

ARIÁDNE ELISA BELO DA SILVA

**Impacto do Estresse Crônico Imprevisível Sobre o Eixo HPA e o
Comportamento do Tipo Ansioso em Camundongos Enriquecidos**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Farmacologia do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo para a obtenção do título de mestre em Ciências.

Área de concentração: Farmacologia.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Carolina Demarchi Munhoz

Versão Corrigida

São Paulo
2020

RESUMO

Belo-Silva, A. E. Impacto do Estresse Crônico Imprevisível Sobre o Eixo HPA e o Comportamento do Tipo Ansioso em Camundongos Enriquecidos. 81p. [Dissertação (Mestrado em Farmacologia)]. São Paulo: Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2020.

O termo ansiedade é conceitualmente empregado a fim de definir o estado de alerta de um indivíduo frente à iminência de um determinado perigo, tratando-se, portanto, de um estado emocional de grande valor adaptativo e evolutivo, essencial para à sobrevivência. Contudo, quando o indivíduo apresenta estado ansioso persistente, além de períodos apropriados ao nível de desenvolvimento, isto pode evidenciar uma ansiedade não mais como circunstância adaptativa, e sim como transtorno psiquiátrico. Apesar de não haver uma causa clara para o desencadeamento deste transtorno, a etiologia da ansiedade inclui a associação de uma predisposição genética e fatores psicossociais tais como estresse. Regiões encefálicas como o córtex pré-frontal (CPF) e o hipocampo são essenciais na resposta ao estresse devido sua neuromodulação sobre o eixo HPA, que é o centro de controle de resposta ao estresse. Alterações no eixo HPA têm sido associadas ao desencadeamento da ansiedade. Frente a isso, modelos animais que estudam o circuito do estresse têm sido explorados a fim de correlacionar o comportamento de roedores aos processos neurais humanos. Nesta pesquisa, o modelo utilizado foi o estresse crônico imprevisível (EI), que promove estímulos estressores moderados a intensos. O enriquecimento ambiental (EA), por sua vez, é um paradigma que fornece ao animal estímulos variados e é capaz de reduzir sintomas de ansiedade e depressão. Neste projeto, o EA foi empregado com a proposta de avaliar os efeitos que esse ambiente produz diante da exposição ao EI no comportamento do tipo ansioso. **Objetivo** Investigar o papel do eixo HPA na modulação do comportamento tipo ansioso após EI em animais expostos ao EA. **Metodologia** Os camundongos foram submetidos ao EA e, posteriormente, expostos ao modelo de EI. O papel do eixo HPA foi investigado pela inibição farmacológica por Metirapona (MET), que foi administrada via i.p 30 minutos antes de cada estresse. O comportamento tipo ansioso foi então avaliado pelo labirinto em cruz elevado (LCE). As concentrações plasmáticas de corticosterona

(CORT) e do hormônio adrenocorticotrófico (ACTH) foram avaliadas. **Resultados** O EA, quando associado ao EI, favoreceu um fenótipo do tipo ansioso, prevenido quando houve a sobreposição das três variáveis, que promoveu um efeito ansiolítico. Esse efeito ansiolítico do EA-EI-MET foi acompanhado por um aumento de CORT. Ao que parece, a MET agiu como um agente protetor frente à ansiedade desencadeada pelo estresse nos animais previamente enriquecidos, anulando o agente perturbador (estresse). Os animais EA submetidos ao EI apresentaram um aumento de ACTH plasmático, inibido pela MET. Alterações do eixo HPA induzidas pela administração crônica de MET revelaram um aumento de CORT plasmática inversamente proporcional ao comportamento tipo ansioso, de forma que maiores concentrações de CORT circulantes revertem o estado ansiogênico. Quanto à expressão de receptores glicocorticoides (GR), o EA reduziu a expressão de GR hipocampal e aumentou no CPF. **Conclusão** O EA não exerceu efeito protetor frente ao EI, e sim intensificou o limiar de estresse, resultando em comportamento ansioso. Contudo, a administração crônica de MET promoveu alterações no eixo HPA e inibiu o comportamento ansioso induzido por EA + EI, às custas de um aumento nas concentrações de corticosterona plasmática.

Palavras-Chave: Ansiedade; Glicocorticoides; Metirapona.

ABSTRACT

Belo-Silva, A. E. Impact of unpredictable chronic stress on the HPA axis and anxious-like behavior in enriched mice. 81p. [Dissertation (Master in Pharmacology)]. São Paulo: Institute of Biomedical Sciences, University of São Paulo, São Paulo, 2020.

Introduction The term anxiety is conceptually used in order to define the alertness of an individual in face of the imminence of a certain danger, being, therefore, an emotional state of great adaptive and evolutionary value, essential for survival. However, when the individual presents a persistent anxious state, in addition to periods appropriate to the level of development, this may show anxiety no longer as an adaptive circumstance, but as a psychiatric disorder. Although there is no clear cause for the onset of this disorder, the etiology of anxiety includes the association of a genetic predisposition and psychosocial factors such as stress. Brain regions such as the prefrontal cortex (PFC) and the hippocampus are essential in the response to stress due to their neuromodulation on the HPA axis, which is the control center for the response to stress. Changes in the HPA axis have been associated with the onset of anxiety. In view of this, animal models that study the stress circuit have been explored in order to correlate rodent behavior to human neural processes. In this research, the model used was chronic unpredictable stress (CUS), which promotes moderate to intense stressful stimuli. Environmental enrichment (EE), in the other hand, is a paradigm that provides the animal with varied stimuli and is capable of reducing symptoms of anxiety and depression. In this project, the EE was employed with the purpose of evaluating the effects that this environment produces in the face of exposure to CUS on the anxious behavior. **Aim** Investigate the role of the HPA axis in the modulation of anxious behavior after CUS in animals exposed to EE. **Methodology** The mice were submitted to EE and, subsequently, exposed to the CUS protocol. The role of the HPA axis was investigated by pharmacological inhibition by Metyrapone (MET), which was administered via i.p 30 minutes before each stress. Anxious behavior was then assessed using the elevated plus maze (EPM). Plasma concentrations of corticosterone (CORT) and adrenocorticotrophic hormone (ACTH) were assessed. **Results** EE, when associated with CUS, favored an anxious phenotype, prevented when there was an overlap of the three variables, which

promoted an anxiolytic effect. This anxiolytic effect of EE-CUS-MET was accompanied by an increase in CORT. Apparently, MET acted as a protective agent against anxiety triggered by stress in animals previously enriched, canceling out the disturbing agent (stress). EE animals submitted to CUS showed an increase in plasma ACTH, inhibited by MET. Changes in the HPA axis induced by chronic administration of MET revealed an increase in plasma CORT inversely proportional to anxious behavior, so that higher concentrations of circulating CORT reversed the anxiogenic state. As for the expression of glucocorticoid receptors (GR), EE reduced the expression of hippocampal GR and increased in CPF. **Conclusion** EE did not have a protective effect against CUS, but intensified the stress threshold, resulting in anxious behavior. However, chronic administration of MET promoted changes in the HPA axis and inhibited anxious behavior induced by EE + CUS, at the expense of an increase in plasma corticosterone concentrations.

Keywords: Anxiety; Glucocorticoids; Metyrapone.

1 INTRODUÇÃO

O termo ansiedade é conceitualmente empregado a fim de definir o estado de alerta de um indivíduo frente à iminência de um determinado perigo (Sadock, Sadock e Ruiz, 2017). De acordo com o proposto por Graeff (2007), a ansiedade se trata de um estado emocional de grande valor adaptativo e evolutivo, que é experienciado, de maneira subjetiva, como não prazeroso, desconfortável e cuja expressão plena envolve alterações comportamentais, psicofisiológicas e cognitivas. Trata-se de um estado reativo importante do ser humano, essencial para à sobrevivência. Contudo, quando o indivíduo apresenta estado ansioso persistente e sem a iminência de um perigo real, isto pode evidenciar uma ansiedade não mais como circunstância adaptativa, e sim como transtorno psiquiátrico (Castillo *et al.* 2000; Montiel *et al.* 2014).

De acordo com o Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais (DSM V, 2014), os transtornos de ansiedade se diferenciam do medo ou da ansiedade fisiológica por serem excessivos ou persistirem além de períodos apropriados ao nível de desenvolvimento. Eles diferem do medo ou da ansiedade provisórios por serem persistentes (p. ex., em geral durando seis meses ou mais). Há manifestações físicas e emocionais, como presença de batimentos cardíacos acelerados, calafrios, sudorese, formigamentos, câimbras, boca seca, cólicas abdominais, medo, distúrbios do sono, dificuldade de concentração, fadiga, irritabilidade, inquietação e sensação de vazio no estômago (DSM V, 2014). Além disso, podem causar preocupação exacerbada sobre o futuro, inquietude interna, sensação desagradável indefinida, apreensão e desconforto mental (Ramos e Furtado, 2009). Ainda, são observadas atitudes de procrastinação que culminam em diminuição do rendimento e autopercepção de “falha e incompetência”, que podem levar o indivíduo ao estado de perda da autoestima e autocrítica negativa (Pereira e Lourenço, 2012).

Os transtornos de ansiedade diferem entre si nos tipos de objetos ou situações que induzem medo, ansiedade ou comportamento de esquiva e na ideação cognitiva associada. Assim, embora os transtornos de ansiedade tendam a ser altamente comórbidos entre si, podem ser diferenciados pelo exame detalhado dos tipos de situações que são temidos ou evitados e pelo conteúdo dos pensamentos ou

crenças associados (DSM V, 2014). Os transtornos de ansiedade se classificam em ansiedade de separação; fobias específicas; transtorno de ansiedade social (fobia social); transtorno de pânico; agorafobia; transtorno de ansiedade induzido por substâncias; e, por fim, transtorno de ansiedade generalizada (TAG) (DSM V, 2014).

O TAG está entre os transtornos da ansiedade mais diagnosticados na clínica. Embora visto inicialmente como um transtorno leve, atualmente se avalia que o TAG é uma doença crônica, associado a uma morbidade relativamente alta e a altos custos individuais e sociais (Schweizer, Rickels e Uhlenhuth, 1995; Andreatini, Boerngen-Lacerda e Filho, 2001). Cerca de 24% dos pacientes classificados como grandes usuários de serviços médicos ambulatoriais apresentam diagnóstico de TAG (Schweizer, Rickels e Uhlenhuth, 1995). As características essenciais do TAG são ansiedade e preocupação excessivas (expectativa apreensiva) acerca de diversos eventos ou atividades. A intensidade, duração ou frequência da ansiedade e preocupação é desproporcional à probabilidade real ou ao impacto do evento antecipado. O indivíduo tem dificuldade de controlar a preocupação e de evitar que pensamentos preocupantes interfiram na atenção às tarefas em questão. Além disso, ansiedade e preocupação são acompanhadas por pelo menos três dos seguintes sintomas adicionais: inquietação ou sensação de estar com os nervos à flor da pele, fadigabilidade, dificuldade de concentrar-se ou sensações de “branco” na mente, irritabilidade, tensão muscular e perturbação do sono (DSM V, 2014).

Estudos epidemiológicos mostram que os transtornos de ansiedade ocorrem em até 75% dos casos com transtornos de depressão (Shankman e Klein, 2003), como o transtorno depressivo maior (Regier *et al.* 1998; Hudson *et al.* 2007). Quando a ansiedade está associada a outros transtornos psiquiátricos, a sobrecarga econômica e pessoal, assim como a gravidade dos sintomas, apresentam significativo aumento que corroboram para a intensificação do estado ansioso (Stein *et al.* 2001; Hoffman, Dukes e Wittchen, 2008). Como reflexo do impacto deste transtorno no funcionamento social e laboral, estudos mostram que indivíduos com transtorno de ansiedade generalizada (TAG) apresentam médias de falta ao trabalho de 4 a 8 dias superiores às médias de indivíduos sem transtornos mentais (Weiller *et al.* 1998; Maier *et al.* 2000), causando substanciais custos econômicos ao paciente, aos familiares e ao serviço público de saúde (Maier *et al.* 2000), uma vez que, além da debilitação individual, esses transtornos estão diretamente relacionados a altos custos

para a economia (Pérez-Edgar *et al.* 2010). Em um trabalho de Greenberg e colaboradores (1999), foi realizado um levantamento dos custos direcionados para o tratamento de transtornos de ansiedade, nos Estados Unidos, ao longo dos anos 90, em pacientes diagnosticados entre 15 e 54 anos. O resultado foi de quase 43 bilhões de dólares divididos em tratamentos psiquiátricos, custos de prescrições farmacêuticas, prejuízos com queda de produtividade, mortalidade e tratamentos não-psiquiátricos das comorbidades. De acordo com Vigo e colaboradores (2016), tais custos contribuem para o negligenciamento de políticas públicas em sistemas de saúde voltadas para transtornos psiquiátricos. Esse quadro é ainda mais intensificado em países em desenvolvimento, onde se estima que até 85% dos indivíduos com transtornos psiquiátricos severos não recebam qualquer tipo de tratamento (OMS, 2017).

Os transtornos de ansiedade estão entre os transtornos psiquiátricos mais prevalentes, chegando a representar cerca de 7,3% dos transtornos psiquiátricos diagnosticados no mundo (Kessler *et al.* 2005; Chisholm *et al.* 2016). Com uma prevalência de 10,3%, fobias (isoladas) são os transtornos de ansiedade mais comuns (Jacobi *et al.* 2014). Transtorno do pânico com ou sem agorafobia é o próximo tipo mais comum, com prevalência de 6,0%, seguido de transtorno de ansiedade social, também chamado de fobia social com 2,7% e transtorno de ansiedade generalizada, com 2,2% (Bandelow e Michaelis, 2015).

Dados da Organização Mundial de Saúde (OMS, 2017) apontam que, no continente americano, esse transtorno chega a alcançar 5,7%, com destaque para o Brasil, onde a ansiedade está presente em 9,3% da população, possuindo maior número de casos entre os países de todo o mundo. Ainda, de acordo com dados de Andrade *et al.* (2012), cerca de 30% da população da região metropolitana de São Paulo apresenta algum tipo de transtorno psiquiátrico e desses 30%, 19% representam transtornos de ansiedade.

O gênero também é apontado como um fator importante na epidemiologia da ansiedade, uma vez que mulheres têm risco 1,5 a 2 vezes mais alto de desenvolver um transtorno de ansiedade ao longo da vida em relação a homens (Bandelow e Michaelis, 2015). Lebron-Milad e Milad (2012) apontaram que a maior incidência em mulheres estaria atrelada a diversos os fatores que contribuiriam para as diferenças

sexuais acerca dos transtornos de ansiedade, incluindo genética, ambiente e neurobiologia.

Apesar de não haver uma causa clara para o desencadeamento dos transtornos psiquiátricos, a etiologia da ansiedade inclui a associação de uma predisposição genética, que se manifesta em disfunções neurobiológicas e neuropsicológicas, e fatores psicossociais tais como estresse (Bandelow *et al.* 2017).

O termo “estresse” foi introduzido no campo da saúde em 1936 pelo fisiologista canadense Hans Selye para designar a resposta geral e inespecífica do organismo a um estressor ou a uma situação estressante (Selye, 1936). Este termo denota o estado gerado pela percepção de estímulos que perturbam a homeostasia, desencadeando um processo de adaptação caracterizado por diversas manifestações sistêmicas, com distúrbios fisiológicos e psicológicos (Margis *et al.* 2003).

Já o termo “estressor”, por sua vez, define o evento ou estímulo que provoca ou conduz ao estresse (Labrador e Crespo, 1994; Margis *et al.* 2003). O agente estressor pode ser de natureza física (temperaturas extremas, radiação); química (falta de oxigênio, intoxicação por uso de drogas recreativas); biológica (hemorragia, intervenção cirúrgica); psicológica (separação de casais, morte na família); ou social (falta de recursos financeiros para suprir as necessidades da família) (Magnusson, 1986).

De acordo com McEwen (2017), o estresse pode não necessariamente ser deletério, podendo ser benéfico ou tolerável, a depender do tipo de estressor, duração e frequência da exposição aos mesmos. Ele classifica como benéfico o estresse capaz de promover um aprimoramento do desempenho pessoal do indivíduo; tolerável, o estresse que proporciona determinado desconforto, mas ao qual um indivíduo sadio é capaz de se adaptar sem maiores danos; e deletério, o estresse que promove alterações fisiológicas, neuroendócrinas, imunes, autonômicas, metabólicas e de vias de transdução de sinal, que impedem uma resposta adaptativa capaz de lidar com o estímulo estressor (McEwen, 2017) Este pode, portanto, levar a má adaptação que pode contribuir para a fisiopatologia de transtornos psiquiátricos (McEwen *et al.* 2015).

Diversos estudos têm apontado para os efeitos do estresse sobre a manifestação dos sintomas da ansiedade (Schless *et al.* 1977; McEwen e Wingfield, 2010), e, ainda, sobre a predictabilidade do estresse, uma vez que estressores

imprevisíveis têm maior impacto negativo, em humanos, do que os previsíveis, devido à incapacidade dos indivíduos de antecipar o evento estressor e, portanto, de lidar com tal acontecimento (Anisman e Matheson, 2005).

Estressores psicossociais que foram associados com a etiologia dos transtornos de ansiedade incluem experiências traumáticas durante a infância ou adolescência como separação dos pais, discórdia conjugal, doença na infância e violência sexual ou física (Bandelow *et al.* 2016). Ainda, eventos traumáticos durante a fase adulta como perda de um ente querido, divórcio e problemas de cunho financeiro também foram apontados como possíveis gatilhos para o desenvolvimento dos transtornos de ansiedade (Bandelow *et al.* 2016). Alguns trabalhos apontam, também, a vida urbana como fator predisponente para o desenvolvimento de transtornos de ansiedade (Dohrenwend e Dohrenwend, 1974; Marsela, 1998; Peen *et al.* 2007) devido aos altos índices de violência, trânsito caótico e poluição, que reduzem a qualidade de vida dos habitantes, o que ajuda a compreender o porquê dos índices serem exorbitantes na região metropolitana de São Paulo (Andrade *et al.* 2012). Além disso, o risco de desenvolvimento de transtorno de ansiedade é ainda maior em ambiente de trabalho ou acadêmico insalubres (Dusselier *et al.* 2005; Godin *et al.* 2005).

As respostas fisiológicas desencadeadas frente a um agente estressor são moduladas por mediadores como os sistemas autônomo (síntese de adrenalina), neuroendócrino (ativação do eixo Hipotálamo-Pituitária-Adrenal – HPA), metabólico (regulação hormonal do metabolismo energético) e imunológico (componentes pró- e anti- inflamatórios) (McEwen, 2007; Lupien *et al.* 2009). Tais respostas culminam em efeitos como euforia, cognição aprimorada, atenção aguçada e concentrada na ameaça percebida e analgesia aumentada (Chrousos e Gold, 1999; Charmandari, Tsigos e Chrousos, 2005); além de alterações como mobilização de energia para manter a função cerebral e muscular, aumento do tônus cardiovascular e redistribuição do fluxo sanguíneo - aumentando o fornecimento de substrato e energia ao cérebro e músculos, modulação da função imune, inibição do comportamento sexual e da função reprodutiva, diminuição da alimentação e do apetite (Sapolsky, Romero e Munck, 2000; Habib, Gold e Chrousos, 2001).

Essas respostas compõem um conjunto de mecanismos adaptativos que preparam o organismo para reagir de maneira rápida e eficiente frente a ameaças. No

entanto, se esta resposta for ininterrupta ou crônica, essas alterações podem gerar prejuízos à saúde do indivíduo, causando redução da neurogênese hipocampal (Kandel *et al.* 2014), atenção reduzida, inibição do comportamento social, tomada de decisão prejudicada e déficit de extinção de memória (Selye, 1976; McEwen, 2000; Pacák e Palkovits, 2001; Dalley, Cardinal e Robbins, 2004).

Em um trabalho de Tilbrook e colaboradores (2000) foi apontada a importância de regiões encefálicas específicas como o complexo basolateral da amígdala (BLA), o hipocampo e o córtex pré-frontal (CPF) na compreensão dos impactos do estresse sobre o comportamento, função cognitiva, ajustes autonômicos e sobre a modulação do eixo HPA.

A amígdala é uma região de destaque dentro do mecanismo neuroendócrino de resposta ao estresse devido sua atividade modulatória sobre o eixo HPA, sendo um ativador do eixo e, portanto, promovendo liberação de hormônios glicocorticoides (Herman *et al.* 2003). Isto se dá devido às altas concentrações de receptores glicocorticoides (GR) e mineralocorticoides (MR) nessa região encefálica e cujos neurônios são densamente projetados para as regiões do hipotálamo e do tronco encefálico, intimamente conectados com o núcleo paraventricular do hipotálamo (PVN), principal regulador do eixo HPA (Herman *et al.* 2003; Mitra *et al.* 2009). A ativação excessiva ou prolongada desse sistema tem sido associada ao desencadeamento dos transtornos de ansiedade, sobretudo ao prejuízo no mecanismo de retroalimentação negativa (Pariante e Miller, 2001).

Frente a um estímulo estressor, o BLA é ativado e suas projeções excitatórias promovem a ativação do PVN (Aguilera e Liu, 2012), levando à síntese e a secreção do fator liberador de corticotrofina (CRF). O CRF, por sua vez, estimula as células corticotróficas da adeno-hipófise a sintetizar e liberar o hormônio adrenocorticotrófico (ACTH), que, chega ao córtex das glândulas adrenais e induz a liberação de glicocorticoides como o cortisol, em humanos, e corticosterona (CORT) em roedores (Bornstein e Chrousos, 1999; Kandel *et al.* 2014; Nicolaidis *et al.* 2015). Os glicocorticoides, por sua vez, atuam no hipotálamo e na hipófise regulando o eixo HPA via mecanismo de retroalimentação negativa, inibindo produção e secreção de CRH e ACTH (Tilbrook, Turner e Clark, 2000; Lupien *et al.* 2009) (Figura 1).

Figura 1. Eixo Hipotálamo-Pituitária-Adrenal

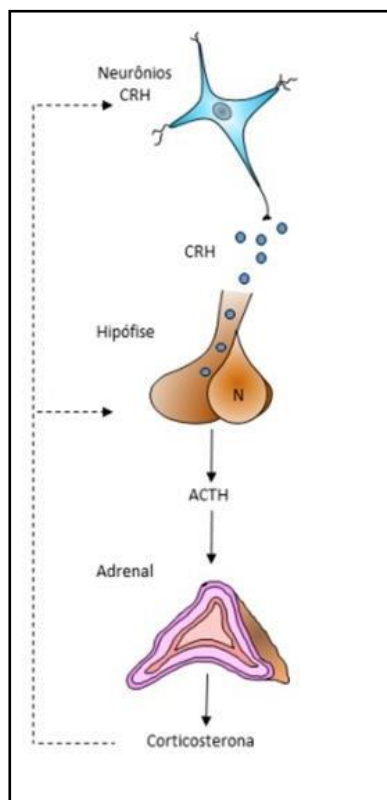


Figura 1. Representação esquemática da cascata de ativação do Eixo Hipotálamo-Pituitária-Adrenal (HPA). (Fonte: Merlo, 2017).

O hipocampo e o CPF também exercem efeito sobre o eixo HPA, por meio da modulação da liberação CORT (Herman *et al.* 2005). Essas regiões são amplamente inibidoras da secreção de hormônios do eixo HPA, ao passo que o BLA é ativador da secreção de glicocorticoides (Jacobson e Sapolsky, 1991; Feldman, Conforti e Weindenfeld, 1995). Projeções neuronais do giro denteado do hipocampo sobre o núcleo paraventricular do hipotálamo colaboram para a síntese e liberação de CORT, coordenando a retroalimentação negativa (Sapolsky, Krey e McEwen, 1984; Reul e de Kloet, 1985; Moser e Moser, 1998). Situações de estresse crônico, em que ocorre um aumento da disponibilidade de glicocorticoides, promovem disfunção e morte de neurônios hipocâmpais. Desta forma, a degeneração do hipocampo gera uma resposta ao estresse mais pronunciada, levando a uma hiperdisponibilidade de glicocorticoides, conseqüentemente gerando danos ao hipocampo (Issa *et al.* 1990). Os efeitos dos glicocorticoides sobre o hipocampo também têm sido relacionados a prejuízos na memória, como mostra o trabalho de Starkman e colaboradores (1992), que apontou extenso dano na memória de pacientes diagnosticados com Síndrome

de Cushing, uma condição caracterizada por hipercortisolemia. Ainda, os transtornos de ansiedade têm sido relacionados tanto à hiperatividade da amígdala quanto à atividade prejudicada do hipocampo (Herman *et al.* 2005).

Assim como o hipocampo, o CPF expressa grande número de receptores glicocorticoides (GR) e a sua região medial integra o “circuito cerebral do estresse”, estando envolvido nas funções cognitivas executivas e no controle neuronal inibitório da síntese e liberação de hormônios do eixo HPA (Ahima e Harlan, 1990). A regulação do eixo depende de uma fina comunicação entre a amígdala que projeta e recebe projeções do córtex pré-frontal e do hipocampo, que concomitantemente modulam a liberação dos glicocorticoides. Situações de estresse são capazes de promover um hipofuncionamento dos neurônios corticais (Diorio, Viau e Meaney, 1993), devido ao aumento de ACHT e CORT, nas regiões cingulada do córtex e da divisão pré-límbica, que induz a produção de CRH pelo núcleo paraventricular do hipotálamo, o que promove uma desregulação da retroalimentação negativa, apontando um papel crucial CPF na inibição do eixo HPA (Figueiredo *et al.* 2003). Segundo Bavelly *et al.* (2017), disfunções no CPF podem afetar drasticamente a regulação emocional, a atenção e a cognição.

Diversos estudos envolvendo roedores já demonstraram que o aumento nas concentrações plasmáticas de corticosterona pode estar relacionado ao desenvolvimento do comportamento tipo-ansioso (Adams *et al.* 2003; Aguilar-Valles *et al.* 2005; Aisa *et al.* 2007; Heim *et al.* 2008). Corroborando estes dados, outros autores demonstraram que pacientes diagnosticados com transtorno de ansiedade apresentam hiperatividade do eixo HPA (Buchanan *et al.* 2004; Kukulja *et al.* 2008).

Logo, os resultados obtidos com animais se relacionam com os dados encontrados em humanos, correlacionando o estresse às altas concentrações plasmáticas de glicocorticoides (Alvarez, Joel e Krugers, 2003; Choy *et al.* 2008). Em um trabalho de Mitra e Sapolsky (2008), os autores observaram o efeito ansiogênico da corticosterona, administrada via intraperitoneal, em ratos, no teste do labirinto em cruz elevado (LCE). Ainda, Vyas *et al.* (2002) relataram que o estresse crônico previsível é capaz de promover um efeito ansiogênico e aumentar a arborização dendrítica no BLA, ao passo que pode reduzir no hipocampo. Adicionalmente, Radley *et al.* (2006) mostrou efeito de atrofia dendrítica no CPF induzido por estresse. Em outro trabalho, Kim *et al.* (2014) mostraram que a administração sistêmica de CORT

produziu efeitos contrários no CPF e no BLA. No CPF, atrofiou a arborização dendrítica e causou prejuízo na memória de trabalho; e no BLA, hipertrofiou a arborização dendrítica, que está relacionada com o aumento do comportamento do tipo ansioso. Desta forma, quando o organismo perde a capacidade de se autorregular, o estresse se torna uma ameaça relacionada a doenças que podem comprometer a vida do indivíduo (Herman 2013).

Modelos animais têm possibilitado estudos neurobiológicos detalhados, correlacionando o comportamento de roedores e seus processos neurais subjacentes ao comportamento de humanos (Kandel *et al.* 2014). Contudo, para avaliar a utilidade dos modelos animais é preciso que haja a chamada validade, especialmente os três critérios de validade com maior relevância para os modelos voltados para transtornos psiquiátricos: validade de face, constructo e preditiva (Ellenbroek e Cools, 1990). A validade de face está relacionada a quão fidedigno o modelo é ao mimetizar sintomas de uma determinada condição clínica; já a validade de construto está relacionada com a habilidade de um modelo reproduzir aspectos fisiopatológicos de determinada doença; e a validade preditiva está voltada à propriedade pela qual um modelo animal pode demonstrar resposta, em animais, aos agentes terapêuticos para determinada condição em humanos (McGonigle 2014).

Em relação aos modelos animais voltados para ansiedade, há três categorias em que estes podem ser classificados: testes etológicos (ou não condicionados), testes de conflito e testes de condicionamento clássico (Cryan e Sweeney, 2011). No caso dos testes etológicos, estes se baseiam na combinação de um comportamento natural, não condicionado, como a exploração do ambiente, associado a um estímulo aversivo para criar um conflito no animal. É o caso do teste do labirinto em cruz elevado (LCE), um dos modelos de ansiedade mais utilizados, inicialmente proposto por Handley e Mithani (1984) e posteriormente validado por Pellow e File (1986); os testes de conflito condicionado combinam um comportamento motivado, como beber ou comer, com um estímulo aversivo, como choque elétrico. Tais testes, como o teste de conflito de Vogel (Vogel, Beer e Clody, 1971) são conhecidos por serem altamente confiáveis com mínimas taxas de erros (Rodgers 2010); Já os testes de condicionamento clássicos se utilizam do condicionamento para treinar o animal a associar estímulos neutros, como um barulho aleatório, a um estímulo aversivo a fim de alterar um comportamento natural (McGonigle 2014). Um teste clássico dessa

categoria é o medo condicionado (ou associado ao contexto), em que o animal é treinado para associar um som (ou local) a um choque elétrico, promovendo o chamado comportamento de *freezing*, funcionando como indicador do nível de ansiedade (Borsini *et al.* 2002)

No que se refere ao estresse, diversos modelos animais estão sendo desenvolvidos e utilizados para estudar modificações bioquímicas e comportamentais decorrentes de um evento estressor. São utilizados diversos modelos de indução de estresse como o de imersão em água fria (Agrawal, Jaggi e Singh, 2011); nado forçado (Armario, Gavalda e Marti, 1995); isolamento social (Dronjak e Gavrilovic, 2006); imobilização ou contenção (Klenerová *et al.* 2007); choque nas patas (Jodar, Takahashi e Kaneto, 1995); e alteração de ciclo claro/escuro (Galvão *et al.* 2009). E são classicamente divididos na literatura de acordo com a duração e números de eventos estressores em agudo (Donadio *et al.* 2007), sub-crônico (Asor *et al.* 2013) e crônico (Blanchard, Mueser e Bellack, 1998). Dentre estes modelos, estudos envolvendo o estresse crônico demonstram anormalidades comportamentais duradouras e persistentes, como prejuízos cognitivos e transtornos emocionais como a ansiedade (Vyas, Pillai e Chattarji, 2004) que podem levar a estados patológicos (Joca, Ferreira e Guimarães, 2007). E, ainda no que se refere a modelos de estresse crônico, estes podem, ainda, promover estímulos repetidos chamados de previsíveis ou que variam, considerados estressores imprevisíveis.

O modelo de estresse crônico imprevisível (EI) é baseado na variedade de estressores, apresentados randomicamente uma ou duas vezes por dia aos roedores, durante um determinado período, de forma intermitente e imprevisível, de modo a mimetizar a variabilidade dos estressores encontrados no cotidiano (validade de constructo). Os protocolos de EI são amplamente utilizados em roedores e demonstraram ser altamente eficazes na indução de fenótipos relacionados ao estresse (Papp, Moryl e Willner, 1996; Zurita *et al.* 2000; Ricon *et al.* 2012). Além disso, o modelo de EI eleva a atividade do eixo HPA continuamente, o que dificulta uma adaptação do animal às condições aversivas (Willner *et al.* 1987; Franco *et al.* 2016).

O EI é usualmente associado a comportamentos do tipo depressivo em roedores, tendo como consequência, por exemplo, anedonia (perda do prazer por coisas que, anteriormente, eram prazerosas) (Papp e Moryl, 1996; Willner, 2005).

Além disso, diversos estudos em roedores demonstraram que a exposição crônica ao EI foi capaz de aumentar o comportamento tipo-ansioso, avaliados pelos testes de labirinto em cruz elevado e interação social. Os resultados mostram perfis semelhantes aos observado na psicopatologia humana, incluindo alterações de peso, insônia ou hipersonia (Willner, 1984; Zurita *et al.* 2000; Maslova, Bulygina e Markel, 2002; Tannenbaum *et al.* 2002; Bowman, Beck e Luine, 2003; Buwalda *et al.* 2005; Campos *et al.* 2013), além de uma redução do volume hipocampal e prejuízos na memória (Isgor *et al.* 2004). Ainda, outros estudos descobriram que a remodelação estrutural dos neurônios hipocampais e do BLA pode persistir por até três semanas após o término do EI, assim como os comportamentos do tipo ansiosos (Vyas e Chattarji, 2004; Vyas *et al.* 2004; Buwalda *et al.* 2005).

A Metirapona (MET) é um bloqueador enzimático pertencente a um grupo de agentes farmacológicos designados "inibidores da biossíntese de esteróides adrenocorticais". Este fármaco atua reduzindo a síntese de glicocorticoides, inibindo a enzima 11- β -hidroxilase, que converte a 11-desoxicorticosterona em corticosterona (Schimmer e Parker, 1996). A MET é amplamente utilizada para bloquear a liberação de glicocorticóides induzida por estresse em estudos que tratam do papel fisiológico desses hormônios (Rottlant *et al.* 2002), sendo, portanto, utilizada para testar a integridade do eixo HPA (Neylan *et al.* 2003). Os efeitos da administração de MET são geralmente atribuídos à sua inibição de biossíntese de glicocorticóides e consequente redução da retroalimentação negativa de glicocorticóides no eixo HPA (Rottlant *et al.* 2002). A administração de metirapona resulta na ativação da região paraventricular do hipotálamo, o que promove liberação aprimorada de CRF (Conte-Devolx *et al.* 1992).

O enriquecimento ambiental (EA), por sua vez, é um protocolo experimental utilizado em roedores que tem se mostrado funcionar como um fator protetor frente a estímulos estressores. O EA consiste em um ambiente estimulante em que o animal tem contato com objetos inanimados de diferentes cores e texturas como rodas de exercícios, túneis, escadas etc. As gaiolas enriquecidas são maiores do que as gaiolas padrão, o que, por si só, já é um fator enriquecedor, uma vez que expõe os animais a um ambiente com maior complexidade em relação às condições padrão da gaiola de laboratório (Nithianantharajah e Hannan, 2006). Além disso, o espaço aumentado propicia um ambiente variado, baseado na inserção de novidades como a

roda de exercício, que promove atividade física voluntária, além dos brinquedos que estimulam a exploração do ambiente.

Em camundongos, o EA exerce um efeito ansiolítico (Benaroya-Milshtein *et al.* 2004) e pode conferir um fenótipo resiliente a camundongos expostos ao estresse crônico (Lehmann e Herkenham, 2011). Novaes e colaboradores (2017) constataram que animais expostos ao EA são resilientes ao desencadeamento de comportamento do tipo ansioso induzido pelo estresse agudo de contenção. No entanto, o EA não foi capaz de inibir o aumento das concentrações séricas de corticosterona induzido pelo estresse, ao passo que preveniu a translocação nuclear do receptor de glicocorticoide no BLA.

O protocolo de EA requer uma apresentação dinâmica da novidade, ou seja, os objetos precisam ser trocados e reorganizados, a fim de estimular a memória e o aprendizado (Nithianantharajah e Hannan, 2006). Além disso, a substituição rotineira dos objetos incentiva o comportamento exploratório, a curiosidade e a atenção (VEle, Berardi e Maffei, 2014).

A novidade, a interação social e o exercício físico voluntário são citados por Louilot e colaboradores (1986) como os três fatores chaves do EA que visam desenvolver as funções sensoriais, visuais, cognitivas e motoras dos animais (Nithianantharajah e Hannan, 2006; Percaccio *et al.* 2007) (Figura 1).

Figura 2. Esquema de Caixa Enriquecida

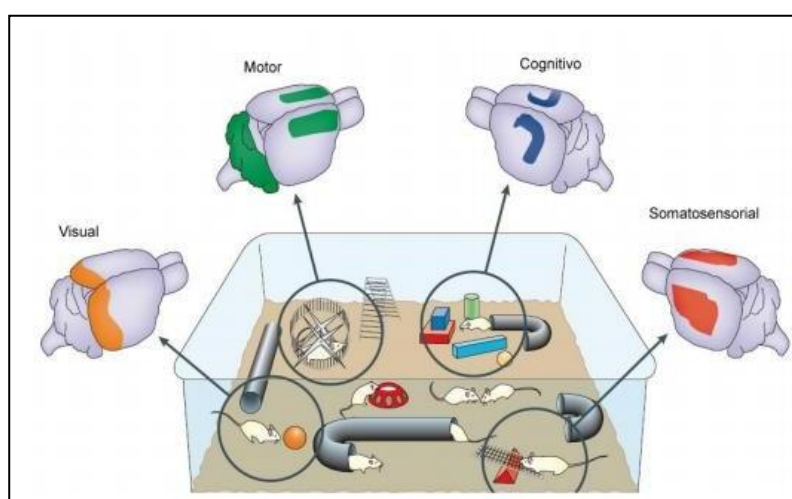


Figura 2. Representação esquemática do EA e ativação de diferentes áreas do sistema nervoso decorrente da interação com os diversos objetos, correspondendo a regiões visuais, motoras, cognitivas e somatossensoriais (Fonte: Nithianantharajah e Hannan, 2006).

O EA pode exercer efeito positivo sobre o indivíduo e, de acordo com Lehmann e Herkenham (2011), isto se dá devido à hipótese de que o EA se trata de um “*eustress*”, ou seja, um “estresse bom” para o organismo. Este modelo é considerado um estresse crônico leve por se tratar de um ambiente complexo com interações sociais constantes e exposições frequentes a uma variedade de estímulos. É comparado por Crofton, Zhang e Green (2015) a uma “imunização por vacina”, no sentido de fornecer ao indivíduo condições para responder a exposições futuras de estresse, promovendo um fenótipo resiliente, por meio das exposições leves a fatores estressantes, preparando o indivíduo para lidar com situações aversivas mais intensas (Lehmann Herkenham, 2011).

Tais fatos levam a crer que o EA seria capaz de não apenas prevenir, como também de reverter efeitos comportamentais e fisiológicos causados em decorrência do estresse. Em um estudo de Brenes e colaboradores (2008), o protocolo de EA foi realizado antes da exposição ao estresse e apontou que o EA é capaz de produzir um efeito antidepressivo em roedores. Segundo Schloesser e colaboradores (2010), o EA promove adaptações no organismo, como a redução dos comportamentos submissos e do tipo depressivos; e a retomada do comportamento hedônico, minimizando os efeitos deletérios do estresse.

Em um trabalho de Benaroya-Milshtein *et al.* (2004), animais expostos ao EA apresentaram redução do comportamento tipo ansioso no teste de labirinto em cruz elevado, o que também foi observado por Francis e colaboradores (2002) após submeter os animais ao estresse de separação materna. No que se refere a estudos acerca de dependência, Marianno e colaboradores (2017) mostraram que a exposição ao EA durante os períodos de privação ao etanol causou diminuição no consumo voluntário após estresse agudo de contenção.

A neurobiologia dos efeitos protetores do EA em relação ao estresse ainda não foi completamente elucidada, porém diversos trabalhos têm buscado esclarecer tais mecanismos. Estudos envolvendo roedores demonstraram que o EA promove alterações tanto neuroquímicas quanto moleculares em diferentes estruturas encefálicas (VEle, Berardi e Maffei, 2009), como o aumento da arborização dendrítica, bem como o aumento da densidade de espinhos dendríticos nos neurônios piramidais parietais do córtex (Leggio *et al.* 2005) e o aumento da neurogênese hipocampal (Kempermann, Kuhn e Gage, 1997).

Considerando que o estresse é uma condição cada vez mais observada na sociedade moderna, resultando em vários prejuízos neurocomportamentais, a investigação acerca de estímulos estressores, seus impactos sobre o eixo HPA e encontrar estratégias de redução de danos torna-se fundamental, uma vez que o estudo das alterações fisiológicas e suas relações com alterações comportamentais abrem precedentes para abordagens farmacológicas e terapêuticas mais precisas.

Frente ao exposto, este trabalho propõe estudar o comportamento ansioso, mudanças hormonais do eixo HPA e na expressão de GR decorrentes exposição de camundongos machos adultos ao modelo de estresse crônico imprevisível (EI) e, ainda, explorar o efeito protetor do enriquecimento ambiental (EA) sobre estes indivíduos.

2 CONCLUSÃO

No presente trabalho concluiu-se, inicialmente, que o EA, classicamente conhecido por seu papel protetor frente a estresses agudos e crônicos previsíveis, não exerceu tal efeito protetor sobre estresses crônicos imprevisíveis. Na realidade, nesse contexto, o estresse do EA se somou ao do EI, promovendo um limiar de estresse ainda maior, resultando em comportamentos ansiosos e resposta prejudicada do eixo HPA.

Por outro lado, a administração crônica de MET promoveu uma série de alterações hipotalâmicas e extra-hipotalâmicas, em todo o eixo HPA, que culminaram em respostas comportamentais semelhantes à de animais controle. Ou seja, apesar dos animais EA-EI-MET apresentarem respostas hormonais e expressões proteicas alteradas, tais alterações promoveram um remodelamento bioquímico e neural que contribuiu para a reversão do comportamento ansioso, apontando o efeito protetor da associação do EA à MET frente a estresses crônicos, imprevisíveis e intensos, o que foi a grande descoberta desta pesquisa.

Frente a tudo que foi exposto, os resultados apontam a necessidade de que estudos subsequentes sejam conduzidos com o intuito de elucidar os mecanismos envolvidos em tais efeitos protetores promovidos pelo EA e pela MET. Assim, enxerga-se nessa proposta a possibilidade do desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas farmacológicas e não farmacológicas, em conjunto, para o tratamento dos transtornos de ansiedade.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS*

- Adams, F.;** Grassie, M.; Shahid, M.; Hill, D.R.; Henry, B. 2003. Acute oral dexamethasone administration reduces levels of orphan GPCR glucocorticoid-induced receptor (GIR) mRNA in rodent brain. *Molecular Brain Research*, 117(1):39-46.
- Agrawal, A.;** Jaggi, A. S.; Singh N. 2011. Pharmacological investigations on adaptation in rats subjected to cold water immersion stress. *Physiology & Behavior*, 103 (3-4): 321-9.
- Aguilera, G.;** Liu, Y. 2012. The molecular physiology of CRH neurons. *Frontiers in Neuroendocrinology* 33:67–84.
- Aguillar-Valles, A.;** Sanchez, E.; De Gortari, P.; Balderas, I.; Ramirez-Amaya, V.; Bermudez-Rattoni, F. 2005. Joseph-Bravo, P. Analysis of the stress response in rats trained in the water-maze: differential expression of corticotropin-release hormone, CRH-R1, glucocorticoids receptors and brain-derived neurotrophic factor in limbic regions. *Neuroendocrinology*, 82(5-6): 306-319.
- Ahima, R.S.;** Harlan, R.E. 1990. Charting of type II glucocorticoid receptor-like immunoreactivity in the rat central nervous system. *Neuroscience*, 39(3): 579-604.
- Aisa, B.;** Tordera, R.; Lasheras, B.; Del Rio, J.; Ramirez, M. J. 2007. Cognitive impairment associated to HPA axis hyperactivity after maternal separation in rats. *Psychoneuroendocrinology*, 32(3): 256-266.
- Alfarez, D. N.;** Joel, M.; Krugers, H.J. 2003. Chronic unpredictable stress impairs long-term potentiation in rat hippocampal CA1 area and dentate gyrus in vitro. *European Journal of Neuroscience*, 17(9): 1928-1934.
- Andrade, L.H.;** Wang, Y.P.; Andreoni, S.; Silveira, C.M.; Alexandrino-Silva, C.; Siu, E.R.; Nishimura, R.; Anthony, J.C.; Gattaz, W.F.; Kessler, R.C.; Viana, M.C. 2012. Mental disorders in megacities: findings from the São Paulo megacity mental health survey, Brazil. *PloS one*, 7(2).
- Andreatini, R.;** Boerngen-Lacerda, R.; Filho, D.Z. 2001. Tratamento farmacológico do transtorno de ansiedade generalizada: perspectivas futuras. *Revista Brasileira de Psiquiatria*, 23 (4):233-242.
- Anisman, H.;** Matheson, K. 2005. Stress, depression, and anhedonia: caveats concerning animal models. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 29(4-5):.525-546.
- Armario, A.;** Gavaldà, A.; Martí, J. 1995. Comparison of the behavioural and endocrine response to forced swimming stress in five inbred strains of rats. *Psychoneuroendocrinology*, 20(8): 879-90.

*De acordo com: ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR6023**.

Asor, E.; Belhanes, H.; Kavushansky, A. Zubedat, S.; Klein, E.; Avital, A.; Ben-Shachar, D. 2013. Early postnatal interference with the expression of multiple Sp1 regulated genes leads to disparate behavioral response to sub-chronic and chronic stress in rats. *Psychoneuroendocrinology*, 38(10): 2173-83.

Bakos, J.; Hlavacova, N.; Rajman, M.; Ondicova, K.; Koros, C.; Kitraki, E.; Steinbusch, H.W.M.; Jezova, D. 2009. Enriched environment influences hormonal status and hippocampal brain derived neurotrophic factor in a sex dependent manner. *Neuroscience*, 164(2): 788-797.

Baldini, S.; Restani, L.; Baroncelli, L.; Coltelli, M.; Franco, R.; Cenni, M.C.; Maffei, L.; Berardi, N. 2013. Enriched early life experiences reduce adult anxiety-like behavior in rats: a role for insulin-like growth factor 1. *Journal of Neuroscience*, 33(28): 11715-11723.

Bandelow, B.; Baldwin, D.; Abelli, M.; Altamura, C.; Dell'Osso, B.; Domschke, K.; Fineberg, N.A.; Grünblatt, E.; Jarema, M.; Maron, E.; Nutt, D. 2016. Biological markers for anxiety disorders, OCD and PTSD—a consensus statement. Part I: neuroimaging and genetics. *The World Journal of Biological Psychiatry*, 17(5): 321-365.

Bandelow, B.; Baldwin, D.; Abelli, M.; Bolea-Alamanac, B.; Bourin, M.; Chamberlain, S.R.; Cinosi, E.; Davies, S.; Domschke, K.; Fineberg, N.; Grünblatt, E. 2017. Biological markers for anxiety disorders, OCD and PTSD: A consensus statement. Part II: Neurochemistry, neurophysiology and neurocognition. *The World Journal of Biological Psychiatry*, 18(3): 162-214.

Bandelow, B.; Michaelis, S. 2015. Epidemiology of anxiety disorders in the 21st century. *Dialogues in clinical neuroscience*, 17(3): 327.

Barik, J.; Marti, F.; Morel, C.; Fernandez, S.P.; Lanteri, C.; Godeheu, G.; Tassin, J.P.; Mombereau, C.; Faure, P.; Tronche, F. 2013. Chronic stress triggers social aversion via glucocorticoid receptor in dopaminergic neurons. *Science*, 339 (6117): 332-335.

Barsegyan, A.; Mackenzie, S.M.; Kurose, B.D.; McGaugh, J.L.; Roozendaal, B. 2010. Glucocorticoids in the prefrontal cortex enhance memory consolidation and impair working memory by a common neural mechanism. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107(38): 16655-16660.

Bavley, C.C.; Fischer, D.K.; Rizzo, B.K.; Rajadhyaksha, A.M. 2017. Cav1. 2 channels mediate persistent chronic stress-induced behavioral deficits that are associated with prefrontal cortex activation of the p25/Cdk5-glucocorticoid receptor pathway. *Neurobiology of stress*, 7: 27-37.

Belz, E.E.; Kennell, J.S.; Czambel, R.K.; Rubin, R.T.; Rhodes, M.E. 2003. Environmental enrichment lowers stress-responsive hormones in singly housed male and female rats. *Pharmacology Biochemistry & Behavior*, 76(3-4):481-6.

Benaroya-Milshtein, N.; Hollander, N.; Apter, A.; Kukulansky, T.; Raz, N.; Wilf, A.; Yaniv, I.; Pick, C.G. 2004. Environmental enrichment in mice decreases anxiety, attenuates stress responses and enhances natural killer cell activity. *European Journal of Neuroscience*, 20:1341–1347.

Blanchard, D.C.; Blanchard, R.J. 1999. Cocaine potentiates defensive behaviors related to fear and anxiety. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 23(7):981-991.

Blanchard, J.J.; Mueser, K.T.; Bellack, A.S. 1998. Anhedonia, positive and negative affect and social functioning in schizophrenia. *Schizophrenia Bulletin* 24(3): 423-424.

Bornstein, S.R.; Chrousos, G.P. 1999. Adrenocorticotropin (ACTH)- and Non-ACTH-Mediated Regulation of the Adrenal Cortex: Neural and Immune Inputs. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 84(5):1729-1736.

Bouille, F.; Velthuis, H.; Koedam, K.; Steinbusch, H.V.; van den Hove, D.L.A.; Kenis, G.; Gabriel, C.; Mocaer, E.; Franc, B.; Rognan, D.; Mongeau, R. 2016. Behavioral and neurochemical characterization of TrkB-dependent mechanisms of agomelatine in glucocorticoid receptor-impaired mice. *European Neuropsychopharmacology*, 26(1): 65-77.

Borsini, F.; Podhorna, J.; Marazziti, D. 2002. Do animal models of anxiety predict anxiolytic-like effects of antidepressants? *Psychopharmacol*, 163: 121-141.

Bowman, R.E.; Beck, K.D.; Luine, V.N. 2003. Chronic stress effects on memory: sex differences in performance and monoaminergic activity, *Hormones & Behavior*, 43:48-59.

Bradford, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical biochemistry*, 72(1-2):248-254.

Brenes, J.C.; Padilla, M.; Fornaguera, J. 2009. A detailed analysis of open-field habituation and behavioral and neurochemical antidepressant-like effects in postweaning enriched rats. *Behavioural Brain Research*, 197(1): 125-137.

Brenes, J.C.; Rodriguez, O.; Fornaguera, J. 2008. Differential effect of environment enrichment and social isolation on depressive-like behavior, spontaneous activity and serotonin and norepinephrine concentration in prefrontal cortex and ventral striatum. *Pharmacology, Biochemistry & Behavior*, 89: 85–93.

Buchanan, T.W.; Kern, S.; Allen, J.S.; Tranel, D.; Kirshbaum, C. 2004. Circadian regulation of cortisol after hippocampal damage in humans. *Biological Psychiatry*, 56(9): 651-656.

Buwalda, B.; Kole, M.H.; Veenema, A.H.; Huininga, M.; de Boer, S.F.; Korte, S.M.; Koolhaas, J.M. 2005. Long-term effects of social stress on brain and behavior: a focus on hippocampal functioning. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 29(1): 83-97.

Calvo, N.; Martijena, I.D.; Molina, V.A.; Volosin, M. 1998. Metyrapone pretreatment prevents the behavioral and neurochemical sequelae induced by stress. *Brain Research*, 800(2): 227-235.

Campos, A.C.; Ortega, Z.; Palazuelos, J.; Fogaça, M.V.; Aguiar, D.C.; Díaz-Alonso, J.; Ortega-Gutiérrez, S.; Vázquez-Villa, H.; Moreira, F.A.; Guzmán, M.; Galve-Roperh, I.; Guimarães, F. 2013. The anxiolytic effect of cannabidiol on chronically stressed mice depends on hippocampal neurogenesis: involvement of the endocannabinoid system. *International Journal of Neuropsychopharmacology*, 16: 1407–1419.

Castillo, A.R.G.L.; Recondo, R.; Asbahr, F.R.; Manfro, G.G. 2000. Transtornos de ansiedade. *Revista Brasileira de Psiquiatria*, 22(2): 20-23.

Chaby, L.E.; Cavigelli, S.A.; Hirrlinger, A.M.; Caruso, M.J.; Braithwaite, V.A. 2015. Chronic unpredictable stress during adolescence causes long-term anxiety. *Behavioural Brain Research*, 278: 492-495.

Charmandari, E.; Tsigos, C.; Chrousos, G. 2005. Endocrinology of the stress response. *Annual Review Physiology*, 67:259-284.

Chen, C.; Nakagawa, S.; An, Y.; Kitaichi, Y.; Kusumi, I. 2017. The exercise-glucocorticoid paradox: how exercise is beneficial to cognition, mood and the brain while increasing glucocorticoid levels. *Frontiers in Neuroendocrinology*, 44: 83-102.

Chen, C.; Nakagawa, S.; Kitaichi, Y.; An, Y.; Omiya, N.; Song, M.; Koga, A.; Kato, T.; Inoue, I.; Kusumi, I. 2016. The role of medial prefrontal corticosterone and dopamine in the antidepressant-like effect of exercise. *Psychoneuroendocrinology*, 69: 1-9.

Chiba, S.; Numakawa, T.; Ninomiya, M.; Richards, M.C.; Wakabayashi, C.; Kunugi, H. 2012. Chronic restraint stress causes anxiety-and depression-like behaviors, downregulates glucocorticoid receptor expression, and attenuates glutamate release induced by brain-derived neurotrophic factor in the prefrontal cortex. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 39(1): 112-119.

Chisholm, D.; Sweeny, K.; Sheehan, P.; Rasmussen, B.; Smit, F.; Cuijpers, P.; Saxena, S. 2016. Scaling-up treatment of depression and anxiety: a global return on investment analysis. *The Lancet Psychiatry*, 3(5): 415-424.

Choy, K.H.; De Visser, Y.; Nichols, N.R.; Van Den, B.M. 2008. Combined neonatal stress and young-adult glucocorticoid stimulation in rats reduce BDNF expression in hippocampus: effect on learning and memory. *Hippocampus*, 18(7): 655-667.

Chrousos, G.P.; Gold, P.W. 1999. The endocrinology of melancholic and atypical depression: relation to neurocircuitry and somatic consequences. *Proceedings of the Association of American Physicians*, 111(1): 22-34.

Conrad, C.D.; Mauldin-Jourdain, M.L.; Hobbs, R.J. 2001. Metyrapone reveals that previous chronic stress differentially impairs hippocampal-dependent memory. *Stress*, 4(4): 305-318.

Conte-Devolx, B.; Guillaume, V.; Boudouresque, F.; Graziani, N.; Magnan, E.; Grino, M.; Emperaire, N.; Nahoul, K.; Cataldi, M.; Oliver, C. 1992. Effects of metyrapone infusion on corticotropin-releasing factor and arginine vasopressin secretion into the hypophysial portal blood of conscious, unrestrained rams. *European Journal of Endocrinology*, 127(5): 435-440.

Costa, J.C.; Pimentel, B. N. 2017. Effects of environmental enrichment on behavioral and anxiety at *Status Epilepticus*. *ConScientiae Saúde*, 16(2): 249-258.

Crofton, E.J.; Zhang, Y.; Green, T.A. 2015. Inoculation stress hypothesis of environmental enrichment. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 49: 19-31.

Cryan, J. F.; Sweeney, F. F. 2011. The age of anxiety: role of animal models of anxiolytic action in drug discovery. *Br J Pharmacol*, 164: 1129-1161

Dalley, J.W.; Cardinal, R.M.; Robbins, T.W. 2004. Prefrontal executive and cognition functions in rodents. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 28:771-784.

Dawson, G.R.; Tricklebank, M.D. 1995. Use of the elevated plus maze in the search for novel anxiolytic agents. *TiPS*, 16:33-36.

De Kloet, E.R. 2003. Hormones, brain and stress. *Endocrine regulations*, 37(2): 51.

De Kloet, E.R. 2008. About stress hormones and resilience to psychopathology. *Journal Neuroendocrinal*, 20(6):885-92.

De Kloet, E.R.; Joëls, M.; Holsboer, F. 2005. Stress and the brain: from adaptation to disease. *Nature*, 6:463-475.

De Kloet, E.R.; Vreugdenhil, E.; Oitzl, M.S.; Joëls, M. 1998. Brain corticosteroid receptor balance in health and disease. *Endocrine reviews*, 19(3), pp.269-301.

de Kloet, R.; Sybesma, H.; Reul, H.M. 1986. Selective control by corticosterone of serotonin receptor capacity in raphe-hippocampal system. *Neuroendocrinology*, 42(6): 513-521.

Diamond, M.C. 2001. Response of the brain to enrichment. *Anais da Academia Brasileira de Ciência*, 73(2): 211-20.

Diorio, D.; Viau, V.; Meaney, M.J. 1993. The role of the medial prefrontal cortex (cingulate gyrus) in the regulation of hypothalamic-pituitary-adrenal responses to stress. *Journal of Neuroscience*, 13(9): 3839-3847.

Dohrenwend, B. S.; Dohrenwend, B.P. (eds): *Stressful Life Events: Their Nature and Effects*, p340. New York, London and Sydney: John Wiley & Sons, 1974.

Donadio, M.V.; Corezola, K.L.; Franci, C.R.; Anselmo-Franci, J.A.; Lucion, A.B.; Sanvitto, G.L. 2007. Effects of acute stress on the day of proestrus on sexual behavior and ovulation in female rats: participation of the angiotensinergic system. *Physiology & Behavior*, 92:591-600.

Dronjak, S.; Gavrilovic, L. 2006. Effects of stress on catecholamine stores in central and peripheral tissues of long-term socially isolated rats. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 39(6):785-90

Dusselier, L.; Dunn, B.; Wang, Y.; Shelley il, M.C.; Whalen, D.F. 2005. Personal, health, academic, and environmental predictors of stress for residence hall students. *Journal of American College Health*, 54(1): 15-24.

Ellenbroek, B. A.; Cools, A. R. 1990. Animal models with construct validity for schizophrenia. *Behav Pharmacol*, 1:469-490.

Eskola, S.; Kaliste-Korhonen, E. 1998. Effects of cage type and gnawing blocks on weight gain, organ weights and open-field behaviour in Wistar rats. *Scandinavian Journal of Laboratory Animal Science*, 25: 180-193.

Falter, U.; Gower, A.J; Gobert, J. 1992. Resistance of baseline activity in the elevated plus-maze to exogenous influences. *Behavioural Pharmacology*, 3: 123-128.

Feldman, S.; Conforti, N.; Weidenfeld, J. 1995. Limbic pathways and hypothalamic neurotransmitters mediating adrenocortical responses to neural stimuli. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 19(2): 235-240.

Figueiredo, H.F.; Bruestle, A.; Bodie, B.; Dolgas, C.M.; Herman, J.P. 2003. The medial prefrontal cortex differentially regulates stress-induced c-fos expression in the forebrain depending on type of stressor. *European Journal of Neuroscience*, 18(8): 2357-2364.

Francis, D.D.; Diorio, J.; Plotsky, P.M.; Meaney, M.J. 2002. Environmental enrichment reverses the effects of maternal separation on stress reactivity. *Journal of Neuroscience*, 22(18): 7840-7843.

Franco, A.J.; Chen, C.; Scullen, T.; Zsombok, A.; VElahudeen, A.A.; Di, S.; Herman, J.P.; Tasker, J.G. 2016. Sensitization of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in a male rat chronic stress model. *Endocrinology*, 157(6): 2346-2355.

Froger, N.; Palazzo, E.; Boni, C.; Hanoun, N.; Saurini, F.; Joubert, C.; Dutriez-Casteloot, I.; Enache, M.; Maccari, S.; Barden, N.; Cohen-VElmon, C. 2004. Neurochemical and behavioral alterations in glucocorticoid receptor-impaired transgenic mice after chronic mild stress. *Journal of Neuroscience*, 24(11): 2787-2796.

Gallagher, J.P.; Orozco-Cabal, L.F.; Liu, J.; Shinnick-Gallagher, P. 2008. Synaptic physiology of central CRH system. *European journal of pharmacology*, 583(2-3): 215-225.

- Galvão, M.D.E.;** Sinigaglia-Coimbra, R.; Kawakami, S.E.; Tufik, S.; Suchecki, D. 2009. Paradoxical sleep deprivation activates hypothalamic nuclei that regulate food intake and stress response. *Psychoneuroendocrinology*, 34(8): 1176-1183.
- Garrido, P.;** De Blas, M.; Ronzoni, G.; Cordero, I.; Antón, M.; Giné, E.; Mora, F. 2012. Differential effects of environmental enrichment and isolation housing on the hormonal and neurochemical responses to stress in the prefrontal cortex of the adult rat: relationship to working and emotional memories. *Journal of Neural Transmission*, 120(5): 829–843.
- Girotti, M.;** Pace, T.W.W.; Gaylord, R.I.; Rubin, B.A.; Herman, J.P.; Spencer, R.L. 2006. Habituation to repeated restraint stress is associated with lack of stress-induced c-fos expression in primary sensory processing areas of the rat brain. *Neuroscience*, 138(4): 1067-1081.
- Godin, I.;** Kittel, F.; Coppieters, Y.; Siegrist, J. 2005. A prospective study of cumulative job stress in relation to mental health. *BMC public health*, 5(1): 67.
- Goldstein, D.S.;** McEwen, B. 2002. Allostasis, homeostats and the nature of stress. *Stress*, 5(1):55-8.
- Graeff, F.G.** Anxiety, panic and the hypothalamic-pituitary-adrenal axis. 2007. *Revista Brasileira de Psiquiatria*, 29:3-6.
- Greenberg, P.E.;** Sistsky, T.; Kessler, R.C.; Finkelstein, S.N.; Berndt, E.R.; Davidson, J.R.; Ballenger, J.C.; Fryer, A.J. 1999. The economic burden of anxiety disorders in the 1990s. *The Journal of Clinical Psychiatry*, 60: 427–435.
- Grégoire, C.A.;** Bonenfant, D.; Le Nguyen, A.; Aumont, A.; Fernandes, K.J. 2014. Untangling the influences of voluntary running, environmental complexity, social housing and stress on adult hippocampal neurogenesis. *PloS one*, 9(1).
- Habib, K.E.;** Gold, P.W.; Chrousos, G.P. 2001. Neuroendocrinology of stress. *Endocrinology and Metabolism Clinics*, 30(3): 695-728.
- Haemisch, A.;** Voss, T.; Gärtner, K. 1994. Effects of environmental enrichment on aggressive behavior, dominance hierarchies, and endocrine states in male DBA/2J mice. *Physiology & Behavior*, 56(5): 1041-1048.
- Handley, S. L.;** Mithani, S. 1984. Effect of alpha-adrenoceptor agonists and antagonists in a maze-exploration model of 'fear'-motivated behavior. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*, 327:1-5.
- Heim, C.;** Newport, D.J.; Heit, S.; Graham, Y.P.; Wilcox, M.; BonVEII, R.; Miller, A.H.; Nemeroff, C.B. 2000. Pituitary-adrenal and autonomic responses to stress in women after sexual and physical abuse in childhood. *Jama*, 284(5): 592-597.
- Heim, C.;** Newport, D.J.; Mletzko, T.; Miller, A.H.; Nemeroff, C.B. 2008. The link between childhood trauma and depression: insights from the HPA axis studies in humans. *Psychoneuroendocrinology*, 33(6): 693-710.

Herman, J.P. 2013. Neural control of chronic stress adaptation. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 7(61):1-12.

Herman, J.P.; Figueiredo, H.; Mueller, N.K.; Ulrich-Lai, Y.; Ostrander, M.M.; Choi, D.C.; Cullinan, W.E. 2003. Central mechanisms of stress integration: hierarchical circuitry controlling the hypothalamo-pituitary-adrenocortical responsiveness. *Frontiers in Neuroendocrinology*, 24(3):151-180.

Herman, J.P. 2013. Role of prefrontal cortex glucocorticoid receptors in stress and emotion. *Biological Psychiatry*, 74(9): 672-9.

Herman, J.P.; McKleevan, J.M.; GhoVEI, S.; Kopp, B., Wulsin, A.; Makinson, R.; Scheimann, J.; Myers, B. 2005. Regulation of the Hypothalamic-Pituitary-Adrenocortical Stress Response. *Comprehensive Physiology*, 6:603-621.

Hill, M.N.; Hellemans, K.G.; Verma, P.; Gorzalka, B.B.; Weinberg, J. 2012. Neurobiology of chronic mild stress: parallels to major depression. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 36(9): 2085-2117.

Hoffman, D.L.; Dukes, E.M.; Wittchen, H.U. 2008. Human and economic burden of generalized anxiety disorder. *Depression and Anxiety*, 25(1): 72-90.

Hudson, J.I.; Hiripi, E.; Pope Jr, H.G.; Kessler, R.C., 2007. The prevalence and correlates of eating disorders in the National Comorbidity Survey Replication. *Biological Psychiatry*, 61(3): 348-358.

Hughes, B.O.; Duncan, I.J.H. 1988. The notion of ethological 'need', models of motivation and animal welfare. *Animal Behaviour*, 36(6): 1696-1707.

Hutchinson, K.M.; McLaughlin, K.J.; Wright, R.L.; Ortiz, J.B.; Anouti, D.P.; Mika, A.; Diamond, D.M.; Conrad, C.D. 2012. Environmental enrichment protects against the effects of chronic stress on cognitive and morphological measures of hippocampal integrity. *Neurobiology of Learning and Memory*, 97(2): 250-260.

Isgor, C.; Kabbaj, M.; Akil, H.; Watson, S.J. 2004. delayed effects of chronic variable stress during peripubertal-juvenile period on hippocampal morphology and on cognitive and stress axis functions in rats. *Hippocampus*, 14:636–648.

Issa, A.M.; Rowe, W.; Gauthier, S. 1990. Meaney, M.J. Hypothalamic-pituitary-adrenal activity in aged, cognitively impaired and cognitively unimpaired rats. *Journal of Neuroscience*, 10:3247 – 3254.

Jacobi, F.; Höfler, M.; Siegert, J.; Mack, S.; Gerschler, A.; Scholl, L.; Busch, M.A.; Hapke, U.; Maske, U.; Seiffert, I.; Gaebel, W. 2014. Twelve-month prevalence, comorbidity and correlates of mental disorders in Germany: the Mental Health Module of the German Health Interview and Examination Survey for Adults (DEGS1-MH). *International Journal of Methods in Psychiatric Research*, 23(3): 304-319.

Jacobson, L.; Sapolsky, R. 1991. The role of the hippocampus in feedback regulation of the hypothalamic-pituitary-adrenocortical axis. *Endocrine Reviews*, 12(2): 118-134.

Jain, M.; Baldwin, A.L. 2003. Are laboratory animals stressed by their housing environment and are investigators aware that this stress can affect physiological data?, *Medical Hypotheses*, 60(2): 284-289.

Joca, S.R.; Ferreira, F.R.; Guimaraes, F.S. 2007. Modulation of stress consequences by hippocampal monoaminergic, glutamatergic and nitrenergic neurotransmitter system. *Stress*, 10(3):227-49.

Jodar, L.; Takahashi, M.; Kaneto, H. 1995. Effects of footshock-, psychological- and forced swimming-stress on the learning and memory processes: involvement of opioidergic pathways. *The Japanese Journal of Pharmacology*, 67(2): 143-7.

Juruena, M.F.; Cleare, A.J.; Pariante, C.M. 2004. The hypothalamic pituitary adrenal axis, glucocorticoid receptor function and relevance to depression. *Revista Brasileira de Psiquiatria*, 26(3): 189-201.

Kandel, E.; Schwartz, J.; Jessel, T.M.; Siegelbaum, S.; Hudspeth, A.J. 2014. Princípios de Neurociências. 5ª. *Porto Alegre: AMGH.*

Kempermann, G.; Kuhn, H.G.; Gage, F.H. 1997. More hippocampal neurons in adult mice living in an enriched environment. *Nature*. 386: 493–495.

Kennedy, C.L.; Carter, S.D.; Mifsud, K.R.; Reul, J.M. 2020. Unexpected effects of metyrapone on corticosteroid receptor interaction with the genome and subsequent gene transcription in the hippocampus of male rats. *Journal of Neuroendocrinology*, 32(2): 12820.

Kessler, R.C.; Chiu, W.T.; Demler, O.; Walters, E.E. 2005. Prevalence, severity, and comorbidity of 12-month DSM-IV disorders in the National Comorbidity Survey Replication. *Archives of General Psychiatry*, 62(6): 617-627.

Kim, H.; Yi, J.H.; Choi, K.; Hong, S.; Shin, K.S.; Kang, S.J. 2014. Regional differences in acute corticosterone-induced dendritic remodeling in the rat brain and their behavioral consequences. *BMC Neuroscience*, 15(1):65.

Kimura, L.F.; de Moura Mattaraia, V.G.; Picolo, G. 2019. Distinct environmental enrichment protocols reduce anxiety but differentially modulate pain sensitivity in rats. *Behavioural Brain Research*, 364: 442-446.

Klenerová, V.; Sida, P.; Krejcl, I.; Hlinak, Z.; Hynie, S. 2007. Effects of two types of restraint stress on spontaneous behavior of Sprague-Dawley and Lewis rats. *Journal of Physiology & Pharmacology*, 58(1): 83-94.

Konkle, A.; Kentner, A.C.; Baker, S.L.; Stewart, A.; Bielajew, C. 2010. Environmental-enrichment-related variations in behavioral, biochemical, and physiologic responses of

Sprague–Dawley and Long Evans rats. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science*, 49(4): 427-436.

Kukolja, J.; Thiel, C.M.; Wolf, O.T.; Fink, G.R. 2008. Increased cortisol levels in cognitively challenging situations are beneficial in young but not older subjects. *Psychopharmacology*, 201(2): 293-304.

Labrador, F.J.; Crespo, M. 1994. Evaluación del estrés. Fernández-Ballesteros R. Evaluación conductual hoy. Un enfoque para el cambio en psicología clínica y de la VEIud. *Ediciones pirámide SA–Madrid*, 484-529.

Laemmli, U.K. 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, 227(5259): 680-685.

Le Moal, M. 2007. Historical approach and evolution of the stress concept: A personal account. *Psychoendocrinology*, 32:3-9.

Leal-Galicia, P.; Saldívar-González, A.; Morimoto, S.; Arias, C. 2007. Exposure to environmental enrichment elicits differential hippocampal cell proliferation: role of individual responsiveness to anxiety. *Developmental Neurobiology*, 67(4): 395-405.

Lebron-Milad, K.; Milad, M.R. 2012. Sex differences, gonadal hormones and the fear extinction network: implications for anxiety disorders. *Biology of mood & anxiety disorders*, 2(1): 3.

Leggio, M.G.; Mandolesi, L.; Federico, F.; Spirito, F.; Ricci, B.; Gelfo, F., Petrosini L. 2005. Environmental enrichment promotes improved spatial abilities and enhanced dendritic growth in the rat. *Behavioral Brain Research*, 163: 78–90.

Lehmann, M.L.; Herkenham, M. 2011. Environmental enrichment confers stress resiliency to social defeat through an infralimbic cortex-dependent neuroanatomical pathway. *Journal of Neuroscience*, 31: 6159-73.

Lopez, J.F.; Chalmers, D.T.; Little, K.Y.; Watson, S.J. 1998. Regulation of serotonin1A, glucocorticoid, and mineralocorticoid receptor in rat and human hippocampus: implications for the neurobiology of depression. *Biological Psychiatry*, 43(8): 547-573.

Louilot, A.; Le Moal, M.; Simon H. 1986. Differential reactivity of dopaminergic neurons in the nucleus accumbens in response to different behavioral situations. An in vivo voltammetric study in free moving rats. *Brain Research*, 397:395–400.

Lupien, S.J.; de Leon, M.; de Santi, S.; Convit, A.; Tarshish, C.; Nair, N.P.; Thakur, M.; McEwen, B.S.; Hauger, R.L.; Meaney, M.J. 1998. Cortisol levels during human aging predict hippocampal atrophy and memory deficits. *Nature Neuroscience*, 1: 69-73.

Lupien, S.J.; McEwen, B.S.; Gunnar, M.R.; Heim, C. 2009. Effects of stress throughout the lifespan on the brain, behaviour and cognition. *Nature Reviews Neuroscience*, 10(6): 434-445.

Machado, R.B.; Tufik, S.; Suchecki, D. 2013. Role of Corticosterone on Sleep Homeostasis Induced by REM Sleep Deprivation in Rats. *PLoS ONE*, 8:5.

Magnusson, N. D. Situational determinants of stress: na interactional perspective. In: Goldberger L, Breznitz S. Handbook of stress - theoretical and clinical aspects. New York: The Free Press; 1986: 231-53.

Maier, W.; Gänsicke, M.; Freyberger, H.J.; Linz, M.; Heun, R.; Lecrubier, Y. 2000. Generalized anxiety disorder (ICD-10) in primary care from a cross-cultural perspective: a valid diagnostic entity?. *Acta Psychiatrica Scandinavica*, 101(1):29-36.
Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais – DSM. 5ª edição. Porto Alegre: Artmed, 2014.

Marashi, V.; Barnekow, A.; Ossendorf, E.; Sachser, N. 2003. Effects of different forms of environmental enrichment on behavioral, endocrinological, and immunological parameters in male mice. *Hormones and Behavior*, 43(2): 281-292.

Margis, R.; Picon, P.; Cosner, A.F.; Silveira, R.D.O. 2003. Relação entre estressores, estresse e ansiedade. *Revista de Psiquiatria do Rio Grande do Sul*, 25: 65-74.

Marianno, P.; Abrahao, K.P.; Camarini, R. 2017. Environmental enrichment blunts ethanol consumption after restraint stress in C57BL/6 mice. *PloS one*, 12(1).

Marsella, A.J. 1998. Urbanization, mental health, and social deviancy: A review of issues and research. *American Psychologist*, 53(6): 624.

Martini, L.; Lorenzini, R.N.; Cinotti, S.; Fini, M.; Giavaresi, G.; Giardino, R. 2000. Evaluation of pain and stress levels of animals used in experimental research. *Journal of Surgical Research*, 88(2): 114-119.

Maslova, L.N.; Bulygina, V.V.; Markel, A.L. 2002. Chronic stress during prepubertal development: immediate and long-lasting effects on arterial blood pressure and anxiety-related behavior. *Psychoneuroendocrinology*, 27(5): 549-561.

Matuszewich, L.; Karney, J.J.; Carter, S.R.; Janasik, S.P.; O'Brien, J.L.; Friedman, R.D. 2007. The delayed effects of chronic unpredictable stress on anxiety measures. *Physiology & Behavior*, 90(4): 674-681.

McCarty, R.; Horwatt, K.; Konarska, M. 1988. Chronic stress and sympatheticadrenal medullary responsiveness. *Social Science & Medicine*, 26(3):333-341.

McEwen, B. 2000. The neurobiology of stress: from serendipity to clinical relevance. *Brain Research*, 886:172–189.

McEwen, B.S. 2007. Physiology and neurobiology of stress and adaptation: central role of the brain. *Physiological Reviews*, 87(3): 873-904.

McEwen, B.S. 2017. Neurobiological and systemic effects of chronic stress. *Chronic Stress*, 1: 2470.

McEwen, B.S.; Bowles, N.P.; Gray, J.D.; Hill, M.N.; Hunter, R.G.; Karatsoreos, I.N.; Nasca, C. 2015. Mechanisms of stress in the brain. *Nature Neuroscience*, 18(10):1353-1363.

McEwen, B.S.; Wingfield, J.C. 2010. What's in a name? Integrating homeostasis, allostasis and stress. *Hormones and Behavior*, 57(2): 105.

McGaugh, J.L. 1989. Involvement of hormonal and neuromodulatory systems in the regulation of memory storage. *Annual Review of Neuroscience*, 12(1): 255-287.

McKlveen, J.M.; Myers, B.; Flak, J.N.; Bundzikova, J.; Solomon, M.B.; Seroogy, K.B.; Herman, J.P. 2013. Role of prefrontal cortex glucocorticoid receptors in stress and emotion. *Biological psychiatry*, 74(9): 672-679.

McGonigle, P. 2014. Animal models of CNS disorders. *Biochem Pharmacol*, 87: 140-149.

Meijer, M.K.; Sommer, R.; Spruijt, B.M.; Van Zutphen, L.F.M.; Baumans, V. 2007. Influence of environmental enrichment and handling on the acute stress response in individually housed mice. *Laboratory Animals*, 41(2): 161-173.

Merlo, E. O cloreto de tributilestanho desregula o eixo hipotalâmico-hipofisário-adrenal em diferentes níveis em ratas. Dissertação (Mestrado em Ciências Fisiológicas) – Universidade Federal do Espírito Santo. Espírito Santo. p78. 2017.

Mikics, É.; Barsy, B.; Barsvári, B.; Haller, J. 2005. Behavioral specificity of non-genomic glucocorticoid effects in rats: effects on risk assessment in the elevated plus-maze and the open-field. *Hormones and Behavior*, 48(2):152-162.

Mitra, R.; Jadhav, S.; McEwen, B.S.; Vyas, A.; Chattarji, S. 2005. Stress duration modulates the spatiotemporal patterns of spine formation in the basolateral amygdala. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 102:9371–9376.

Mitra, R.; Sapolsky, R.M., 2008. Acute corticosterone treatment is sufficient to induce anxiety and amygdaloid dendritic hypertrophy. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105(14): 5573-5578.

Mitra, R.; Ferguson, D.; Sapolsky, R.M. 2009. Mineralocorticoid receptor overexpression in basolateral amygdala reduces corticosterone secretion and anxiety. *Biol Psychiatry*, 66:686-90.

Mizoguchi, K.; Yuzurihara, M.; Ishige, A.; Sasaki, H.; Chui, D.H.; Tabira, T. 2000. Chronic stress induces impairment of spatial working memory because of prefrontal dopaminergic dysfunction. *Journal of Neuroscience*, 20(4): 1568-1574.

Moncek, F.; Duncko, R.; Johansson, B.B.; Jezova D. 2004. Effect of environmental enrichment on stress related systems in rats. *Journal of Neuroendocrinol*, 16:423-31.

Monteiro, S.; Roque, S.; de Sá-Calçada, D.; Sousa, N.; Correia-Neves, M; Cerqueira, J.J. 2015. An efficient chronic unpredictable stress protocol to induce stress-related responses in C57BL/6 mice. *Frontiers in Psychiatry*, 6:6.

Montiel, J.M.; Bartholomeu, D.; Machado, A.A.; Pessotto, F. 2014. Anxiety symptoms characterization in patients with panic disorder. *Boletim-Academia Paulista de Psicologia*, 34(86): 171-185.

Moser, M.B.; Moser, E.I. 1998. Functional differentiation in the hippocampus. *Hippocampus*, 8(6): 608-619.

Muscat, R.; Willner, P. 1992. Suppression of Sucrose Drinking by Chronic Mild Unpredictable Stress: A Methodological Analysis. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 16:507-517

Nader, J.; Claudia, C.; Rawas, R.E.; Favot, L.; Jaber, M.; Thiriet, N.; Solinas, M. 2012. Loss of environmental enrichment increases vulnerability to cocaine addiction. *Neuropsychopharmacology*, 37: 1579-1587.

Natelson, B.H.; Creighton, D.; McCarty, R.; Tapp, W.N.; Pitman, D.; Ottenweller, J.E. 1987. Adrenal hormonal indices of stress in laboratory rats. *Physiology & Behavior*, 39(1): 117-125.

Neylan, T.C.; Lenoci, M.; Maglione, M.L.; Rosenlicht, N.Z.; Metzler, T.J.; Otte, C.; Schoenfeld, F.B.; Yehuda, R.; Marmar, C.R. 2003. Delta sleep response to metyrapone in post-traumatic stress disorder. *Neuropsychopharmacology*, 28(9): 1666-1676.

Nicolaides, N.C.; Kyratzi, E.; Lamprokostopoulou, A.; Chrousos, G.P.; Charmandari, E. 2015. Stress, the Stress System and the Role of Glucocorticoids. *Neuroimmunomodulation*, 22:6–19.

Nithianantharajah, J.; Hannan, A.J. 2006. Enriched environments, experience-dependent plasticity and disorders of the nervous system. *Nature Reviews Neuroscience*, 7:697-709.

Novaes, L.S.; Dos Santos, N.B.; Batalhote, R.F.; Malta, M.B.; Camarini, R.; Scavone, C.; Munhoz, C.D. 2017. Environmental enrichment protects against stress-induced anxiety: Role of glucocorticoid receptor, ERK, and CREB signaling in the basolateral amygdala. *Neuropharmacology*, 113:457-466.

Organização Mundial de Saúde. Depressão e Outros Transtornos Mentais Comuns: Estimativas de Saúde Global. OMS; 2017 [acesso em 04 jun 2020]. Disponível em: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/254610/WHO-MSD-MER-2017.2-eng.pdf?sequence=1>.

Ortolani, D.; Garcia, M.C.; Melo-Thomas, L.; Spadari-Bratfisch, R.C. 2014. Stress-induced endocrine response and anxiety: the effects of comfort food in rats. *Stress*, 17(3): 211-218.

Otteweller, J.E.; Servatius, R.J.; Tapp, W.N.; Drastal, S.D.; Bergen, M.T.; Natelson, B.H. 1992. A chronic stress state in rats: effects of repeated stress on baVEI corticosterone and behavior. *Physiology & Behavior*, 51(4): 689-698.

Pacák, K.; Palkovits, M. 2001. Stressor Specificity of Central Neuroendocrine Responses: Implications for Stress-Related Disorders. *Endocrine Reviews*, 22(4): 502–548.

Palkovits, M. 1999. Interconnections between the neuroendocrine hypothalamus and the central autonomic system: Geoffrey Harris Memorial Lecture, Kitakyushu, Japan, October 1998. *Frontiers in Neuroendocrinology*, 20(4): 270-295.

Papp, M.; Moryl, C. 1996. Antidepressant-like effects of 1-aminocyclopropanecarboxylic acid and D-cycloserine in an animal model of depression. *European Journal of Pharmacology*, 316: 145-151.

Papp, M.; Moryl, E.; Willner, P. 1996. Pharmacological validation of the chronic mild stress model of depression. *European Journal of Pharmacology*, 296(2): 129-136.

Pariante, C.M.; Miller, A.H. 2001. Glucocorticoid receptors in major depression: relevance do pathophysiology and treatment. *Biol Psychiatry*, 49(5): 391-404.

Paxinos, G.; Franklin, K.B. 2012. Paxinos and Franklin's the mouse brain in stereotaxic coordinates, 4th edition. Elsevier/Academic Press, Amsterdam.

Peen, J.; Dekker, J.; Schoevers, R.A.; Ten Have, M.; de Graaf, R.; Beekman, A.T. 2007. Is the prevalence of psychiatric disorders associated with urbanization?. *Social Psychiatry and Psychiatric Epidemiology*, 42(12): 984-989.

Pellow, S.; File, S. E. 1986. Anxiolytic and anxiogenic drug effects on exploratory activity in na elevated plus-maze: a novel test of anxiety in the rat. *Pharmacol Biochem Behav*, 24: 525-529.

Peña, Y.; Prunell, M.; Rotllant, D.; Armario, A.; Escorihuela, R.M. 2009. Enduring effects of environmental enrichment from weaning to adulthood on pituitary-adrenal function, pre-pulse inhibition and learning in male and female rats. *Psychoneuroendocrinology*, 34(9):1390-1404.

Percaccio, C.R.; Pruette, A.L.; Mistry, S.T.; Chen, Y.H.; Kilgard, M.P. 2007. *Brainresearch*, 1174:76–91.

Pereira, S.M.; Lourenço, L.M. 2012. O estudo bibliométrico do transtorno de ansiedade social em universitários. *Arquivos Brasileiros de Psicologia*, 64(1) :47-62.

Pérez-Edgar, K.; Bar-Haim, Y.; McDermott, J.M.; Gorodetsky, E.; Hodgkinson, C.A.; Goldman, D.; Ernst, M.; Pine, D.S.; Fox, N.A. 2010. Variations in the serotonin-

transporter gene are associated with attention bias patterns to positive and negative emotion faces. *Biological Psychology*, 83(3): 269-271.

Perusine, J.N.; Meyer, E.M.; Long, V.A.; Rau, V.; Nocera, N.; Avershal, J.; Maksymetz, J.; Spigelman, I.; Fanselow, M.S. 2016. Induction and Expression of Fear Sensitization Caused by Acute Traumatic Stress. *Neuropsychopharmacology*, 41(1):45-57.

Radley, J.J.; Rocher, A.B.; Miller, M.; Janssen, W.G.; Liston, C.; Hof, P.R.; McEwen, B.S.; Morrison, J.H. 2006. Repeated stress induces dendritic spine loss in the rat medial prefrontal cortex. *Cerebral Cortex*, 16(3): 313-320.

Rae, M. B; Zanos, P.; Georgiou, P.; Chivers, P.; Bailey, A.; Camarini, R. 2018. Environmental enrichment enhances conditioned place preference to ethanol via an oxytocinergic-dependent mechanism in male mice. *Neuropharmacology*, 138:267-274.

Ramos, R. T.; Furtado, Y. A. D. L. 2009. Transtornos de ansiedade. *Revista Brasileira de Medicina, São Paulo*, 66:11.

Rasmusson, A.M.; Lipschitz, D.S.; Wang, S.; Hu, S.; Vojvoda, D.; Bremner, J.D.; Southwick, S.M.; Charney, D.S. 2001. Increased pituitary and adrenal reactivity in premenopausal women with posttraumatic stress disorder. *Biological Psychiatry*, 50(12): 965-977.

Regier, D.A.; Rae, D.S.; Narrow, W.E.; Kaelber, C.T; Schatzberg, A.F. 1998. Prevalence of anxiety disorders and their comorbidity with mood and addictive disorders. *The British Journal of Psychiatry*, 173(34): 24-28.

Reis, F.M.; Albrechet-Souza, L.; Franci, C.R.; Brandao, M.L. 2012. Risk assessment behaviors associated with corticosterone trigger the defense reaction to social isolation in rats: role of the anterior cingulate cortex. *Stress*, 15(3):318-328.

Reul, J.M.; Collins, A.; VEliba, R.S.; Mifsud, K.R.; Carter, S.D.; Gutierrez-Mecinas, M.; Qian, X.; Linthorst, A.C. 2015. Glucocorticoids, epigenetic control and stress resilience. *Neurobiology of Stress*, 1:44-59.

Reul, J.M.H.M.; De Kloet, E. 1985. Two receptor systems for corticosterone in rat brain: microdistribution and differential occupation. *Endocrinology*, 117(6):2505-2511.

Ricon, T.; Toth, E.; Leshem, M.; Braun, K.; Richter-Levin, G. 2012. Unpredictable chronic stress in juvenile or adult rats has opposite effects, respectively, promoting and impairing resilience. *Stress*, 15(1):11-20.

Rodgers, R.J.; Cao, B.J.; Dalvi, A.; Holmes, A. 1997. Animal models of anxiety: an ethological perspective. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 30: 289-304.

Rodgers, R. 2010. Animal tests for anxiety. In G. F. Koob, M. Le Moal & R. F. Thompson, (ed.). *Encyclopedia of Behavioral Neuroscience* (pp. 90-100). Oxford: Academic Press.

Rogóz, Z.; Legutko, B., 2005. Combined treatment with imipramine and metyrapone induces hippocampal and cortical brain-derived neurotrophic factor gene expression in rats. *Pharmacological Reports*, 57(6):840-4.

Rogóz, Z.; Skuza, G.; Leskiewicz, M.; Budziszewska, B. 2008. Effects of co-administration of fluoxetine or tianeptine with metyrapone on immobility time and plasma corticosterone concentration in rat subjected to the forced swim test. *Pharmacological Reports*, 60(6): 880-8.

Rotllant, D.; Armario, A. 2005. A single dose of metyrapone caused long-term dysregulation of the hypothalamic–pituitary–adrenal axis in the rat. *Neuroscience*, 130(2): 427-434.

Rotllant, D.; Ons, S.; Carrasco, J.; Armario, A. 2002. Evidence that metyrapone can act as a stressor: effect on pituitary-adrenal hormones, plasma glucose and brain c-fos induction. *European Journal of Neuroscience*, 16(4): 693-700.

Sadock, B. J.; Sadock, V. A.; Ruiz, P. *Compêndio de Psiquiatria: ciência do comportamento e psiquiatria clínica*. 11. ed. *Porto Alegre*: Artmed, 2017.

Sale, A.; Berardi, N.; Maffei L. 2009. Enrich the environment to empower the brain. *Trends in Neuroscience*, 32: 233–239.

Sale, A.; Berardi, N.; Maffei, L. 2014. Environment and brain plasticity: towards an endogenous pharmacotherapy. *Physiology Reviews*. 94(1): 189-234.

Salum, C.; Morato, S.; Roque-da-Silva, A.C. 2000. Anxiety-like behavior in rats: a computational model. *Neural Networks*, 13(1):21-29.

Sampedro-Piquero, P.; Begega, A.; Arias, J.L. 2014. Increase of glucocorticoid receptor expression after environmental enrichment: Relations to spatial memory, exploration and anxiety-related behaviors. *Physiology & Behavior*, 129:118-129.

Sapolsky, R.M.; Krey, L.C.; McEwen, B.S. 1984. Glucocorticoid-sensitive hippocampal neurons are involved in terminating the adrenocortical stress response. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 81(19): 6174-6177.

Sapolsky, R.M.; Krey, L.C.; McEwen, B.S. 1986. The adrenocortical axis in the aged rat: impaired sensitivity to both fast and delayed feedback inhibition. *Neurobiology of aging*, 7(5): 331-335.

Sapolsky, R.M.; Romero, L.M.; Munck, A.U. 2000. How do glucocorticoids influence stress responses? Integrating permissive, suppressive, stimulatory, and preparative actions. *Endocrine Reviews*, 21(1):55-89.

Sarnyai, Z.; Shaham, Y.; Heinrichs, S.C. 2001. The role of corticotropin-releasing factor in drug addiction. *Pharmacology Reviews*, 53 (2): 209-43.

Schimmer, B. P.; Parker, K. L. Hormônio Adrenocorticotrófico, esteróides adrenocorticais e seus análogos sintéticos, inibidores da síntese e das ações dos hormônios adrenocorticais. *As Bases Farmacológicas da Terapêutica*. 9ªed. Mc Graw Hill Interamericana, p. 1082-1102, 1996.

Schless, A.P.; Teichman, A.; Mendels, J.; DiGiacomo, J.N. 1977. The role of stress as a precipitating factor of psychiatric illness. *The British Journal of Psychiatry*, 130(1): 19-22.

Schloesser, R.J.; Lehmann, M.; Martinowich, K.; Manji, H.K.; Herkenham, M. 2010. Environmental enrichment requires adult neurogenesis to facilitate the recovery from psychosocial stress. *Molecular Psychiatry*; 15:1152–1163.

Schrijver, N.C.; Bahr, N.I.; Weiss, I.C.; Würbel H. 2002. Dissociable effects of isolation rearing and environmental enrichment on exploration, spatial learning and HPA activity in adult rats. *Pharmacology, Biochemistry & Behavior*, 73: 209-24.

Selye, H. 1976. Stress without Distress. In: Serban G. *Psychopathology of Human Adaptation*, 137-146.

Selye, H., 1936. The stress syndrome was subsequently called the general adaptation syndrome by Selye. This syndrome proceeds three stages;(i) the alarm reaction,(ii) the stage of resistance, and (iii) the stage of exhaustion. *Nature*, 138: 32.

Shankman, S.A.; Klein, D.N. 2003. The relation between depression and anxiety: An evaluation of the tripartite, approach-withdrawal and valence-arouVEI models. *Clinical Psychology Review*, 23(4): 605-637.

Sharma, R.; Andriukaitis, S.; Davis, J. M. 1995. Estados ansiosos. Em: J. A. Flaherty, J. M. Davis & P. G. Janicak (Orgs.). *Psiquiatria: diagnóstico e tratamento*. (2ª ed). (pp. 148–153). *Porto Alegre, RS. Artes Médicas*.

Schweizer, E., Rickels, K.; Uhlenhuth, E. H. 1995. In **Psychopharmacology: The Fourth Generation of Progress**; Bloom FE, Kupfer, DJ Eds.

Simpson, J.; Kelly, J.P. 2011. The impact of environmental enrichment in laboratory rats. Behavioural and neurochemical aspects. *Behavioural Brain Research*, 222: 246-64.

Smith, M.A.; Davidson, J.; Ritchie, J.C.; Kudler, H.; Lipper, S.; Chappell, P.; Nemeroff, C.B. 1989. The corticotropin-releasing hormone test in patients with posttraumatic stress disorder. *Biological Psychiatry*, 26(4): 349-355.

Soares, R.O.; Rorato, R.C.; Padovan, D.; Lachat, J.J.; Antunes-Rodrigues, J.; Elias, L.L.K; Almeida, S.S. 2015. Environmental enrichment reverses reduction in

glucocorticoid receptor expression in the hippocampus of and improves behavioral responses of anxiety in early malnourished rats. *Brain Research*, 1600:32-41.

Solinas, M; Thiriet, N.; Chauvet, C.; Jaber, M. 2010. Prevention and treatment of drug addiction by environmental enrichment. *Progress in Neurobiology*, 92(4): 572-92.

Sousa, N.; Cerqueira, J.J.; Almeida, O.F. 2008. Corticosteroid receptors and neuroplasticity. *Brain Research Reviews*, 57(2): 561-570.

Stairs, D.J.; Prendergast, M.A.; Bardo, M.T. 2011. Environmental-induced differences in corticosterone and glucocorticoid receptor blockade of amphetamine self-administration in rats. *Psychopharmacology*, 218(1): 293.

Starkman, M.N.; Gebarski, S.S.; Berent, S.; Schteingart, D.E. 1992. Hippocampal formation volume, memory dysfunction, and cortisol levels in patients with Cushing's syndrome. *Biological Psychiatry*, 32(9):756-765.

Stein, M.B.; Fuetsch, M.; Müller, N.; Höfler, M.; Lieb, R.; Wittchen, H.U. 2001. Social anxiety disorder and the risk of depression: a prospective community study of adolescents and young adults. *Archives of General Psychiatry*, 58(3): 251-256.

Sztainberg, Y.; Kuperman, Y.; Tsoory, M.; Lebow, M.; Chen, A. 2010. The anxiolytic effect of environmental enrichment is mediated via amygdalar CRF receptor type 1. *Molecular Psychiatry*, 15(9): 905-917.

Tannenbaum, B.; Tannenbaum, G.S.; Sudom, K.; Anisman, H. 2002. Neurochemical and behavioral alterations elicited by a chronic intermittent stressor regimen: implications for allostatic load. *Brain Research*, 953(1-2): 82-92.

Tanti, A.; Westphal, W.P.; Girault, V.; Brizard, B.; Devers, S.; Leguisquet, A.M.; Surget, A.; Belzung, C. 2013. Region-dependent and stage-specific effects of stress, environmental enrichment, and antidepressant treatment on hippocampal neurogenesis. *Hippocampus*, 23(9): 797-811.

Tilbrook, A.J.; Turner, A.I.; Clarke, I.J. 2000. Effects of stress on reproduction in non-rodent mammals: the role of glucocorticoids and sex differences. *Reviews of Reproduction*, 5(2): 105-113.

Trainer, P.J.; Faria, M.; Newell-Price, J.; Browne, P.; Kopelman, P.; Coy, D.H.; Besser, G.M; Grossman, A.B. 1995. A comparison of the effects of human and ovine corticotropin-releasing hormone on the pituitary-adrenal axis. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 80(2):412-417.

Treit, D. 1985. Animal models for the study of anti-anxiety agents: a review. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 9(2): 203-222.

Tripathi, S.J.; Chakraborty, S.; Srikumar, B.N.; Raju, B.S.; Shankaranarayana, R. 2017. Prevention of chronic immobilization stress-induced enhanced expression of

glucocorticoid receptors in the prefrontal cortex by inactivation of basolateral amygdala. *Journal of Chemical Neuroanatomy*, 12:06.

Ulrich-Lai, Y.M.; Herman, J.P. 2009. Neural regulation of endocrine and autonomic stress responses. *Nature Reviews Neuroscience*, 10(6):397-409.

Van de Kar, L.D.; Blair, M, L. 1999. Forebrain Pathways Mediating Stress-Induced Hormone Secretion. *Frontiers in Neuroendocrinology*, 20:1–48.

Van de Kar, L.D.; Piechowski, R.A.; Rittenhouse, P.A.; Gray, T.S. 1991. Amygdaloid lesions: differential effect on conditioned stress and immobilization-induced increases in corticosterone and renin secretion. *Neuroendocrinology*, 54(2): 89-95.

Vigo, D.; Thornicroft, G.; Atun, R. 2016. Estimating the true global burden of mental illness. *The Lancet Psychiatry*, 3(2): 171-178.

Vogel, J. R.; Beer, B.; Clody, D. E. 1971. A simple and reliable conflict procedure for testing anti-anxiety agents. *Psychopharmacologia*, 21(1):1-7.

Vyas, A.; Chattarji, S. 2004. Modulation of different states of anxiety-like behavior by chronic stress. *Behavioral Neuroscience*, 118(6): 1450.

Vyas, A.; Mitra, R.; Shankaranarayana, R.B.S.; Chattarji, S. 2002. Chronic stress induces contrasting patterns of dendritic remodeling in hippocampal and amygdaloid neurons. *Journal of Neuroscience*, 22: 6810-6818.

Vyas, A.; Pillai, A.G.; Chattarji, S.; 2004. Recovery after chronic stress fails to reverse amygdaloid neuronal hypertrophy and enhanced anxiety-like behavior. *Neuroscience*, 128(4): 667-673.

Walf, A. A.; Frye, C.A. 2007. The use of the elevated plus maze as an assay of anxiety-related behavior in rodents. *Nature Protocols*, 2(2):322-328.

Weiller, E.; Bisslerbe, J.C.; Maier, W.; Lecrubier, Y. 1998. Prevalence and recognition of anxiety syndromes in five European primary care settings: a report from the WHO study on Psychological Problems in General Health Care. *The British Journal of Psychiatry*, 173(34): 18-23.

Willner, P. 1984. The validity of animal models of depression. *Psychopharmacology*, 83 (1): 1-16.

Willner, P. 2005. Chronic Mild Stress (CMS) Revisited: Consistency and Behavioural-Neurobiological Concordance in the Effects of CMS. *Neuropsychobiology*, 52:90–110.

Willner, P. 2017. Reliability of the chronic mild stress model of depression: a user survey. *Neurobiology of Stress*, 6: 68-77.

Willner, P.; Towell, A.; Sampsons, D.; Sophokleous, S.; Muscat, R. 1987. Reduction of sucrose preference by chronic unpredictable mild stress and its restoration by a tricyclic antidepressant. *Psychopharmacology*, 93:358-364.

Yehuda, R.; Levengood, R.A.; Schmeidler, J.; Wilson, S.; Guo, L.S.; Gerber, D. 1996. Increased pituitary activation following metyrapone administration in post-traumatic stress disorder. *Psychoneuroendocrinology*, 21(1):1-16.

Zhang, L.; Zhang, J.; Sun, H.; Zhu, H.; Liu, H.; Yang, Y. 2013. An enriched environment elevates corticosteroid receptor levels in the hippocampus and restores cognitive function in a rat model of chronic cerebral hypoperfusion. *Pharmacology Biochemistry & Behavior*, 103:693-700.

Zhang, T.Y.; Labonté, B.; Wen, X.L.; Turecki, G.; Meaney, M.J. 2013. Epigenetic mechanisms for the early environmental regulation of hippocampal glucocorticoid receptor gene expression in rodents and humans. *Neuropsychopharmacology*, 38(1): 111-123.

Zimmermann, A.; Stauffacher, M.; Langhans, W.; Wurbel H. 2001. Enrichment-dependent differences in novelty exploration in rats can be explained by habituation. *Behavioral Brain Research*, 121:11-20.

Zurita, A.; Martijena, I.; Cuadra, G.; Brandao, M.L; Molina, V. 2000. Early exposure to chronic variable stress facilitates the occurrence of anhedonia and enhanced emotional reactions to novel stressors: reversal by naltrexone pretreatment. *Behavioral Brain Research*, 117(1-2):163-171.