provoca um comportamento semelhante ao da ansiedade em roedores. A ativação dos adrenoreceptores β produz um condicionamento que é capaz de promover respostas defensivas semelhantes ao condicionamento com choque elétrico nas patas, ou seja, promovem respostas defensivas gerada pela ativação de circuitos de estresse/medo (PAVESI, 2010).

A ativação interoceptiva eleva a frequência cardíaca, produzindo sintomas somáticos e, em menor grau, psicológicos. Podemos supor que a ativação do sistema β -adrenérgico evoca um estado de ansiedade, agindo como sinais periféricos (LEO et al., 2015). O envolvimento de regiões do encéfalo na percepção visceral sugerem que durante reações emocionais envolvendo alterações na função dos órgãos viscerais, pode ser devida aos processos interoceptivos (CAMERON, 2002). A hiperventilação induzida pela estimulação de determinadas áreas do encéfalo é modulada por mecanismos adrenérgicos centrais e periféricos (CAROBREZ et al., 1983). Observações clínicas demonstraram uma ligação entre a frequência cardíaca e transtornos de ansiedade ou pânico. Palpitações cardíacas, falta de ar, desconforto no peito e tremores são sintomas comuns de pânico e apontam para o sistema β adrenérgico (POHL et al., 1988). A sensibilidade relatada dos pacientes com transtorno de ansiedade às catecolaminas (noradrenalina, adrenalina e dopamina) sugere a possibilidade de que o adrenoceptor β possa desempenhar um papel no transtorno do pânico. Diversos estudos sugerem que a ansiedade e seus distúrbios associados são comuns em pacientes com doença cardiovascular e podem influenciar significativamente a saúde cardíaca (CELANO et al., 2016).

De acordo com Blanchard (2017), comportamentos defensivos específicos de roedores podem ser modelados por características dos estímulos e da situação que provocam ameaças. As diferenças nos resultados dos estudos, podem ser atribuídos às condições experimentais, às considerações metodológicas, incluindo principalmente as características dos estímulos e ao ambiente de teste, mas também as condições de moradia, a hora do dia no teste, bem como características dos animais (FERLAND-BECKHAM et al., 2021). A intensidade do condicionamento, o intervalo entre as fases do experimento, isto é, da exposição ao teste e o momento da administração da droga variam muito de acordo com os objetivos e, conseqüentemente, da metodologia dos estudos e essas variáveis interferem também nos resultados das pesquisas.

Os animais respondem aos estímulos de diferentes maneiras, quando a estratégia ativa de fuga não é viável, adotam-se formas de imobilidade passiva como comportamentos substitutos da fuga (CARLI; FARABOLLINI, 2022). Esses achados levantam tanto um problema metodológico crítico quanto uma importante questão. Se apenas o congelamento é medido, mas os roedores expressam seu aprendizado com uma resposta diferente, então comportamentos de aprendizado, memória ou medo podem ser perdidos. Além do congelamento ocorre a expressão de outros comportamentos que se

mostraram defensivos, característicos quando os animais são expostos a protocolos comportamentais (SOBOTA, 2013).

Modelos experimentais de animais não condicionados partem da premissa de que a exposição dos animais a outro ambiente cria um comportamento de conflito (CAMPOS et al., 2013). O estudo sobre as respostas espontâneas pode ser realizado através da análise dos comportamentos dos animais expostos ao novo ambiente ou em resposta aos estímulos aversivos prévios.

Conforme Justel et al. (2014), a dose 4,5 mg/kg de propranolol não induz ativação motora, depressão motora ou sedação. De acordo com Goode e colaboradores (2016), em um protocolo de condicionamento aversivo auditivo, a administração periférica de propranolol (3 mg/kg) após o condicionamento não alterou o comportamento de congelamento, e uma dose mais alta de propranolol pode ser necessária para impactar a expressão do comportamento defensivo. Nesta revisão sistemática pode-se observar que doses acima de 10 mg/kg costumam ser mais eficientes que doses mais baixas, mas a intensidade do estresse prévio interfere nas respostas defensivas dos animais. E provavelmente, quanto maior a ativação do sistema autônomo simpático do animal, maior a dose de antagonista será necessária para redução das respostas defensivas.

Após um estresse por privação alimentar, ratos que exploraram o TCA exibiram um comportamento maior de consumo da sacarose do que os animais que não exploraram o aparato, contudo o efeito ansiolítico do modelo está ausente em animais que receberam a privação alimentar seguida de propranolol. Ou seja, o propranolol (4,5 mg/kg) bloqueou o efeito facilitador da recuperação da frustração causado pelo teste (PSYRDELLIS et al., 2016). Estes estudos mostram que animais, pelo fato de terem sido expostos ao protocolo do TCA, podem se recuperar do estresse e demonstrar um comportamento não defensivo, ressaltando o envolvimento do sistema adrenérgico neste comportamento ligado à frustração.

Portanto o sistema adrenérgico não só pode aumentar as respostas defensivas, mas também é necessário para recuperação de um evento traumático. Em testes que avaliam o comportamento espontâneo dos animais como o LCE e TCA, a atividade dos animais é afetada por vários fatores, entre estes o estresse em que estes animais foram expostos previamente (CAMPOS et al., 2013).

Alguns, mas não todos os sistemas moleculares necessários para a extinção, também são ativados por recuperação da memória, endossando ainda mais a hipótese de

que, embora a recuperação seja comportamental e bioquimicamente necessária para a geração da extinção, este último processo constitui um novo aprendizado secundário, não reforçado pela expressão do traço original (CAMMAROTA et al., 2004). No entanto, a extinção normalmente não apaga o aprendizado original, e o comportamento extinto pode ser vulnerável à recaída. Informações sobre os mecanismos comportamentais e neurais de extinção em instrumentos de aprendizagem pavlovianos podem ajudar a facilitar o desenvolvimento de tratamentos (BOUTON et al., 2021).

Resultados no experimento de um modelo animal relacionado ao TEPT, em que houve a administração do fármaco após o estímulo com odor de gato e o teste de comportamento realizado 31 dias após o tratamento com a droga, indicam que o propranolol foi ineficaz na atenuação do comportamento defensivo (COHEN et al., 2011). De acordo com Cohen et al. (2011), ratos expostos ao odor do predador e tratados com propranolol em ambas as doses (15 e 10 mg/kg), ou veículo controle, exibiram mais imobilidade do que os animais não expostos ao estresse. E este resultado está relacionado com a não interferência do propranolol na memória aversiva após a consolidação. A extinção é possível ser observada quando a avaliação do comportamento animal é realizada após o condicionamento aversivo (FITZGERALD et al., 2015).

O condicionamento aversivo induz um aumento na liberação de norepinefrina (NE) e há fortes evidências que dão suporte à hipótese de que hormônios adrenérgicos liberados em situações de estresse, ativados durante experiências de aprendizado, aumentam a consolidação de memórias (DEBIEC; LEDOUX, 2006; DEBIEC et al., 2011; FITZGERALD et al., 2015; MCGAUGH, 2015). Alguns processos da memória podem ser modificados por diferentes meios, incluindo a administração de fármacos, e tem sido amplamente estudado em animais (BOLSONI; ZUARDI, 2019).

Estudos indicam que os hormônios secretados durante situações estressantes, como glicocorticoides, adrenalina e noradrenalina, regulam as funções da memória, modulando a consolidação e recuperação da memória aversiva no teste de condicionamento aversivo contextual (CAREAGA et al., 2015).

Percebe-se que a liberação de NE, induzida pelo choque elétrico nas patas durante o condicionamento, promove o aprimoramento subsequente do aprendizado. O efeito do choque não sinalizado nas patas fornece mais evidências para a hipótese de que o primeiro choque, durante o condicionamento, pode facilitar a aprendizagem induzida pela NE. Consequentemente, o bloqueio da transmissão NE interrompe o aprendizado do condicionamento (DÍAZ-MATAIX, 2017).

Embora a NE não atravesse a BH, pode afetar o encéfalo indiretamente, ligando-se a aferências viscerais, nervos que transmitem ao encéfalo a sinalização da NE presente na corrente sanguínea (MCGAUGH, 2003 apud RODRIGUES et al., 2009). Conexões da amígdala ao tronco cerebral levam à ativação do sistema nervoso simpático, envolvendo a liberação de epinefrina e NE da medula adrenal dos terminais dos nervos simpáticos ao longo o corpo. A liberação de glicocorticóides do córtex adrenal, catecolaminas da medula adrenal e nervos simpáticos transmitem ao encéfalo a resposta do corpo ao estresse (RODRIGUES et al., 2009). Pode-se sugerir, então, que o seu papel na formação do condicionamento aversivo provém de efeitos cardiovasculares periféricos e é capaz de gerar um estado emocional interno (GOMES, 2018).

Há uma série de receptores e moléculas de sinalização intracelular que são conhecidos por serem importantes na formação da memória. Além disso, dados sugerem que neuromoduladores como norepinefrina (NE), durante o aprendizado, fornecem um mecanismo pelo qual a aquisição de memórias pode ser regulada e controlada (JOHANSEN et al., 2011). Como representado na figura 1, receptores β -adrenérgicos (β -Ars), que são acoplados à proteína Gs, desencadeiam uma série de reações que culminam no aumento do AMPc intracelular. Esses segundos mensageiros ativam a proteína quinase A (PKA). Os processos de consolidação de memória aversivas induzidas por plasticidade através de AMPc dependem da fosforilação do elemento de resposta ao AMPc (CREB) pelo PKA (JOHANSEN et al., 2011).

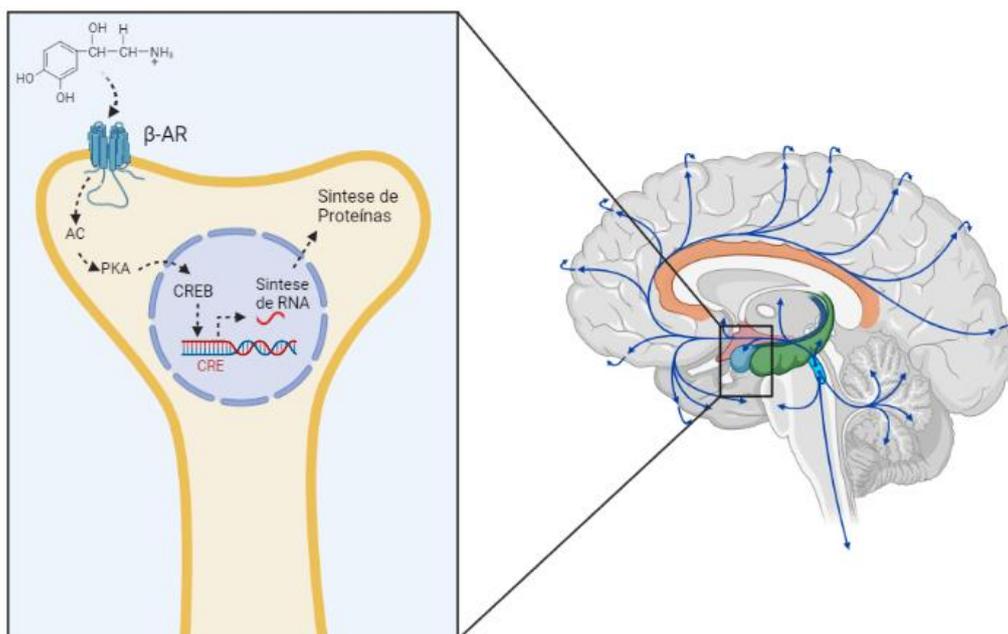


Figura 5 – Modelo do mecanismo molecular do processo de formação de memórias. Representação esquemática de moléculas e processos moleculares hipotéticos conhecidos por estarem envolvidos na

reconsolidação do condicionamento aversivo. AC, adenil ciclase; PKA, proteína quinase A; β -AR, Receptor Beta Adrenérgico; CREB, proteína de ligação responsiva ao AMPc; (CRE), proteína; RNA, ácido ribonucleico. Fonte: autoral, criada com Biorender (<http://biorender.com/>) e baseado em Johansen et al., (2011)

As infusões de isoproterenol, um agente agonista β -adrenérgico periférico de ação rápida semelhante à adrenalina que atua exclusivamente nos adrenoreceptores β , administradas sistemicamente provocam aumento na frequência cardíaca e respiratória causadas pela interocepção (HASSANPOUR et al., 2016). Ataques de pânico em pacientes podem ser induzidos com dosagens de agonistas dos receptores β -adrenérgicos e podem ser relacionados à frequência e à força da contração cardíaca (BRUNTON et al., 2012; POHL et al., 1988).

Com base na hipótese de que a memória está associada às experiências emocionais e envolvem a ativação do sistema β -adrenérgico (CAHILL et al, 1994), a adrenalina pode modular a consolidação da memória e seus efeitos na memória sugerem a ativação de receptores β -adrenérgicos. O bloqueio do adrenoreceptor β resulta em uma resposta atenuada da noradrenalina e o comportamento animal pode ser avaliado por experimentos que usam tarefas com caráter aversivo/emocional (DORNELLES, 2007; MARTINSSON et al., 1989). Portanto torna-se possível também avaliar o efeito do propranolol sobre a memória aversiva através da análise dos comportamentos dos animais em resposta ao estímulo prévio.

Em estudos que objetivaram entender um pouco mais sobre os mecanismos dependentes da adrenalina no aprendizado contextual em roedores, foram utilizados animais submetidos a testes de condicionamento na ausência ou na presença de agonistas dos receptores β -adrenérgicos (LEE et al., 2001).

A concentração do agonista na circulação sistêmica é importante para a aquisição da memória nos experimentos de comportamento defensivo. Essa hipótese sugere que a liberação basal de NE não tem influência no emparelhamento do aprendizado, mas deve afetar tentativas subsequentes, desde que a apresentação dos estímulos aversivos ocorra antes que os níveis de NE retornem à linha de base (DÍAZ-MATAIX, 2017). Em conjunto, esses resultados indicam que a estimulação dos receptores β -adrenérgicos exerce um papel facilitador na consolidação de traços de memória de uma experiência aversiva (GAZARINI et al., 2013). Tais estudos mostram que os bloqueadores dos receptores adrenérgicos podem ser uma excelente ferramenta para estudos de memória causadas pelo sistema adrenérgico. A NE pode facilitar na consolidação da memória e,

ao utilizar-se um bloqueador dos receptores adrenérgicos durante a fase de aquisição da memória, poderia interferir no aprendizado dos animais.

Pode-se cogitar que a adrenalina aumenta o aprendizado aversivo no contexto por ativar receptores adrenérgicos periféricos e um dos mecanismos propostos é que a estimulação destes receptores induz altos níveis de glicose no sangue. Como a glicose atravessa a barreira hematoencefálica, isto pode aumentar a ativação hipocampal dependente do aprendizado contextual (ALVES et al., 2018). É de conhecimento consensual que a recuperação da memória é influenciada pela emoção, o humor e o estresse. Sabe-se, também, que há regiões responsáveis por esse processo, inclusive o hipocampo é uma delas (CAMMAROTA et al., 2004).

Com relação aos processos da memória atualmente ainda não está claro quais condições determinam a amnésia pós-reativação, quando a memória já está consolidada, pela administração sistêmica de drogas (SCHROYENS et al., 2019). Durante o aprendizado, o momento das intervenções farmacológicas são questões controversas no que se refere ao efeito na memória. Os resultados de uma revisão sistemática da literatura clínica mostram que algumas intervenções farmacológicas podem afetar a reconsolidação da memória aversiva e indicam que a droga mais comumente usada é o propranolol (BOLSONI; ZUARDI, 2019).

Embora existam extensas evidências pré-clínicas e clínicas que sugerem que o propranolol causa interrupção da memória traumática em animais e voluntários humanos saudáveis, as evidências com relação ao propranolol para terapia de reconsolidação de memória em pacientes com TEPT não é suficiente para apoiar a sua aplicação clínica (RAUT et al., 2022). Apesar dos estudos mostrarem uma redução no comportamento defensivo em ratos, o que por si só já é um resultado interessante, são necessários mais estudos para chegar a uma conclusão sobre o efeito do propranolol administrado sistemicamente sobre a memória.

5 CONCLUSÃO

Nos artigos que utilizaram o protocolo de CA e no SPM, que envolvem treinamento prévio dos ratos estudados, o propranolol diminuiu o comportamento defensivo. Já nos artigos que utilizaram os protocolos LCE e no TCA, que envolvem um ambiente diferente do local do estímulo aversivo, não foram observados uma diminuição do comportamento defensivo causado pelo propranolol. Muitos estudos chegam à

conclusão que o propranolol pode interferir no aprendizado e na memória através da interferência direta ou indireta no SNC, devido à dependência do processo de aprendizado e memória aversiva estarem relacionados com receptores adrenérgicos.

Nesta revisão sistemática também pode-se observar que o tipo de estímulo aversivo e o tempo entre este estímulo e a aplicação do protocolo comportamental têm influência direta no comportamento dos animais devido aos processos da memória aversiva. Fatores como a intensidade do estímulo, o momento da administração do fármaco e a dose do propranolol também influenciaram nas respostas defensivas dos animais. É preciso registrar que esta revisão não inclui artigos de animais tratados previamente com outras drogas além do fármaco de interesse, mas os animais foram submetidos a algum protocolo de estresse na maioria dos estudos.

Esta revisão sistemática poderá fornecer subsídios para a escolha da metodologia, protocolo e dose na elaboração de estudos que abordam tanto a questão do comportamento defensivo nesses protocolos quanto o efeito do propranolol sobre a memória aversiva nos animais. Estes dois aspectos devem ser considerados para uma melhor análise, no caso da realização de estudos posteriores de avaliação estatística (meta-análise). Os dados gerados por meio desta revisão sistemática da literatura poderão propiciar aos pesquisadores, inclusive, uma maior confiança na tomada de decisões na pesquisa pré-clínica no que diz respeito ao efeito do propranolol nos protocolos e modelos de comportamentos defensivos relacionados ao estresse em ratos.

REFERÊNCIAS

ABRARI, K.; RASHIDY-POUR, A.; SEMNANIAN, S.; FATHOLLAHI, Y. Administration of corticosterone after memory reactivation disrupts subsequent retrieval of a contextual conditioned fear memory: Dependence upon training intensity. **Neurobiology of Learning and Memory**, vol. 89, n. 2, p. 178-184, 2008.

ACUÑA, Lucía Raily. **Papel do óxido nítrico na resposta defensiva imediata e na aquisição de um condicionamento aversivo olfatório induzido pela estimulação química da Matéria cinzenta periaquedutal**. Tese (doutorado) Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2019.

ADAMEC, R.; MUIR, C.; GRIMES, M.; PEARCEY, K. Involvement of noradrenergic and corticoid receptors in the consolidation of the lasting anxiogenic effects of predator stress. **Behavioural Brain Research**, vol. 179, n. 2, p. 192-207, 2007.

AHLQUIST R. P. A study of the adrenotropic receptors. **Am. J. Physiol.**, vol. 153, p. 588-600, 1948.

AKOBENG, A. K. Principles of evidence based medicine. **Archives of Disease in Childhood**, vol. 90, n. 8, p. 837-840, 2005.

ALVES, Ester et al. Epinephrine increases contextual learning through activation of peripheral β 2-adrenoceptors. **Psychopharmacology**, vol. 233, p. 2099-2108, 2016.

ANDREATINI, R. et al. The brain decade in debate: II. Panic or anxiety? From animal models to a neurobiological basis. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, vol.34, n.2, p. 145-154, 2001.

ARCHBOLD, G. E.; DOBBEK, N.; NADER, K. Temporal dynamics of recovery from extinction shortly after extinction acquisition. **Learning and Memory**, vol. 20, n. 8, p. 395-398, 2013.

AYKAÇ, A.; AYDIN, B.; CABADAK, H.; GÖREN, M. Z. The change in muscarinic receptor subtypes in different brain regions of rats treated with fluoxetine or propranolol in a model of post-traumatic stress disorder. **Behavioural Brain Research**, vol. 232, n. 1, p. 124-129, 2012.

BACK, Franklin Panato. **O condicionamento olfatório aversivo em camundongos**. Dissertação (mestrado) Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2012.

BACK, Franklin Panato. **Interferência da sinalização endocanabinoide cb1 e vaniloide trpv1 na reação de defesa incondicionada produzida pelo n-metil-d-aspartato aplicado na matéria cinzenta periaquedutal dorsolateral e na consequente aquisição de um condicionamento aversivo olfatório**. Tese (doutorado) Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2016.

BACK, Franklin Panato; CAROBREZ, Antonio Pádua. Periaqueductal gray glutamatergic, cannabinoid and vanilloid receptor interplay in defensive behavior and aversive memory formation. **Neuropharmacology**, vol. 135, p. 399-411, 2018.

BAINBRIDGE, J. G.; GREENWOOD, D. T. Tranquillizing effects of propranolol demonstrated in rats. **Neuropharmacology**, vol. 10, n. 4, p. 453-458, 1971.

BARBOSA, F. T.; LIRA, A. B.; DE OLIVEIRA NETO, O. B.; SANTOS, L. L.; SANTOS, I. O., BARBOSA, L. T.; RIBEIRO, M. V. M. R.; DE SOUSA-RODRIGUES, C. F. Tutorial for performing systematic review and meta-analysis with interventional anesthesia studies. **Brazilian Journal of Anesthesiology**, vol. 69 n. 3, p. 299-306, 2019.

BLACK, J. W.; CROWTHER, A. F.; SHANKS, R. G. et al. A new adrenergic betareceptor antagonist. **Lancet**, vol. 283, n. 7342, p. 1080 – 1081, 1964.

BLANCHARD, Robert J.; BLANCHARD, D. Caroline. Crouching as an index of fear. **Journal of Comparative and Physiological Psychology**, vol. 67, n. 3, p. 370 - 375, 1969a.

BLANCHARD, Robert J.; BLANCHARD, Caroline D. Passive and active reactions to Fear-eliciting stimuli. **Journal of Comparative and Physiological Psychology**, vol. 68, n. 1, 129-135, 1969b.

BLANCHARD, Caroline D.; BLANCHARD, Robert J. Innate and conditioned reactions to threat in rats with amygdaloid lesions **J. Comp. Physiol. Psychol.**, vol. 81, p. 281-290, 1972.

BLANCHARD, Caroline D. Translating dynamic defense patterns from rodents to people. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, vol. 76, p. 22-28, 2017.

BOLSONI, L. M.; ZUARDI, A. W. Pharmacological interventions during the process of reconsolidation of aversive memories: A systematic review. **Neurobiology of Stress**, vol. 11, 2019.

BORTOLOCI, João Guilherme Tassoni. **Caracterização da reação de defesa produzida pela ativação do receptor ácido α -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazolepropiônico (AMPA) na região dorsolateral da matéria cinzenta periaquedutal de ratos.** Dissertação (mestrado) Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2019.

BUSH, D. E. A.; CAPAROSA, E. M.; GEKKER, A.; LEDOUX, J. Beta-adrenergic receptors in the lateral nucleus of the amygdala contribute to the acquisition but not the consolidation of auditory fear conditioning. **Frontiers in Behavioral Neuroscience**, vol. 4, 2010.

CAHILL, L.; PRINS, B.; WEBER, M. et al. β -Adrenergic activation and memory for emotional events. **Nature**, vol. 371, p. 702–704, 1994.

CAMERON, Oliver G.; MINOSHIMA, Satoshi. Regional Brain Activation Due to Pharmacologically Induced Adrenergic Interoceptive Stimulation in Humans. **Psychosomatic Medicine**, vol. 64, p. 851-861, 2002.

CAMMAROTA, Martín; BARROS, Daniela M.; VIANNA, Mónica R. M.; BEVILAQUA, Lia R.M.; COITINHO, Adriana, SZAPIRO, Germán; IZQUIERDO, Luciana A.; MEDINA, Jorge H.; IZQUIERDO Iván. The transition from memory retrieval to extinction. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, vol. 76, n. 3, p. 573-582, 2004.

CAMPOS, A. C.; FOGAÇA, M. V.; AGUIAR, D. C.; GUIMARÃES, F. S. Animal models of anxiety disorders and stress. **Revista Brasileira de Psiquiatria**, vol. 35, p. 101-111, 2013.

CAMP, R. M.; JOHNSON, J. D. Repeated stressor exposure enhances contextual fear memory in a beta-adrenergic receptor-dependent process and increases impulsivity in a non-beta receptor-dependent fashion. **Physiology and Behavior**, vol. 150, p. 64–68, 2015.

CANTERAS, Newton Sabino et al. Neuroanatomy of Anxiety. Behavioral Neurobiology of Anxiety and Its Treatment, **Verlag Berlin Heidelberg**, p. 77-96, 2009.

CAREAGA, M. B. L.; TIBA, P. A.; OTA, S. M.; DEBORAH, S. Pre-test metyrapone impairs memory recall in fear conditioning tasks: lack of interaction with β -adrenergic activity. **Frontiers in Behavioral Neuroscience**, vol. 9, 2015.

CAREAGA, Mariella Bodemeier Loayza, GIRARDI, C. E. N.; SUCHECKI, D. Propranolol failed to prevent severe stress-induced long-term behavioral changes in male rats. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, vol. 108, 2021.

CARLI, Giancarlo; FARABOLLINI, Francesca. Introduction to defensive behavior in vertebrates. **Progress in Brain Research**, p. 37-49, 2022.

CAROBREZ, Antonio P.; SCHENBERG, Luiz C.; GRAEFF Frederico G. Neuroeffector Mechanisms of the Defense Reaction in the Rat. **Physiology & Behavior**, vol. 31, p. 439-444, 1983.

CAROBREZ, Antonio de Pádua. Transmissão pelo glutamato como alvo molecular na ansiedade. **Rev Bras Psiquiatr.**, vol. 25, n. 2, p. 52-8, 2003.

CAROBREZ, A. P.; BERTOGLIO, L. J. Ethological and temporal analyses of anxiety-like behavior: The elevated plus-maze model 20 years on. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, vol. 29, n. 8, p. 1193-1205, 2005.

CARRIVE, P. Dual activation of cardiac sympathetic and parasympathetic components during conditioned fear to context in the rat. **Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology**, vol. 33, n. 12, p. 1251–1254, 2006.

CARVALHO, L. de F.; PIANOWSKI, G.; DOS SANTOS, M. A. Guidelines for conducting and publishing systematic reviews in psychology. **Estudos de Psicologia**, vol. 36, p. 1–14, 2019.

CAVALLI, Juliana. **Efeito do pentilenotetrazol e do midazolam na aquisição e na expressão da resposta defensiva de ratos submetidos ao condicionamento olfatório de medo**. Dissertação (mestrado) Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2009.

CAVALLI, Juliana. **Papel dos glicocorticoides no condicionamento olfatório aversivo promovido pelo pentilenotetrazol**. Tese (doutorado) Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2013.

CELANO, Christopher M. et al. Anxiety disorders and cardiovascular disease. **Current Psychiatry Reports**. vol. 18, n.11, p. 101, 2016.

COGAN, E. S.; SHAPSES, M. A.; ROBINSON, T. E.; TRONSON, N. C. Disrupting reconsolidation: memory erasure or blunting of emotional/motivational value? **Neuropsychopharmacology**, vol. 44, n. 2, p. 399–407, 2019.

COHEN, J. A coefficient of agreement for nominal scales. **Educational and psychological measurement**, vol. 20, n. 1, p. 37-46, 1960.

COHEN, H.; KAPLAN, Z.; KORESH, O.; MATAR, M. A.; GEVA, A. B.; ZOHAR, J. Early post-stressor intervention with propranolol is ineffective in preventing posttraumatic stress responses in an animal model for PTSD. **European Neuropsychopharmacology**, vol. 21, n. 3, p. 230–240, 2011.

DAMÁSIO, António R. **E o cérebro criou o Homem**. Tradução Laura Teixeira Motta, São Paulo, Companhia das Letras, 2011.

DAVIS, M.; REDMOND Jr, D. E.; BARABAN, J. M. Noradrenergic agonists and antagonists: Effects on conditioned fear as measured by the potentiated startle paradigm. **Psychopharmacology**, vol. 65, n. 2, p. 111–118, 1979.

DĘBIEC, J.; LEDOUX, J. E. Disruption of reconsolidation but not consolidation of auditory fear conditioning by noradrenergic blockade in the amygdala. **Neuroscience**, vol. 129, n. 2, p. 267–272, 2004.

DEBIEC, J.; LEDOUX, J. E. Noradrenergic signaling in the amygdala contributes to the reconsolidation of fear memory: Treatment implications for PTSD. **Annals of the New York Academy of Sciences**, vol. 1071, p. 521–524, 2006.

DĘBIEC, Jacek; BUSH, David E. A.; LEDOUX, Joseph E. Noradrenergic Enhancement of Reconsolidation in the Amygdala Impairs Extinction of Conditioned Fear in Rats – a Possible Mechanism for the Persistence of Traumatic Memories in PTSD. **Depress Anxiety**. vol. 28 n. 3, p. 186-193, 2011.

DELINI-STULA, A., HUNN, C. Differential effects of anxiolytics and β -receptor blocking drugs on novelty-oriented ('neophobic') behavior in the rat. **Pharmacopsychiatry**, vol. 21, n. 4, p. 186–191, 1988.

DE OLIVEIRA, C. L.; DEL BEL, E. A.; GUIMARÃES, F. S. Effects of L-NOARG on plus-maze performance in rats. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, vol. 56, n. 1, p. 55-59, 1996.

DE SOUZA, Rimenez Rodrigues. **Dupla dissociação da função dos receptores nmda da Substância cinzenta periaquedutal dorsolateral rostral e caudal no medo inato e condicionado ao odor de gato**. Dissertação (mestrado) Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2007.

DE SOUZA, Rimenez Rodrigues. **Papel dos corticosteroides no processamento de memórias aversivas: consequências bidirecionais no condicionamento olfatório de medo**. Tese (doutorado) Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2011.

DÍAZ-MATAIX, L.; PIPER, W. T.; SCHIFF, H. C.; ROBERTS, C. H.; CAMPESE, V. D.; SEARS, R. M., LEDOUX, J. E. Characterization of the amplificatory effect of

norepinephrine in the acquisition of Pavlovian threat associations. **Learning and Memory**, vol. 24, n. 9, p. 432–439, 2017.

DO MONTE, Fabrício Hoffmann Martins. **Participação do receptor beta-adrenérgico na modulação do comportamento defensivo de ratos expostos ao odor de gato**. Dissertação (mestrado) Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2006.

DO MONTE, F. H. M.; CANTERAS, N. S.; FERNANDES, D.; ASSREUY, J.; CAROBREZ, A. P. New perspectives on β -adrenergic mediation of innate and learned fear responses to predator odor. **Journal of Neuroscience**, vol. 28, n. 49, p. 13296–13302, 2008.

DO MONTE, F. H. M.; KINCHESKI, G. C.; PAVESI, E.; SORDI, R.; ASSREUY, J.; CAROBREZ, A. P. Role of beta-adrenergic receptors in the ventromedial prefrontal cortex during contextual fear extinction in rats. **Neurobiology of Learning and Memory** vol. 94, n.3, p. 318–328, 2010.

DORNELLES, Arethuza. **Papel do Sistema Adrenérgico na Formação da Memória de Reconhecimento em Ratos**. Dissertação (Mestrado) Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular, Faculdade de Biociências, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2007.

FAN, S. J.; JIANG, H.; YANG, L. J.; LIU, X.; SONG, J.; PAN, F. Effects of adrenergic agents on stress-induced brain microstructural and immunochemical changes in adult male Wistar rats. **Annals of Anatomy**, vol. 193, n. 5, p. 418-424, 2011.

FERLAND-BECKHAM, C. et al. Systematic Review and Methodological Considerations for the Use of Single Prolonged Stress and Fear Extinction Retention in Rodents. **Frontiers in Behavioral Neuroscience**. vol. 15, p. 1-28, 2021.

FERREIRA, Nathalia Zerbinatti. **Investigação de possíveis fontes de variabilidade do teste do nado forçado em camundongos Suíços**. Dissertação (mestrado) Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2019.

FITZGERALD, P. J.; GIUSTINO, T. F.; SEEMANN, J. R.; MAREN, S. Noradrenergic blockade stabilizes prefrontal activity and enables fear extinction under stress. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, vol. 112, n. 28, p. 3729 – 3737, 2015.

GAZARINI, L.; JARK STERN, C. A.; CAROBREZ, A. P.; BERTOGLIO, L. J. Enhanced noradrenergic activity potentiates fear memory consolidation and reconsolidation by differentially recruiting α 1- and β -adrenergic receptors. **Learning and Memory**, vol. 20, n. 4, p. 210-219, 2013.

GIACHERO, Marcelo; PAVESI, Eloisa; CALFA, Gastón et al. Inactivation of the dorsolateral periaqueductal gray matter impairs the promoting influence of stress on fear memory during retrieval. *Brain Struct Funct*, **Springer**, p. 3117-3132, 2019.

GIUSTINO, Thomas F.; FITZGERALD, Paul J.; MAREN, Stephen. Revisiting propranolol and PTSD: Memory erasure or extinction enhancement? **Neurobiol Learn Mem.**, vol. 130, p. 26-33, 2016.

GIUSTINO, T. F.; RAMANATHAN, K. R.; TOTTY, M. S.; MILES, O. W.; MAREN S. Locus coeruleus norepinephrine drives stress-induced increases in basolateral amygdala firing and impairs extinction learning. **Journal of Neuroscience**, vol. 40, n. 4, p. 907–916, 2020.

GOMES, Ana Idalina Signori. **Ativação dos adrenoceptores beta periféricos como estímulo incondicionado aversivo e a sua mediação pela região dorsolateral da matéria cinzenta periaquedutal**. Dissertação (mestrado) Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2018.

GOODE, T. D.; LEONG, K. C.; GOODMAN, J.; MAREN, S.; PACKARD, M. G. Enhancement of striatum-dependent memory by conditioned fear is mediated by beta-adrenergic receptors in the basolateral amygdala. **Neurobiology of Stress**, vol. 3, p. 74–82, 2016.

GORENSTEIN, Clarice; SCAVONE, Cristóforo. Avanços em psicofarmacologia - mecanismos de ação de psicofármacos hoje. **Rev. Bras. Psiquiatr.**, vol. 21, n.1, p. 64-73, 1999.

GRAEFF, Frederico G. Bases biológicas do transtorno de estresse pós-traumático. **Rev. Bras. Psiquiatr.**, vol. 25, p. 21-4, 2003.

HASSANPOUR, Mahlega S. et al. How the heart speaks to the brain: neural activity during cardiorespiratory interoceptive stimulation. **The Royal Society**, 2016.

HOOIJMANS, C. R.; ROVERS, M. M.; DE VRIES, R. B. M.; LEENAARS, M.; RITSKES-HOITINGA, M.; LANGENDAM, M. W. SYRCLE's risk of bias tool for animal studies. **BMC Medical Research Methodology**, vol. 14, n. 1, p. 1–9, 2014.

HULLEY, Stephen B.; CUMMINGS, Steven R.; BROWNER, Warren S.; GRADY, Deborah G.; NEWMAN, Thomas B. **Designing Clinical Research**, 3rd Edition. Lippincott Williams & Wilkins. Philadelphia, PA, USA, 2007.

INAGAKI, H.; KIYOKAWA, Y.; TAKEUCHI, Y.; MORI, Y. The alarm pheromone in male rats as a unique anxiety model: Psychopharmacological evidence using anxiolytics. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, vol. 94, n. 4, p. 575–579, 2010.

JOHANSEN, Joshua P.; CAIN, Christopher K.; OSTROFF, Linnaea E.; LEDOUX, Joseph E. Molecular mechanisms of fear learning and memory. **Cell**, vol. 147, n. 3, p. 509-524, 2011.

JUSTEL, N.; PSYRDELLIS, M.; PAUTASSI, R. M.; MUSTACA, A. Propranolol reverses open field effects on frustration. **Neurobiology of Learning and Memory**, vol. 116, p. 105–111, 2014.

KABITZKE, P. A.; SILVA, L.; WIEDENMAYER, C. Norepinephrine mediates contextual fear learning and hippocampal pCREB in juvenile rats exposed to predator odor. **Neurobiology of Learning and Memory**, vol. 96, n. 2, p. 166–172, 2011.

KINCHESKI, Grasielle Clotildes. **Condicionamento olfatório aversivo induzido pela estimulação química da matéria cinzenta periaquedutal dorsolateral de ratos**. Tese (doutorado) Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2011.

KOBA, Satoshi; INOUE, Ryo; WATANABE, Tatsuo. Role played by periaqueductal gray neurons in parasympathetically mediated fear bradycardia in conscious rats. **Physiological Reports**, vol. 4, n. 12, 2016.

KROON, Juliana Amorim Vieira. **Efeitos do midazolam, propranolol e escopolamina em ratos submetidos ao modelo de condicionamento olfatório do medo**. Dissertação (mestrado) Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2007.

KROON, J. A. V.; CAROBREZ, A. P. Olfactory fear conditioning paradigm in rats: Effects of midazolam, propranolol or scopolamine. **Neurobiology of Learning and Memory**, vol. 91, n. 1, p. 32–40, 2009.

KROON, Juliana Amorim Vieira. **O Hipocampo e o Condicionamento Olfatório Aversivo: Mediação por receptores glutamatérgicos subtipo NMDA**. Tese (doutorado) Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2012.

KUHAR, M. J; COUCEYRO, P. R.; LAMBERT, P. D. **α - and β -Adrenergic Receptors. Basic Neurochemistry: Molecular, Cellular and Medical Aspects**. 6. ed. Philadelphia, Lippincott-Raven, 1999.

LANDIS, J. R.; KOCH, G. G. The measurement of observer agreement for categorical data. **Biometrics**, p. 159-174, 1977.

LEDOUX, Joseph. The Emotional Brain, Fear, and the Amygdala. **Cellular and Molecular Neurobiology**, vol. 23, n. 4/5, 2003.

LEE, H. J.; BERGER, S. Y.; STIEDL, O.; SPIESS, J.; KIM, J. J. Post-training injections of catecholaminergic drugs do not modulate fear conditioning in rats and mice. **Neuroscience Letters**, vol. 303, n. 2, p. 123–126, 2001.

LENT, Roberto. **Cem Bilhões de Neurônios? Conceitos Fundamentais de Neurociência**. 2. ed. Atheneu, FAPERJ, 2010.

LEO, Giuseppina et al. Acute isoproterenol induces anxiety-like behavior in rats and increases plasma content of extracellular vesicles. **Physiology & Behavior**, vol. 142, p. 79-84, 2015.

LUYTEN, L.; SCHNELL, A. E.; SCHROYENS, N.; BECKERS, T. Lack of drug-induced post-retrieval amnesia for auditory fear memories in rats. **BMC Biology**, vol. 19, n. 1, 2021.

MAREN, S. What the amygdala does and doesn't do in aversive learning. **Learning and Memory**, vol. 10, n. 5, p. 306–308, 2003.

MARGIS, Regina; PICON, Patrícia; COSNER, Annelise Formel; SILVEIRA, Ricardo de Oliveira. Relação entre estressores, estresse e ansiedade. **R. Psiquiatr.**, vol. 25, n. 1, p. 65-74, 2003.

MARTINSSON, A.; LINDVALL K.; MELCHER A.; HJEMDAHL P. β -adrenergic receptor responsiveness to isoprenaline in humans: concentration-effect, as compared with dose-effect evaluation and influence of autonomic reflexes. **Br. J. clin. Pharmac.**, v. 28, p. 83-94, 1989.

MCCLELLAND, William J.; COLMAN, Frank D. Activity and different types of electric shock stimuli. **Psychon. Sci.**, vol. 7, n.11, 1967.

MCGAUGH, James L. Memory: a century of consolidation. **Science**, vol. 287, p. 248–251, 2000.

MCGAUGH, James L. Consolidating Memories. **Annual Review of Psychology**. vol. 66, p. 1–24, 2015.

MCHUGH, M. L. Interrater Reliability: The Kappa Statistic. **Biochem Med**, v.22, n.3, p-276-82, 2012.

MOHER, D.; LIBERATI, A.; TETZLAFF, J.; ALTMAN D. G. Preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses: the PRISMA statement. **PLoS Med**, vol. 6, n. 7, 2009.

MOHER, David et al. Preferred reporting items for systematic review and meta-analysis protocols (PRISMA-P) 2015 statement. **Systematic Reviews**, vol. 4, n. 1, 2015.

MORRIS, R. W.; WESTBROOK, R. F.; KILLCROSS, A. S. Reinstatement of extinguished fear by β -adrenergic arousal elicited by a conditioned context. **Behavioral Neuroscience**, vol. 119, n. 6, p. 1662–1671, 2005.

MURAVIEVA, E. V; ALBERINI, C. M. Limited efficacy of propranolol on the reconsolidation of fear memories. **Learning and Memory**, vol. 17, n. 6, p. 306–313, 2010.

NACHTIGALL, E. G.; FURINI, C. R. G.; BEHLING, J. A. K.; FARIAS, C. P.; IZQUIERDO, I. Facilitation of fear extinction by novelty is modulated by β -adrenergic and 5-HT_{1A} serotonergic receptors in hippocampus. **Neurobiology of Learning and Memory**, vol. 166, 2019.

NINOMIYA, E. M.; MARTYNHAK, B. J.; ZANOVELI, J. M.; CORREIA, D.; DA CUNHA, C.; ANDREATINI, R. Spironolactone and low-dose dexamethasone enhance

extinction of contextual fear conditioning. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, vol. 34, n. 7, p. 1229–1235, 2010.

PARFITT, G. M.; BARBOSA, A. K.; CAMPOS, R. C.; KOTH, A. P.; BARROS, D. M. Moderate stress enhances memory persistence: Are adrenergic mechanisms involved? **Behavioral Neuroscience**, vol. 126, n. 5, p. 729–734, 2012.

PAVESI, Eloisa. **Participação de adrenoreceptores beta no núcleo pré-mamilar dorsal do hipotálamo avaliada no condicionamento olfatório de medo**. Tese (doutorado) Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2010.

PAVLOV, Ivan P. Conditioned reflexes: Na investigation of the physiological activity of the cerebral cortex. **Annals of neurosciences**. vol.17, n.3, 2010.

PITMAN, R. K.; MILAD, M. R.; IGOE, S. A.; VANGEL, M. G.; ORR, S. P.; TSAREVA, A., GAMACHE, K.; NADER, K. Systemic mifepristone blocks reconsolidation of cue-conditioned fear; Propranolol prevents this effect. **Behavioral Neuroscience**, vol. 125, n. 4, p. 632–638, 2011.

POHL, Robert et al. Isoproterenol-Induced Panic Attacks. **Biol psychiatry**, vol. 24, p. 891-902, 1988.

PSYRDELLIS, M.; PAUTASSI, R. M.; JUSTEL, N. Open field exposure facilitates recovery from an aversive emotional event: Involvement of adrenergic and cholinergic transmitter systems. **Neuroscience Letters**, vol. 633, p. 202–209, 2016.

RAFIQ, S.; BATOOL, Z.; LIAQUAT, L.; HAIDER, S. Blockade of muscarinic receptors impairs reconsolidation of older fear memory by decreasing cholinergic neurotransmission: A study in rat model of PTSD. **Life Sciences**, vol. 256, 2020.

RAUT, S. B.; CANALES, J. J.; RAVINDRAN, M.; ERI, R.; BENEDEK, D. M.; URSANO, R. J.; JOHNSON, L. R. Effects of propranolol on the modification of trauma memory reconsolidation in PTSD patients: A systematic review and meta-analysis. **Journal of Psychiatric Research**, vol. 150, p. 246–256, 2022.

ROBINSON, S.; CHRIST, C. C.; CAHILL, M. M.; ALDRICH, S. J.; TAYLOR-YEREMEEVA, E. Voluntary exercise or systemic propranolol ameliorates stress-related maladaptive behaviors in female rats. **Physiology and Behavior**, vol. 198, p. 120–133, 2019.

RODRIGUES, Sarina. M.; LEDOUX, Joseph. E.; SAPOLSKY, Robert. M. The Influence of Stress Hormones on Fear Circuitry. **Annual Review of Neuroscience**, vol. 32, p. 289-313, 2009.

RUSSELL NOYES. Beta-adrenergic blocking drugs in anxiety and stress. **Psychiatric Clinics of North America**, p. 119-132, 1985.

SCHNEIDER, A. M.; SIMSON, P. E.; DAIMON, C. M.; MROZEWSKI, J.; VOGT, N. M.; KEEFE, J.; KIRBY, L. G. Stress-dependent opioid and adrenergic modulation of

newly retrieved fear memory. **Neurobiology of Learning and Memory**, vol. 109, p. 1-6, 2014.

SCHROYENS, N.; ALFEI, J. M.; SCHNELL, A. E.; LUYTEN, L.; BECKERS, T. Limited replicability of drug-induced amnesia after contextual fear memory retrieval in rats. **Neurobiology of Learning and Memory**, vol. 166, 2019.

SOBOTA, Karina Nicole. **Análise da estratégia de enfrentamento comportamental (coping style) durante o condicionamento olfatório aversivo**. Dissertação (mestrado) Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2013.

SPERANDIO, Marina Ângela. **Efeitos da administração sistêmica de agonista ou antagonista mineralocorticóide sobre o condicionamento aversivo olfatório induzido pela estimulação química da matéria cinzenta periaquedutal dorsolateral**. Dissertação (mestrado) Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2016.

STEENEN, Serge A. et al. Propranolol for the treatment of anxiety disorders: Systematic review and meta-analysis. **Journal of Psychopharmacology**, vol. 30, n.2, p. 128-139, 2016.

STERN, C. A. J.; CAROBREZ, A. P.; BERTOGLIO, L. J. Aversive learning as a mechanism for lack of repeated anxiolytic-like effect in the elevated plus-maze. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, vol. 90, n. 4, p. 545–550, 2008.

TROTT, J. M.; HOFFMAN, A. N.; ZHURAVKA, I.; FANSELOW, M. S. Conditional and unconditional components of aversively motivated freezing, flight and darting in mice. **eLife**, p. 1-25, 2022.

TURNER, P.; GRANVILLE-GROSSMAN, K. L. Effect of adrenergic receptor blockade on the tachycardia of thyrotoxicosis and anxiety state. **Lancet**, vol. 286, n. 7426, p. 1316–1318, 1965.

VILLAIN, Hélène et al. Effects of Propranolol, a β -noradrenergic Antagonist, on Memory Consolidation and Reconsolidation in Mice. **Frontiers in Behavioral Neuroscience**. vol. 10, 2016.

VALLE, Rebecca Della; MOHAMMADMIRZAEI Negin; KNOX Dayan. Single prolonged stress alters neural activation in the periaqueductal gray and midline thalamic nuclei during emotional learning and memory. **Cold Spring Harbor Laboratory Press**, vol. 26, p. 403-411, 2020.

WALKER, D. L.; DAVIS, M. Light-enhanced startle: Further pharmacological and behavioral characterization. **Psychopharmacology**, vol. 159, n. 3, p. 304–310, 2002.

WANG, H. B.; XING, X. L.; WANG, H. Y. - Propranolol rescued secondary trauma induced by immediate extinction. **Acta Psychologica Sinica**, vol. 53, n. 6, p. 603-612, 2021.

WEBER, M.; WATTS, N.; RICHARDSON, R. High Illumination Levels Potentiate the Acoustic Startle Response in Prewaning Rats. **Behavioral Neuroscience**, vol. 117, n. 6, p. 1458–1462, 2003.

ZAICHENKO, M. I.; MARKEVICH, V. A.; GRIGOR'YAN, G. A. Propranolol degrades memory reconsolidation in conditions of single and multiple combinations of tones with pain. **Neuroscience and Behavioral Physiology**, vol. 47, n. 6, p. 722–727, 2017.

ZAIDI, Safiyya; ATROOZ, F.; VALDEZ, D.; LIU, H., KOCHI, C.; BOND, R. A.; SALIM, S. Protective effect of propranolol and nadolol on social defeat-induced behavioral impairments in rats. **Neuroscience Letters**, vol. 725, 2020.

ZANELLA, Camila Ângela. **Efeito da microinjeção de bicuculina na matéria cinzenta periaquedutal dorsal em ratos submetidos a um condicionamento olfatório aversivo**. Dissertação (mestrado) Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2015.

ZHOU, J.; LUO, Y.; ZHANG, J. T.; LI, M. X.; WANG, C. M.; GUAN, X. L.; WU, P. F.; HU, Z. L.; JIN, Y.; NI, L.; WANG, F.; CHEN, J. G. Propranolol decreases retention of fear memory by modulating the stability of surface glutamate receptor GluA1 subunits in the lateral amygdala. **British Journal of Pharmacology**, vol. 172, n. 21, p. 5068–5082, 2015.

ZHU, R. T.; LIU, X. H.; SHI, Y. W.; WANG, X. G.; XUE, L.; ZHAO, H. Propranolol can induce PTSD-like memory impairments in rats. **Brain and Behavior**, vol. 8, n. 2, 2018.

APÊNDICE A – Publicações incluídas na revisão sistemática separadas por protocolos experimentais

REFERÊNCIAS CONDICIONAMENTO AVERSIVO	
1	ABRARI, K.; RASHIDY-POUR, A.; SEMNANIAN, S.; FATHOLLAHI, Y. Administration of corticosterone after memory reactivation disrupts subsequent retrieval of a contextual conditioned fear memory: Dependence upon training intensity. Neurobiology of Learning and Memory , vol. 89, n. 2, p. 178-184, 2008.
2	ARCHBOLD, G. E.; DOBBEK, N.; NADER, K. Temporal dynamics of recovery from extinction shortly after extinction acquisition. Learning and Memory , vol. 20, n. 8, p. 395-398, 2013.
3	BAINBRIDGE, J. G.; GREENWOOD, D. T. Tranquillizing effects of propranolol demonstrated in rats. Neuropharmacology , vol. 10, n. 4, p. 453–458, 1971.
4	CAMP, R. M.; JOHNSON, J. D. Repeated stressor exposure enhances contextual fear memory in a beta-adrenergic receptor-dependent process and increases impulsivity in a non-beta receptor-dependent fashion. Physiology and Behavior , vol. 150, p. 64–68, 2015.
5	CAREAGA, M. B. L.; TIBA, P. A.; OTA, S. M.; DEBORAH, S. Pre-test metyrapone impairs memory recall in fear conditioning tasks: lack of interaction with β -adrenergic activity. Frontiers in Behavioral Neuroscience , vol. 9, 2015.
6	CAREAGA, Mariella Bodemeier Loayza, GIRARDI, C. E. N.; SUCHECKI, D. Propranolol failed to prevent severe stress-induced long-term behavioral changes in male rats. Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry , vol. 108, 2020.
7	CARRIVE, P. Dual activation of cardiac sympathetic and parasympathetic components during conditioned fear to context in the rat. Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology , vol. 33, n. 12, p. 1251–1254, 2006.
8	DĘBIEC, J.; LEDOUX, J. E. Disruption of reconsolidation but not consolidation of auditory fear conditioning by noradrenergic blockade in the amygdala. Neuroscience , vol. 129, n. 2, p. 267–272, 2004.
9	DÍAZ-MATAIX, L.; PIPER, W. T.; SCHIFF, H. C.; ROBERTS, C. H.; CAMPESE, V. D.; SEARS, R. M., LEDOUX, J. E. Characterization of the amplificatory effect of norepinephrine in the acquisition of Pavlovian threat associations. Learning and Memory , vol. 24, n. 9, p. 432–439, 2017.
10	DO MONTE, F. H. M.; CANTERAS, N. S.; FERNANDES, D.; ASSREUY, J.; CAROBREZ, A. P. New perspectives on β -adrenergic mediation of innate and learned fear responses to predator odor. Journal of Neuroscience , vol. 28, n. 49, p. 13296–13302, 2008.
11	DO MONTE, F. H. M.; KINCHESKI, G. C.; PAVESI, E.; SORDI, R.; ASSREUY, J.; CAROBREZ, A. P. Role of beta-adrenergic receptors in the ventromedial prefrontal cortex during contextual fear extinction in rats. Neurobiology of Learning and Memory vol. 94, n.3, p. 318–328, 2010.
12	FITZGERALD, P. J.; GIUSTINO, T. F.; SEEMANN, J. R.; MAREN, S. Noradrenergic blockade stabilizes prefrontal activity and enables fear extinction under stress. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America , vol. 112, n. 28, p. 3729 – 3737, 2015.

13	GAZARINI, L.; JARK STERN, C. A.; CAROBREZ, A. P.; BERTOGLIO, L. J. Enhanced noradrenergic activity potentiates fear memory consolidation and reconsolidation by differentially recruiting α 1- and β -adrenergic receptors. Learning and Memory , vol. 20, n. 4, p. 210-219, 2013.
14	GIUSTINO, T. F.; RAMANATHAN, K. R.; TOTTY, M. S.; MILES, O. W.; MAREN S. Locus coeruleus norepinephrine drives stress-induced increases in basolateral amygdala firing and impairs extinction learning. Journal of Neuroscience , vol. 40, n. 4, p. 907–916, 2020.
15	KABITZKE, P. A.; SILVA, L.; WIEDENMAYER, C. Norepinephrine mediates contextual fear learning and hippocampal pCREB in juvenile rats exposed to predator odor. Neurobiology of Learning and Memory , vol. 96, n. 2, p. 166–172, 2011.
16	KROON, J. A. V.; CAROBREZ, A. P. Olfactory fear conditioning paradigm in rats: Effects of midazolam, propranolol or scopolamine. Neurobiology of Learning and Memory , vol. 91, n. 1, p. 32–40, 2009.
17	LUYTEN, L.; SCHNELL, A. E.; SCHROYENS, N.; BECKERS, T. Lack of drug-induced post-retrieval amnesia for auditory fear memories in rats. BMC Biology , vol. 19, n. 1, 2021.
18	MORRIS, R. W.; WESTBROOK, R. F.; KILLCROSS, A. S. Reinstatement of extinguished fear by β -adrenergic arousal elicited by a conditioned context. Behavioral Neuroscience , vol. 119, n. 6, p. 1662–1671, 2005.
19	MURAVIEVA, E. V.; ALBERINI, C. M. Limited efficacy of propranolol on the reconsolidation of fear memories. Learning and Memory , vol. 17, n. 6, p. 306–313, 2010.
20	NINOMIYA, E. M.; MARTYNHAK, B. J.; ZANOVELI, J. M.; CORREIA, D.; DA CUNHA, C.; ANDREATINI, R. Spironolactone and low-dose dexamethasone enhance extinction of contextual fear conditioning. Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry , vol. 34, n. 7, p. 1229–1235, 2010.
21	RAFIQ, S.; BATOOL, Z.; LIAQUAT, L.; HAIDER, S. Blockade of muscarinic receptors impairs reconsolidation of older fear memory by decreasing cholinergic neurotransmission: A study in rat model of PTSD. Life Sciences , vol. 256, 2020.
22	ROBINSON, S.; CHRIST, C. C.; CAHILL, M. M.; ALDRICH, S. J.; TAYLOR-YEREMEEVA, E. Voluntary exercise or systemic propranolol ameliorates stress-related maladaptive behaviors in female rats. Physiology and Behavior , vol. 198, p. 120–133, 2019.
23	RODRIGUEZ-ROMAGUERA, J.; SOTRES-BAYON, F.; MUELLER, D.; QUIRK, G. J. Systemic Propranolol Acts Centrally to Reduce Conditioned Fear in Rats Without Impairing Extinction. Biological Psychiatry , vol. 65, n. 10, p. 887–892, 2009.
24	SCHNEIDER, A. M.; SIMSON, P. E.; DAIMON, C. M.; MROZEWSKI, J.; VOGT, N. M.; KEEFE, J.; KIRBY, L. G. Stress-dependent opioid and adrenergic modulation of newly retrieved fear memory. Neurobiology of Learning and Memory , vol. 109, p. 1-6, 2014.
25	WANG, H. B.; XING, X. L.; WANG, H. Y. - Propranolol rescued secondary trauma induced by immediate extinction. Acta Psychologica Sinica , vol. 53, n. 6, p. 603-612, 2021.
26	ZAICHENKO, M. I.; MARKEVICH, V. A.; GRIGOR'YAN, G. A. Propranolol degrades memory reconsolidation in conditions of single and multiple combinations of tones with pain. Neuroscience and Behavioral Physiology , vol. 47, n. 6, p. 722–727, 2017.

27	ZHOU, J.; LUO, Y.; ZHANG, J. T.; LI, M. X.; WANG, C. M.; GUAN, X. L.; WU, P. F.; HU, Z. L.; JIN, Y.; NI, L.; WANG, F.; CHEN, J. G. Propranolol decreases retention of fear memory by modulating the stability of surface glutamate receptor GluA1 subunits in the lateral amygdala. British Journal of Pharmacology , vol. 172, n. 21, p. 5068–5082, 2015.
28	ZHU, R. T.; LIU, X. H.; SHI, Y. W.; WANG, X. G.; XUE, L.; ZHAO, H. Propranolol can induce PTSD-like memory impairments in rats. Brain and Behavior , vol. 8, n. 2, 2018.

REFERÊNCIAS SOBRESALTO POTENCIALIZADO PELO MEDO

1	DAVIS, M.; REDMOND Jr, D. E.; BARABAN, J. M. Noradrenergic agonists and antagonists: Effects on conditioned fear as measured by the potentiated startle paradigm. Psychopharmacology , vol. 65, n. 2, p. 111–118, 1979.
2	INAGAKI, H.; KIYOKAWA, Y.; TAKEUCHI, Y.; MORI, Y. The alarm pheromone in male rats as a unique anxiety model: Psychopharmacological evidence using anxiolytics. Pharmacology Biochemistry and Behavior , vol. 94, n. 4, p. 575–579, 2010.
3	WALKER, D. L.; DAVIS, M. Light-enhanced startle: Further pharmacological and behavioral characterization. Psychopharmacology , vol. 159, n. 3, p. 304–310, 2002.
4	WEBER, M.; WATTS, N.; RICHARDSON, R. High Illumination Levels Potentiate the Acoustic Startle Response in Prewaning Rats. Behavioral Neuroscience , vol. 117, n. 6, p. 1458–1462, 2003.

REFERÊNCIAS LABIRINTO EM CRUZ ELEVADO

1	AYKAÇ, A.; AYDIN, B.; CABADAK, H.; GÖREN, M. Z. The change in muscarinic receptor subtypes in different brain regions of rats treated with fluoxetine or propranolol in a model of post-traumatic stress disorder. Behavioural Brain Research , vol. 232, n. 1, p. 124–129, 2012.
2	PARFITT, G. M.; BARBOSA, A. K.; CAMPOS, R. C.; KOTH, A. P.; BARROS, D. M. Moderate stress enhances memory persistence: Are adrenergic mechanisms involved? Behavioral Neuroscience , vol. 126, n. 5, p. 729–734, 2012.
3	STERN, C. A. J.; CAROBREZ, A. P.; BERTOGLIO, L. J. Aversive learning as a mechanism for lack of repeated anxiolytic-like effect in the elevated plus-maze. Pharmacology Biochemistry and Behavior , vol. 90, n. 4, p. 545–550, 2008.
4	ZAIDI, Safiyya; ATROOZ, F.; VALDEZ, D.; LIU, H., KOCHI, C.; BOND, R. A.; SALIM, S. Protective effect of propranolol and nadolol on social defeat-induced behavioral impairments in rats. Neuroscience Letters , vol. 725, 2020.

REFERÊNCIAS TESTE CAMPO ABERTO

1	CAMP, R. M.; JOHNSON, J. D. Repeated stressor exposure enhances contextual fear memory in a beta-adrenergic receptor-dependent process and increases impulsivity in a non-beta receptor-dependent fashion. Physiology and Behavior , vol. 150, p. 64–68, 2015.
---	---

2	FAN, S. J.; JIANG, H.; YANG, L. J.; LIU, X.; SONG, J.; PAN, F. Effects of adrenergic agents on stress-induced brain microstructural and immunochemical changes in adult male Wistar rats. Annals of Anatomy , vol. 193, n. 5, p. 418-424, 2011.
3	RODRIGUEZ-ROMAGUERA, J.; SOTRES-BAYON, F.; MUELLER, D.; QUIRK, G. J. Systemic Propranolol Acts Centrally to Reduce Conditioned Fear in Rats Without Impairing Extinction. Biological Psychiatry , vol. 65, n. 10, p. 887–892, 2009.

ANEXO A – Estratégias de busca e resultados nas bases de dados

Estratégia de busca *Web of Science* (data: 27/09/2021)

ID da pesquisa	Termos	Número total de artigos
#1	<i>TS=((“Rats” OR “Rat” OR “Rattus” OR “Rattus norvegicus” OR “Rats, Norway” OR “Rats, Laboratory” OR “Laboratory Rat” OR “Laboratory Rats” OR “Rat, Laboratory”))</i>	1.917.801
#2	<i>ALL=((“Propranolol” OR “Propanolol” OR “Inderal” OR “Avlocardyl” OR “AY-20694” OR “AY 20694” OR “AY20694” OR “Rexigen” OR “Dexpropranolol” OR “Dociton” OR “Obsidan” OR “Obzidan” OR “Propranolol Hydrochloride” OR “Hydrochloride, Propranolol” OR “Anaprilin” OR “Anapriline” OR “Betadren”))</i>	29.852
#3	<i>ALL=((“Fear” OR “Aversive learning”))</i>	122.506
#4	<i>#1 and #2</i>	6.605
#5	<i>#1 and #3</i>	10.089
#6	<i>#2 and #3</i>	295
#7	<i>#1 and #2 and #3</i>	114

Fonte: Elaborada pelo autor (2021).

Estratégia de busca *PubMed* (data: 27/09/2021)

ID da pesquisa	Termos	Número total de artigos
#1	<i>"Rats"[Title/Abstract] OR "Rat"[Title/Abstract] OR "Rattus"[Title/Abstract] OR "Rattus norvegicus"[Title/Abstract] OR "rats norway"[Title/Abstract] OR "rats laboratory"[Title/Abstract] OR "Laboratory Rat"[Title/Abstract] OR "Laboratory Rats"[Title/Abstract] OR "rat laboratory"[Title/Abstract]</i>	1.415.614
#2	<i>"Propranolol"[MeSH Terms] AND ("Propranolol"[All Fields] OR "Propanolol"[All Fields] OR "Inderal"[All Fields] OR "Avlocardyl"[All Fields] OR "ay 20694"[All Fields] OR "ay 20694"[All Fields] OR ("Propranolol"[MeSH Terms] OR "Propranolol"[All Fields]) OR ("Propranolol"[MeSH Terms] OR "Propranolol"[All Fields]) OR "Dexpropranolol"[All Fields] OR "Dociton"[All Fields] OR "Obsidan"[All Fields] OR "Obzidan"[All Fields] OR "Propranolol Hydrochloride"[All Fields] OR "hydrochloride propranolol"[All Fields] OR "Anaprilin"[All Fields] OR "Anapriline"[All Fields] OR "Betadren"[All Fields])</i>	32.601
#3	<i>"Fear"[All Fields] OR "Aversive learning"[All Fields]</i>	86.817
#4	<i>#1 and #2</i>	5.850
#5	<i>#1 and #3</i>	6.258
#6	<i>#2 and #3</i>	158
#7	<i>#1 and #2 and #3</i>	44

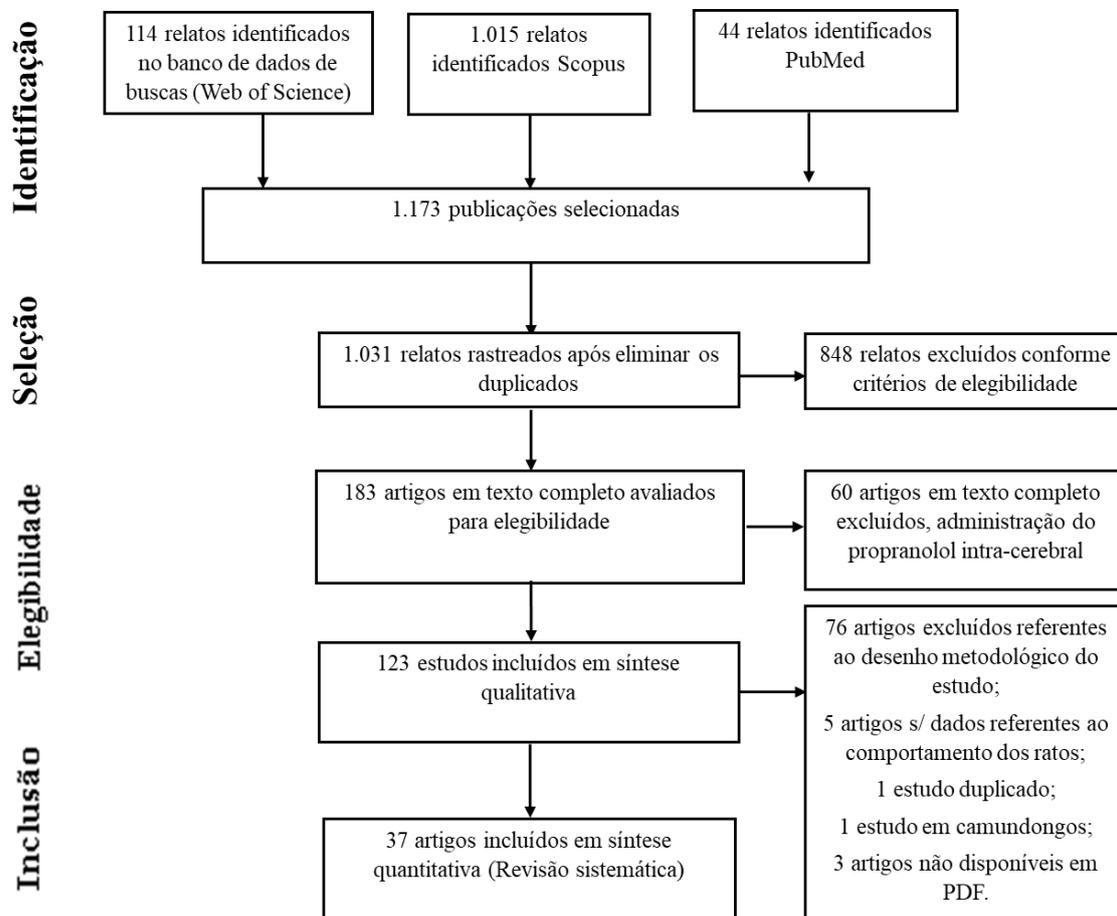
Fonte: Elaborada pelo autor (2021).

Estratégia de busca *SCOPUS* (data: 27/09/2021):

(TITLE-ABS-KEY(("Rats" OR "Rat" OR "Rattus" OR "Rattus norvegicus" OR "Rats, Norway" OR "Rats, Laboratory" OR "Laboratory Rat" OR "Laboratory Rats" OR "Rat,Laboratory")) AND (ALL(("Propranolol" OR "Propanolol" OR "Inderal" OR "Avlocardyl" OR "AY-20694" OR "AY 20694" OR "AY20694" OR "Rexigen" OR

"Dexpropranolol" OR "Dociton" OR "Obsidan" OR "Obzidan" OR "Propranolol Hydrochloride" OR "Hydrochloride, Propranolol" OR "Anaprilin" OR "Anapriline" OR "Betadren"))) AND (ALL(("Fear" OR "Aversive learning")))

ANEXO B – Fluxograma PRISMA para revisão sistemática



Fonte: adaptado de Moher e colaboradores (2009).