

UNIVERSIDADE FEDERAL DO SUL E SUDESTE DO PARÁ
INSTITUTO DE ESTUDOS EM SAÚDE E BIOLÓGICAS
FACULDADE DE PSICOLOGIA

LAYANA AQUINO MOURA

**PARTICIPAÇÃO DO RECEPTOR 5-HT_{2C} EM AGRESSÃO INDUZIDA POR ESPELHO
EM ZEBRAFISH (*Danio rerio* HAMILTON 1822)**

MARABÁ
2022

LAYANA AQUINO MOURA

**PARTICIPAÇÃO DO RECEPTOR 5-HT_{2C} EM AGRESSÃO INDUZIDA POR ESPELHO
EM *ZEBRAFISH* (*Danio rerio*, HAMILTON 1822)**

Trabalho de Conclusão de Curso, apresentado à Faculdade de Psicologia do Instituto de Estudos em Saúde e Biológicas da Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará, como requisito para obtenção do grau de Bacharel em Psicologia.

Orientador: Dr. Caio Maximino de Oliveira.

MARABÁ
2022

AGRADECIMENTOS

Muitos encontros alegres contribuíram para a minha trajetória como demonstração de incentivo, auxílio e compreensão para que eu pudesse chegar nesta etapa da minha formação profissional, e sobretudo, nesta conquista pessoal. Muito emocionada, agradeço em especial:

A Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará (Unifesspa), principalmente pela estrutura, na qual foi possível realizar os experimentos.

Ao meu orientador pelo incentivo e apoio à pesquisa, sendo para mim, pura inspiração, um grande exemplo de profissional, e por muitas vezes um orientador para vida. Agradeço imensamente pela paciência e confiança.

Aos integrantes dos grupos de pesquisas LaNeC/LaNeF/GERPA, pelo apoio e aparatos para realização deste estudo. Em especial, às minhas colegas (Bruna Costa, Loanne Bruce e Fernanda Araújo) que foram excelentes parceiras de experimento.

A minha família (Manoel, Luzilene, Layane, Diego e Lucas) que tanto me orgulho por me fazer, a cada dia, uma pessoa mais potente, alegre e amada incondicionalmente.

Ao CNPq pelo financiamento do projeto de pesquisa.

Alegremente, agradeço à todos àqueles envolvidos de alguma forma nesta pesquisa, que essa etapa seja o início de uma brilhante carreira.

RESUMO

O controle do comportamento agressivo é realizado por um complexo sistema neuroquímico, sendo a serotonina (5-HT) o principal neurotransmissor envolvido nesta regulação. A atuação deste neurotransmissor depende da modulação de determinadas moléculas que podem ser entendidas através dos resultados das interações de receptores. Assim, esta monografia objetivou-se investigar a participação do receptor 5-HT_{2C} em agressão induzida por espelho em *zebrafish* (*Danio rerio*). Foram utilizados 30 *zebrafish* adultos, sem distinção de sexo, divididos aleatoriamente em três grupos, receberam as injeções MK-212 (10 animais), RS-102221 (10 animais) ou veículo (10 animais) com concentrações de 5 µL.L. Os animais foram submetidos ao teste de agressão induzida por espelho (mirror induced aggression test: MIA). Os resultados indicam que não houve diferença estatisticamente significativa para os parâmetros tempo na entrada ((F = 1.97 p = 0.172); para frequência display ((F = 1.44 p = 0.269); e tempo em display ((F = 1.47 p = 0.261). Demonstramos correlações que potencialmente evidenciam que a serotonina exibe papel extremamente complexo no comportamento social, e que o receptor 5HT_{2C} participa nos efeitos reguladores na ansiedade, em atitudes pró e anti-sociais, até mesmo à novidade social, mas não necessariamente em agressão induzida por espelho.

Palavras-chave: agressão; MIA; *zebrafish*; receptor 5-HT_{2C}.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura1– Procedimento de injeção.....	13
Figura2– Procedimento do teste comportamental.....	14
Figura3– Análise das mudanças dos parâmetros após a exposição farmacológica – A (Tempo de entrada).....	16
Figura4– Análise das mudanças dos parâmetros após a exposição farmacológica – B (Frequência em display);.....	16
Figura5– Análise das mudanças dos parâmetros após a exposição farmacológica – C (Tempo em display).....	17

LISTA DE SIGLAS

RNA	Ácido Ribonucleico
ANOVA	Análise de Variância
AVP	Arginina Vasopressina
CONCEA	Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal
5-HT 5	5-hidroxitriptamina e/ou serotonina
SNC	Sistema Nervoso Central
SNP	Sistema Nervoso Periférico
MIA	Teste de agressão induzida pelo espelho “Mirror Induced Aggression”
TPH	Triptofano Livre
AVT	Vasotocina

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	8
1.1 Agressão	8
1.2 Sistema Serotonérgico	8
1.3 O receptor 5HT2C	9
1.4 O uso do zebrafish como organismo-modelo nas neurociências.....	9
1.5 Agressão induzida por espelho.....	10
2 OBJETIVOS.....	12
2.1 Objetivo geral.....	12
2.2 Objetivos específicos.....	12
3 MATERIAIS E MÉTODOS.....	12
3.1 Animais e condições de manutenção.....	12
3.2 Aspectos éticos.....	13
4 PROCEDIMENTOS.....	13
4.1 Delineamento experimental e Tratamento Farmacológico.....	13
4.2 Teste comportamental.....	14
5 ANÁLISE DE DADOS.....	15
5.1 Análise estatística.....	16
6 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	16
7 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	22
REFERÊNCIAS.....	23

1 INTRODUÇÃO

1.1 Agressão

Agressão derivada do latim *aggredi*, significa exibir comportamento de ataque ou pode ser entendida como uma ameaça ou ação dirigida a outros. A agressividade pode ser considerada como um comportamento fundamental para várias funções adaptativas, como por exemplo, a defesa de território, o estabelecimento de hierarquias ou o ato de conquistar companheiros e alimentos (KOOLHAAS; BOHUS, 1992). Essa resposta comportamental pode ser quantificada através da tendência de animal para atacar, em especial, catalogar comportamento em *zebrafish* (EARLEY; HSU; WOLF, 2000; WAY *et al.* 2015).

O controle do comportamento agressivo pode ser realizado por um complexo sistema neuroquímico, sendo a serotonina (5-hidroxitriptamina ou 5-HT) o principal neurotransmissor envolvido nesta regulação. A atuação deste neurotransmissor depende da modulação de determinadas moléculas, dentre elas destacam-se: o glutamato; a dopamina; a arginina vasopressina/vasotocina (avp/avt) os hormônios andrógenos (parecem estar relacionados ao aumento da agressividade); o óxido nítrico (parecem promover inibição na agressão) (CHIAVEGATTO; NELSON, 2003; NELSON; TRAINOR, 2007).

1.2 Sistema Serotonérgico

A relação entre (5-HT) e o comportamento de agressão é uma área que vem sendo explorada intensamente por muitos estudiosos. As concentrações de serotonina cerebrais estão relacionadas às alterações de comportamentos, evidenciando como modulador de temperatura corporal, humor, sono, vômito, apetite, assim como ira e agressão (SIEGEL; VICTOROFF, 2009). A serotonina (5-hidroxitriptamina) é indolamina, produto da hidroxilação e carboxilação do aminoácido triptofano, é sintetizado por células neuroendócrinas e por neurônios serotoninérgicos dependendo da disponibilidade de triptofano livre (Tph) no plasma que é o ácido percurso dessa substância, que produz Tph1 e Tph2 (ROSSI, 2004).

O efeito da serotonina pode ser entendido através dos resultados das interações de receptores, são esses divididos em 7 grupos principais (5HT₁ a 5HT₇), compostos por subgrupos. O grupo 5HT₂ integra receptores pós-sinápticos acoplado à proteína G, incluindo o 5HT_{2C} o qual está em maior parte em áreas límbicas, como o complexo amigdalóide e núcleos hipotalâmicos (BARNES; SHARP, 1999).

1.3 O receptor 5HT_{2C}

Recentemente pesquisas buscam direcionamento para esse receptor, pois o mesmo apresenta admiráveis características regulatórias desenvolvidas pela biologia, incluindo sua regulação pré-transcricional e edição de RNA pós-transcricional. No que se refere a edição RNA, destaca-se pelo fato de produzir múltiplos 5-HT_{2C} isoformas R. Além disso, estudos certificam que o receptor 5HT_{2C} sinaliza como homodímero e heterodímero, e seu promissor potencial terapêutico revela-se importante para doenças neuropsiquiátricas, incluindo transtornos do controle do impulso, transtornos do humor e transtorno obsessivo-compulsivo (DI GIOVANNI; DE DEURWAERDÈRE, 2016).

A serotonina participa do controle do comportamento agressivo desde invertebrados até mamíferos. Embora seu mecanismo de ação não tenha sido completamente elucidado, a função da serotonina parece ser conservada dentro do sub-filo vertebrados, exercendo um papel inibitório na agressão desde peixes (WINBERG *et al.*, 2001; PERREAULT *et al.*, 2003; SEMSAR *et al.*, 2004; LEPAGE *et al.*, 2005; LYNN *et al.*, 2007; CLOTEFELTER *et al.*, 2007) até humanos (BERMAN *et al.*, 1997; COCCARO *et al.*, 1997; DE ALMEIDA *et al.*, 2005).

Em relação a sua expressão pós-sináptica do 5-HT_{2C}, é descrito em vários tipos de células neuronais, incluindo aquelas que empregam acetilcolina, dopamina e ácido γ -aminobutírico (GABA), a pouco tempo também manifestou ser expresso no controle de transmissão da dopamina, exibindo participação em regiões chaves da fisiologia, bem como circuito límbico-corticostriatal, incluindo a N-Acetilcisteína (NAc) e o córtex pré-frontal medial (SANTANA, 2017). No entanto, os mecanismos e os receptores pelos quais a serotonina pode exercer inibição ou aumento no comportamento agressivo ainda não são completamente compreendidos (WINBERG, 2001). Pesquisas recentes indicam que os receptores 5-HT_{1A} e 5-HT_{1B}, controlam o tônus serotoninérgico, contribuindo em regiões cerebrais específicas, com a modulação dos efeitos pós-sinápticos inibitórios na agressão (NELSON; CHIAVEGATTO, 2001).

1.3 O uso de *zebrafish* como organismo modelo nas neurociências

O uso de modelo animal envolvendo espécies de peixes dentro das pesquisas neurocomportamentais tem ganhado grandes credibilidade dentro da literatura, sobretudo pesquisas que envolvem o *zebrafish* (*Danio rerio*), pois nesse caso é um organismo modelo para

peixes. Essa espécie apresenta enormes vantagens devido sua facilidade de manutenção em grande escala, alto rendimento em testes de triagem, baixo custo de manutenção em laboratório, além de ser um vertebrado que está intimamente relacionado para os humanos na questão genética e fisiológica. À vista disso, é importante ressaltar que a droga utilizada, o animal, o tempo de tratamento e o paradigma de indução da agressão são circunstâncias sensíveis a críticas, visto que podem sugerir determinados efeitos (GERLAI, 2006; GÓMEZ-MOLINA, 2015). O peixe-zebra apresenta comportamento em cardume em seu ambiente natural, bem como em laboratório, logo, sugere-se que esta resposta para cardume pode estar associada a preferência social, além de que o posicionamento é de certo ponto estratégico, para garantir maior proteção, defesa a predadores, aproximação aos coespecíficos, e alimentos (GRIFFITHS *et al.*, 2004; LEDESMA, 2008; MORRELL; PIMENTEL *et al.*, 2019; PYTERSON, 2021).

É importante ressaltar que embora o *zebrafish* seja classificado como espécie social, viver em cardume tem seus benefícios, mas também produz certos contraproducentes, uma vez que essa espécie manifesta extrema territorialização e comportamento agressivo. A agressividade em *zebrafish* é entendida como estereotipada, enquanto interações agonísticas, logo, o comportamento de agressão na espécie mencionada é de certo modo estruturado, segue padrões e se molda conforme as interações ao meio (GERLAI, 2000).

1.4 Agressão induzida por espelho

Assim, é possível compreender o comportamento agressivo como um efeito que pode ser estimulado por diferentes mecanismos, por exemplo, o uso de estímulos externos. O teste induzido por espelho é um método tradicional de baixo caráter invasivo para identificar e mensurar o comportamento agressivo (FONTANA, 2016). O comportamento induzido pelo espelho tem sido descrito como uma capacidade cognitiva de um animal de autodirigir sua imagem na frente do espelho. A maioria dos animais quando expostos a um espelho respondeu-se com um comportamento social interativo, como agressividade, comportamento exploratório e repetitivo.

Nesse teste, é possível supor que o peixe não reconhece sua própria imagem, uma vez que entende aquele reflexo como ameaçador e conseqüentemente o ataca (OLIVEIRA *et al.*, 2011). Nesse caso, o comportamento agressivo do *zebrafish* pode ser mensurado e avaliado conformes alguns parâmetros, como por exemplo, elevação da abertura da boca, a tentativa de

morder a imagem, o nado circular e a mudança na cor do corpo do animal, evidenciando o parâmetro de exposição ao espelho, no qual a aproximação ao espelho e a movimentação dentro do aquário é avaliado e mensurado (KALUEFF *et al.*, 2013).

Para os autores Healy e Proctor (2003), esses aspectos comportamentais que podem ser mensurados e classificados por duas etapas principais, sendo a primeira apetitiva, isto é, respostas não aleatórias, que aumentam a probabilidade do animal ter êxito na agressão; e a segunda etapa, por outro lado, denominada consumatória, refere-se ao comportamento final de ataque, que surge somente após uma sequência variabilidade comportamental padronizada. Para Evans (1985) e Bronstein (1988), essas duas etapas apetitivas e consumatórias são denominadas como display. Dito de outra forma, são padrões comportamentais específicos da espécie, de certo modo estereotipada e com topografia reconhecível.

Estudar o comportamento agressivo tem grande relevância para diversas áreas da ciência, principalmente para neurociência comportamental, a qual entende os princípios e paradoxos das interações e regulações neuroquímicas que integram esse comportamento. Pensando nisso, os peixes são modelos que apresentam padrões neurais, bioquímicos e comportamentais funcionalmente análogos aos mamíferos, incluindo humanos. Por esse ângulo, a escolha do *Danio rerio* não é aleatória, pelo contrário, se faz justificável por ser possível que suas respostas comportamentais sejam mensuradas e avaliadas de forma mais facilitadora do que outras espécies de peixes (GOUVEIA JR.; MAXIMINO; BRITO, 2006).

A tentativa de estabelecer qual relação do comportamento agressivo e receptor $5HT_{2c}$ é importante, uma vez que a agressão está intimamente ligada a uma complexa rede neural, envolvendo assim, circuitos que integram áreas córtex pré-frontal, amígdala e hipocampo. O suporte neuroquímico da agressão abrange neuropeptídeos, aminas, e sobretudo, controles das neurotransmissão serotoninérgica (NELSON; CHIAVEGATTO, 2001). Dessa forma, traçar qual é a mínima correlação envolvendo o receptor $5HT_{2c}$ com a agressão ainda é um tópico possível de exploração científica, pois o papel desse receptor na agressão ainda é inconclusivo.

O RS-102221 é o primeiro antagonista descrito para o receptor de serotonina $5-HT_{2c}$, por outro lado, o MK-212 é um agonista do receptor $5HT_{2c}$ (AUDIA, 1996). Logo, a utilização dessas duas drogas é um instrumento proveitoso para compreender melhor a relação com o comportamento agressivo e a regulação de 5-HT. Para tal fim, será usado como aparato o teste de agressão induzida por espelho, no qual possibilita a mensuração das atividades agressivas, além

de ser um método menos invasivo. Portanto, o objetivo deste estudo é avaliar se há alterações nos displays agressivos em modelo *zebrafish* por intermédio dos antagonistas e agonistas do receptor 5HT2C. Assume-se a hipótese que ao ativar o receptor 5HT2C através do agonista, os parâmetros tempo mais próximo do(s) espelho(s); a frequência (N) e a duração (s) da agressão aumentam.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

O objetivo do presente estudo foi investigar a participação do receptor 5-HT2C em agressão induzida por espelho em *zebrafish* (*Danio rerio*).

2.2 Objetivos específicos

- Avaliar o efeito do MK-212, um agonista do receptor 5-HT2C, no comportamento agressivo induzido por espelho;
- Avaliar o efeito do RS-102221, um antagonista seletivo do receptor 5-HT 2C, no comportamento agressivo induzido por espelho;
- Mensurar se houve diferenças comportamentais diante das exposições de substâncias antagonistas e agonistas do receptor 5HT2C.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Animais e condições de manutenção

O estudo foi realizado no Laboratório de Neurociência e Comportamento (LaNeC), na Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará (Unifesspa), campus III, Marabá (PA), no ano de 2022. Para realização do estudo, foram utilizados 30 zebrafish adultos do fenótipo longfin, sem distinção de sexo, com idade aproximadamente de 4 meses (padrão comprimento = $23,0 \pm 3,2$ mm). Os animais serão mantidos em aquários com capacidade de 40 litros, preenchidos com água sem a presença de cloro. O controle de temperatura será de (25 ± 2 °C), pH 7,0-8,0, dureza 75-200 mg/L CaCO₃, oxigênio dissolvido ~7,8 mg/L a 28 oC, e nitrito $\leq 0,01$ ppm, (LAWRENCE, 2007), controle de oxigenação e filtragem da água, alimentados duas vezes ao dia com ração

comercial. Os animais foram usados para apenas um experimento em um único teste comportamental, para reduzir a interferência da exposição do aparelho.

3.2 Aspectos éticos

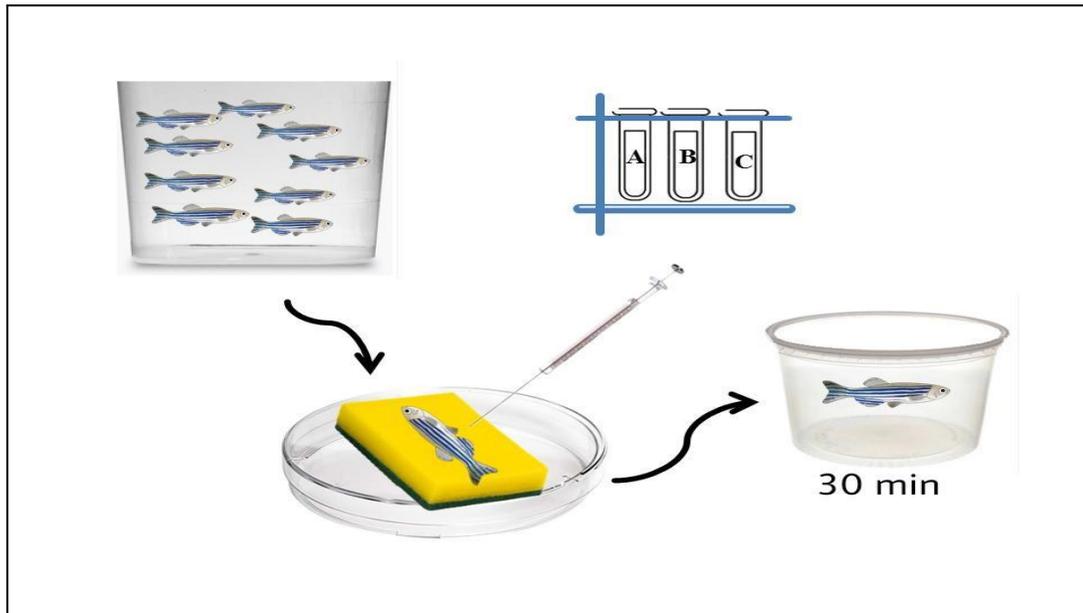
Os procedimentos realizados respeitaram os princípios éticos e a legislação atual, segundo o Conselho Nacional de Controle e Experimentação Animal (CONCEA) e tiveram o protocolo aprovado pelo CEUA da UEPA (Protocolo 06/18). Certificando o bem estar do animal, as condições de alojamento e manejo dos animais seguiram as instruções do Canadian Council on Animal Care (2005).

4 PROCEDIMENTOS

4.1 Delineamento experimental e Tratamento Farmacológico

Foram utilizadas as substâncias MK-212 (6-cloro-2- (1-piperazinil) pirazina), um agonista dos receptores 5-HT_{2C} e o antagonista seletivo do mesmo, RS- 102221 (uma benzenossulfonamida de 8- [5- (5-amino-2,4- dimetoxifenil) 5-oxopentil] - 1,3,8-triazaespiro [4.5] decano-2,4-diona) e uma solução salina (veículo), a fim de avaliar a participação do receptor 5HT_{2C} no comportamento de agressão (HALFORD; LAWTON; BLUNDELL, 1997; BONHAUS *et al.*, 1997). Os animais foram divididos aleatoriamente em três grupos, receberam as injeções MK-212 (10 animais), RS-102221 (10 animais) ou veículo (10 animais). As injeções seguiram o com o protocolo proposto por Kinkel *et al.* (2010), na qual primeiramente os peixes foram anestesiados a frio (~12°C ou menos), em seguida transportados para uma cama cirúrgica onde ocorreu as injeções usando uma micro seringa (seringa Hamilton® 701N, agulha tamanho 26 calibre em ponta cônica 200), com concentrações de 5 µL.L. Após a exposição às drogas ou solução de veículo, os sujeitos foram deixados em repouso por 30 minutos em recipiente a cego do experimentador. Por fim, após este intervalo, todos os animais foram expostos ao teste de agressividade induzida por espelho, do inglês "*mirror induced aggression test*" (MIA).

Figura 1 – Procedimento de injeção



A - Veículo (solução salina)

B - RS-102221

C - MK-212

Fonte: PYTERSON (2021)

4.2 Teste comportamental

Neste estudo foi utilizado o protocolo para agressão induzida por espelho (MIA) adaptado de Norton *et al.* (2011), o qual após a exposição às drogas, os peixes foram colocados individualmente em um aquário de teste (30 cm de comprimento x 23 cm de altura x 22 cm de largura), em que um espelho é posicionado na parede de fundo inclinado a um ângulo de 22,5° de modo que a borda vertical esquerda do espelho tocasse no lado do aquário e a extremidade direita ficasse mais afastada. O ambiente experimental contou com constante ruído branco gaussiano ($55 \pm 2,5$ dB acima do tanque) e a luz acima do aquário teste foi monitorada usando um luxímetro em lux, na tentativa de evitar oscilações de luz durante o experimento. Cada animal teve 5 minutos de registro dentro do aquário teste, os comportamentos foram gravados com uma câmera digital de vídeo (Samsung ES68) posicionada na parte lateral superior do aquário.

Figura 2 – Procedimento do teste comportamental



Fonte: Autora (2022)

5 ANÁLISE DE DADOS

Foram analisados os seguintes parâmetros: o tempo de entrada do display (tempo na zona), a frequência do display e o tempo em display, respectivamente o tempo mais próximo do(s) espelho(s); a frequência (N) e a duração (s) da agressão. O display agressivo foi definido como postura com nadadeiras dorsal, caudal, peitorais e anal, eretas (GERLAI *et al.*, 2000). Analisados a cego ao tratamento usando o software de registro de eventos, na qual foram transcritos por X-Plo-Rat (<https://github.com/lanec-unifesspa/x-plo-rat>).

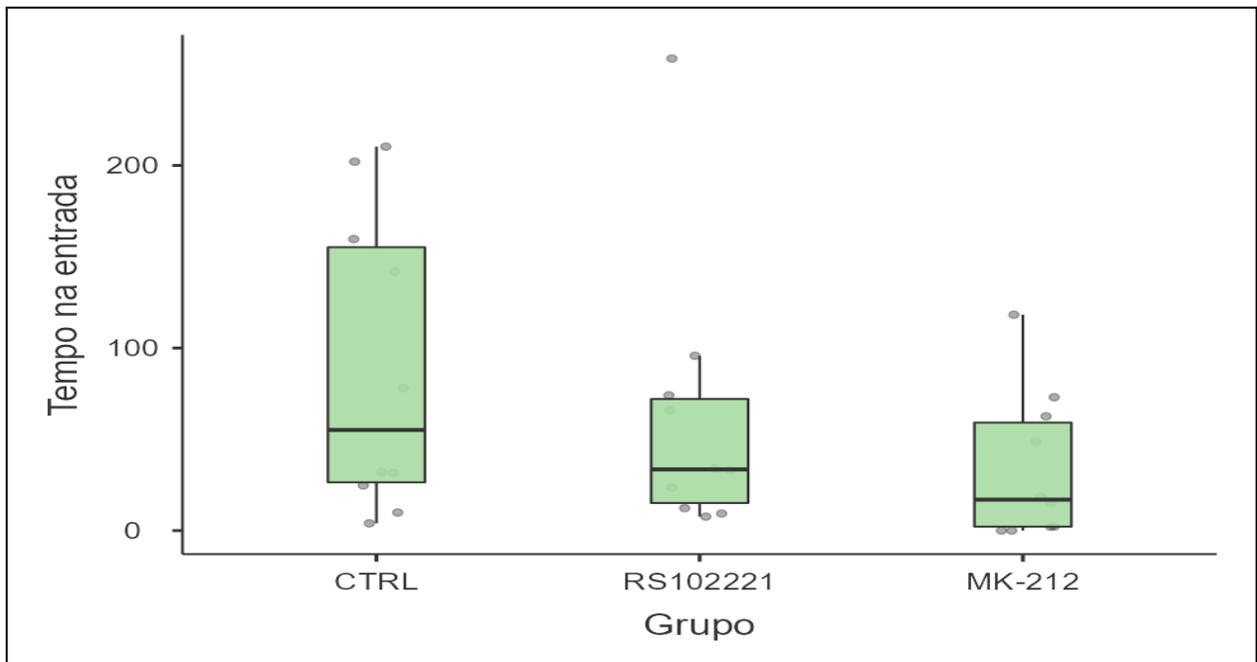
5.1 Análise estatística

Após as transcrições dos parâmetros, os dados obtidos foram analisados no programa JAMOVI 2.2.5, em que foram realizadas análises de variância (ANOVA).

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

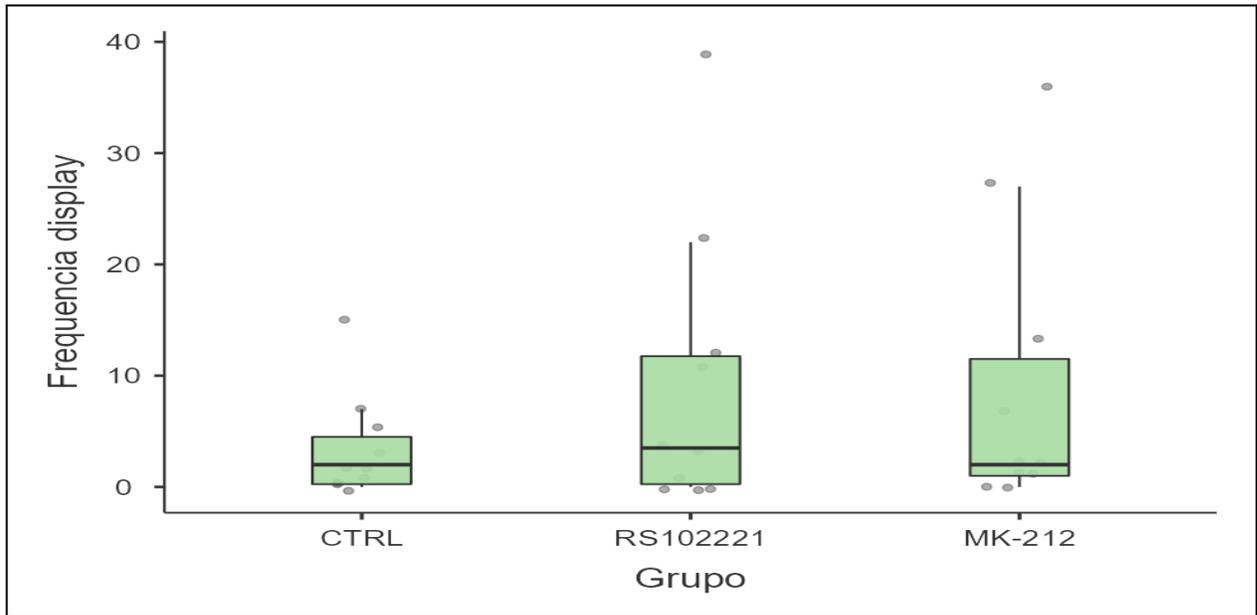
Os resultados do presente estudo indicam que não houve diferença estatisticamente significativa para os parâmetros tempo na entrada (($F = 1.97$ $p = 0.172$); Figura: 3A) para frequência display (($F = 1.44$ $p = 0.269$; Figura 3B) e tempo em display (($F = 1.47$ $p = 0.261$; Figura 3C).

Figura 3 – Análise das mudanças dos parâmetros após a exposição farmacológica – A (Tempo de entrada); CTRL, animais tratados com veículo; RS, animais tratados com antagonista RS 102221; MK, animais tratados com agonista MK-212



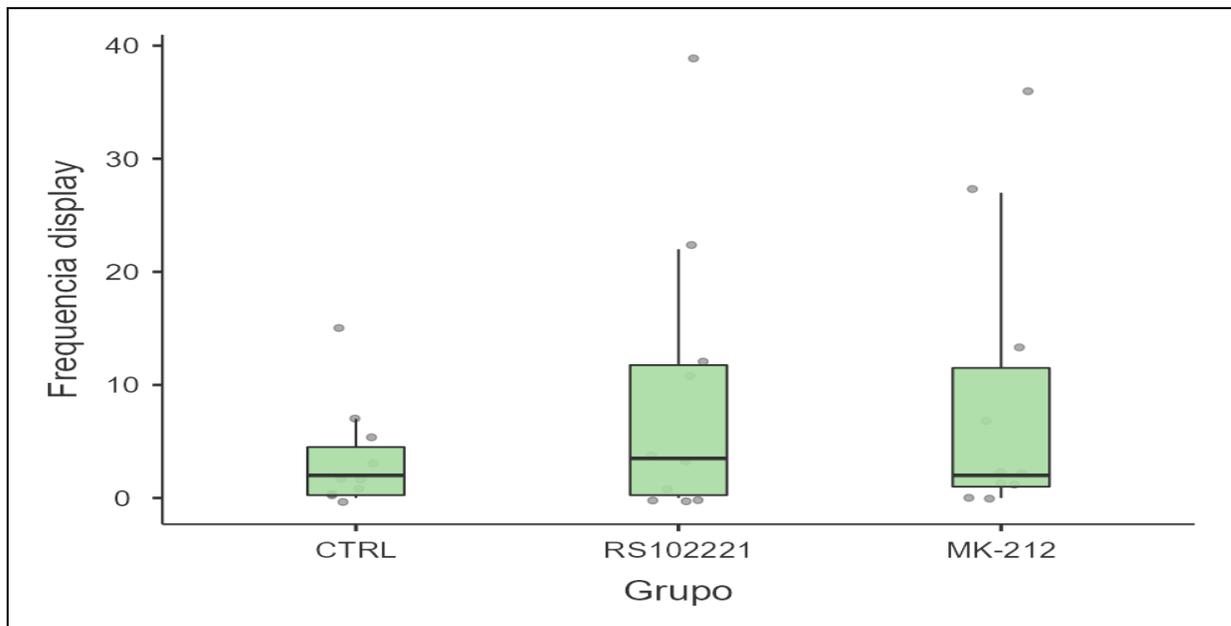
Fonte: Autora (2022)

Figura 4 - Análise das mudanças dos parâmetros após a exposição farmacológica - B (Frequência em display); CTRL, animais tratados com veículo; RS, animais tratados com antagonista RS 102221; MK, animais tratados com agonista MK-212



Fonte: Autora (2022)

Figura 5 - Análise das mudanças dos parâmetros após a exposição farmacológica - C (Tempo em display); CTRL, animais tratados com veículo; RS, animais tratados com antagonista RS 102221; MK, animais tratados com agonista MK-212



Fonte: Autora (2022)

Pesquisas recentes indicam de forma concordante que os receptores 5-HT1A e 5-HT1B, controlam o tônus serotoninérgico, contribuindo em regiões cerebrais específicas, com a modulação dos efeitos inibitórios na agressão (NELSON E CHIAVEGATTO, 2001). Embora exista concordância descrita em peixes teleósteos sobre o sistema serotoninérgico no comportamento agressivo mediado pelo receptor 5-HT1A (Clotfelter *et al.*, 2007), é essencial sinalizar que o universo que envolve as interações agressivas ainda é muito misterioso, não se resume necessariamente em uma relação de causa e efeito que pode ser descrita de forma simplista (SUMMERS *et al.*, 2003). Segundo Øverli *et al.* (2004b), esta interação é dependente de variáveis que envolvem tempo, região e contextos, logo, a complexibilidade atravessa o papel puramente inibitório atribuído a este neurotransmissor.

Quando se refere ao envolvimento de outros receptores, por exemplo 5HT2, ainda é preciso maior explanação. Apoiando por este lado, os resultados deste estudo sugerem que as drogas utilizadas (MK-212 e RS-102221), o primeiro agonista e o segundo antagonista descrito como receptor de serotonina 5-HT2c por Audia (1996) não alteraram parâmetros de comportamento agressivo induzido por teste de espelho (MIA) em peixe-zebra, pois analisando os indicadores em relação ao tempo de entrada do display, a frequência do display e o tempo em display não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos (A, B e C). O que pode sinalizar a hipótese de não ser possível modular a agressão através desse receptor em específico ou que dose aplicada não foi suficiente para alterar tais parâmetros.

Há resultados interessantes em estudos que analisam os efeitos comportamentais à exposição de fluoxetina em *zebrafish*. Resultados de Ferreira (2020), realizados também em modelo de agressividade induzida por espelho, apontam resultados semelhantes pelo ponto de vista que não obtiveram diferenças significativas na exposição aguda à fluoxetina no tempo na zona de aversão, zona de aproximação do espelho, tempo em ataques ao espelho e frequência de ataque. Sob outra perspectiva, neste mesmo trabalho sinalizou-se um aumento em ataque no espelho no 7º dia de exposição crônica à fluoxetina na concentração 5,4 µg/L, mas não para parâmetros de zona de aversão e frequência de ataque.

Os achados de Barbosa (2019), na qual peixe-zebra submetido ao teste MIA mostram aumento nos níveis de serotonina, além de sinalizar diferença no perfil agressivo entre as populações estudadas. Nesse estudo, os animais foram expostos a concentração de 2,5 mg/kg de fluoxetina foi verificado uma diminuição na duração e a frequência de exibição em barbatana

longa, mas não em leopardo. Porém, quando se usou a dose 5 mg/kg de fluoxetina, observou-se um aumento na frequência de exibição em leopardo, mas não longfin. Dessa forma, este estudo mostra, em especial, que o peixe-zebra do longfin exibe maior agressividade na motivação e prontidão que o leopardo quando exposto ao MIA, e que a fluoxetina aguda diminui a agressão em peixe-zebra longfin. Ao contrário dos resultados encontrados por Norton *et al.* (2011), nos quais sinalizaram um aumento da agressividade, atacando à imagem espelhada, quando o *zebrafish* é exposto a 3 µg/ml de fluoxetina em exposição aguda.

Por isso, é importante ressaltar que o comportamento agressivo pode ser sustentado por discrepância de inúmeras condições: espécie, drogas, dosagem e contexto, por exemplo, que podem envolver também fatores como o estresse, comportamento tipo, medo e ansiedade. Além disso, o uso de diferentes ferramentas experimentais provoca diferentes níveis de intensidade de agressão, gerando contradições nos resultados (aumento e/ou diminuição) do comportamento agressivo, assim como diferentes interações serotoninérgicas, por estes motivos, o fenômeno agressivo é tão complexo. As alterações nos padrões de agressividade podem provocar efeitos significativos em questões ecológicas própria da espécie, uma vez que estão ligados diretamente com processos evolutivo e organizacionais, na qual motivam formações de hierarquia, em que os animais mais agressivos tendem a ser mais ousados e exploradores (Norton *et al.*, 2011; Theodoridi *et al.*, 2017; Zabegalov *et al.*, 2019).

Quando se refere em estudos que envolvem display agressivo, a espécie *Betta splendens* é mais manuseada (GOUVEIA, JR.; MAXIMINO; ROMÃO; BRITO; VENTURA, 2007). Isso se deve a duas circunstâncias principais: primeiro, o display agressivo dessa espécie é extremamente sensível às drogas moduladoras do sistema serotoninérgico. Segundo, o display é reconhecido visualmente pela saturação da coloração natural (EVANS, 1985; BRONSTEIN, 1994). Por outro lado, estudos que envolvem display agressivo em espécie *Danio rerio* ainda são bastante problemáticos, apesar das concordâncias acerca de movimentos estereotipados.

O sistema regulatório da agressão dessa espécie além de envolver o sistema serotoninérgico é sensível a neuropeptídeos, como arginina vasotocina (AVT), a qual influencia questões ecológicas (LARSON, O'MALLEY & MELLONI, 2006). Outros tópicos que vem sendo discutidos implica qual é o melhor tempo de isolamento e se alguns fatores sociais antecedentes podem influenciar na eliciação do display agressivo em *zebrafish*. Em um estudo apontado por Mansur (2014) sinalizam o melhor tempo de isolamento para eliciar o display

agressivo do peixe (*Danio rerio*) é o de 6h, além de que fatores antecedentes como por exemplo, lutas com um novo oponente não é motivado por lutas anteriores, ao contrário, a luta com o mesmo oponente está intimamente influenciada por lutas anteriores (MANSUR, 2014). Diante dessas perspectivas, é possível implicar uma hipótese para a ausência de efeito em nossos resultados, uma vez que após a exposição às drogas animais foram deixados 30 minutos para fim de recuperação, ativação farmacológica e também para evitação visual com experimentador, mas não empregamos isolamento social. Por outro lado, considerando a imagem espelhada como um “novo oponente”, nossos resultados mostram uma mínima correlação com os achados de Mansur (2014) quando considera que o display agressivo em *zebrafish* não é influenciado necessariamente por lutas anteriores.

Em um estudo produzido por Pyterson (2021), avaliou-se o papel da ativação do receptor 5-HT_{2C} nas preferências do *zebrafish* à novidade social, levando em conta respostas comportamentais de ansiedade. Para tal, usou-se tratamento farmacológico semelhante ao do presente estudo, agonista (MK-212) e antagonista (RS-102222) do receptor 5HT-2C. Os resultados mostram que em relação à preferência social, não foram observados efeitos estatisticamente significativos nos desfechos de nado errático (ângulo de virada), bem como no congelamento, velocidade e disposição dos animais próximos e longe do peixe estímulo. Logo, sugeriu-se que as drogas não foram capazes de alterar a preferência natural do *zebrafish* por co-específicos. Neste mesmo estudo, observaram-se diferenças estatisticamente significantes para o tempo próximo ao estímulo novo, os animais tratados com MK-212 passando mais tempo próximo ao estímulo novo do que animais tratados com veículo. Dessa forma, sugestionou-se nesse estudo que o receptor 5-HT_{2C} desempenha um papel regulador em respostas comportamentais de ansiedade do *zebrafish* em relação à novidade social (PYTERSON, 2021).

O teste de agressão realizado neste estudo sugere que o peixe considera a princípio a “imagem” ser outro “novo” sujeito, por isso elicia displays, estes também de alguma forma poderiam envolver de certo modo os desfechos do trabalho citado acima, uma vez que o display em *zebrafish* pode ser mais complexo. Com isso, pode-se considerar duas mínimas correlações entre os estudos: a primeira seria que as drogas não alteram a preferência social, bem como não alteram a agressão induzida por espelho. A segunda, por sua vez, as alterações dos desfechos (nado errático (ângulo de virada), bem como no congelamento, velocidade e disposição dos animais próximos e longe do peixe estímulo) e display agressivo não seria alterado por esse

receptor em específico. Nesse caso, o receptor 5-HT_{2C} exerce um papel regulador nas respostas comportamentais de ansiedade do *zebrafish* em relação à novidade social, mas não na agressão mesmo sugerindo que o animal “imagina” que é um “novo” diante ao espelho. Então, pode-se levantar a hipótese que esse receptor promove, em tese, conflito motivacional positivo, se considerarmos os displays agressivos como motivação negativa.

O conjunto de comportamentos em *zebrafish* são importantes estratégias de adaptação e sobrevivência, quando por algum motivo, ainda não tão claro, o animal afasta-se do cardume para avaliar um potencial perigo de predador. Nesse evento, são coletadas informações que podem ser decisivas para permanência e sobrevivência do grupo, nomeia-se esse fenômeno de comportamento de inspeção de predadores (DUGATKIN *et al.*, 2005; PANNIA *et al.*, 2014). Para maior elucidação, em um estudo realizado por Pimentel *et al.* (2019) revela-se um aumento significativo desse comportamento quando um espelho é adicionado em posição paralela com o aquário, formando assim, uma imagem espelhada que instantaneamente imita e acompanha todos os movimentos e comportamentos do *zebrafish*. Colocado por outro ângulo, como por exemplo em 45° ao lado oposto do aquário, observa-se o fenômeno inverso: o comportamento tende a diminuir, uma vez que a medida que animal aproxima-se do predador, a imagem no espelho se afasta, aparentando uma condição de não cooperação na inspeção (PIMENTEL, 2020).

Ainda na explanação do comportamento de aproximação condicional, dessa vez apresentando análise a partir do tratamento farmacológico usando MK-212 (2mg/kg), foi possível avaliar que a droga em questão é eficiente no bloqueio à inspeção de predadores, não necessariamente alterou o comportamento tipo-medo. Desse modo, presume-se que o receptor 5HT_{2C} participa de um efeito “anti-social”. Criando uma correlação com o presente estudo, pode se aferir que o comportamento agressivo, sobretudo o display agressivo, também caracteriza como atitude que busca informações acerca de um potencial de risco, mas diferentemente do estudo citado acima, nossos resultados não mostram diferenças. Infere-se assim que em tese, o comportamento agressivo, bem como o tipo-medo, não podem ser regulados pelo receptor 5HT_{2C}.

Em um trabalho feito por Mezzomo *et al.* (2018), foi possível observar os efeitos na agressão e locomoção usando o teste de agressão induzida por espelho. Nesse estudo, a inibição da triptofano hidroxilase bloqueou o efeitos da taurina na agressão no teste (MIA), assegurando que a serotonina desempenha um papel na agressão mediada pela taurina em peixe-zebra,

todavia, foi identificado que a taurina não motiva a agressão após tratamento com antagonista WAY 100135, inferindo assim, que o comportamento agressivo induzido por taurina é revogada via receptores 5HT1A em *zebrafish*.

Dessa forma, reforça-se que o comportamento agressivo pode ser regulado pelo receptor 5HT1A ao invés do 5HT2C. Em suma, estes resultados discutidos evidenciam que a serotonina exibe papel extremamente complexo no comportamento social, e que o receptor 5HT2C participa nos efeitos reguladores na ansiedade em relação à novidade social, em atitudes pró e anti-sociais, mas não necessariamente no comportamento agressivo induzido por espelho. Contudo, é importante apontar as limitações do presente estudo, dado que o display agressivo em *zebrafish* é um campo complexo que envolve padrões de correlações específicas que sugerem finalidade diferentes. Além disso, nossas ferramentas para análise comportamental não são de certo modo com alto detalhamento, mas isso não quer dizer que tais resultados não sejam importantes para formação e construção de futuras hipóteses e descobertas na área. Esta pode ser base para elucidar a participação de receptores específicos de serotonina na participação do comportamento agressivo em peixes teleósteos.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Nossos estudos sugerem que o comportamento agressivo induzido por espelho em *zebrafish* não pode em tese ser modulado mediante a participação do receptor 5HT2C. Esses achados podem sinalizar suporte para construção de novas pesquisas na área, envolvendo receptores específicos em comportamento social.

REFERÊNCIAS

- BARBOSA, H. P. **Papel do sistema serotoninérgico no comportamento agressivo em duas linhagens de zebrafishes adultos (Danio rerio hamilton 1822)**. 2016. 21 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biomedicina) – Faculdade de Biomedicina, Universidade do Estado do Pará, Marabá, 2016.
- BARNES, N. M.; SHARP, T. **A review of central 5-HT receptors and their function**. *Neuropharmacology*, v. 38, p. 1083-1152, 1999.
- BERMAN, M. **The serotonin hypothesis of aggression revised**. *Clinical Psychology Review*, n. 6, p. 651-655, 1997.
- BRONSTEIN, P. M. On the predictability, sensibilization, and habituation of aggression in males bettas (*Betta splendens*), *Journal of comparative Psychology*, 108, p. 45-57, 1994.
- CACHAT, J. *et al.* Unique and potent effects of acute ibogaine on zebrafish: the developing utility of novel aquatic models for hallucinogenic drug research. *Behavioural brain research*, 236, p. 258-269, 2013.
- CANADIAN COUNCIL ON ANIMAL CARE. Canadian Council on Animal Care guidelines on: the care and use of fish in research, teaching and testing. Canadian Council on Animal Care, [S. l.], p. 1-94, 2005. Disponível em: <http://www.ccac.ca/Documents/Standards/Guidelines/Fish.pdf>.
- CARLINI, E. A.; LINDSEY, C. J. Effect of serotonergic drugs on the aggressiveness induced by delta 9-tetrahydrocannabinol in rem-sleep-deprived rats. Brazilian journal of medical and biological research. *Revista brasileira de pesquisas médicas e biológicas*, 15(4-5), p. 281-283, 1982.
- CHAGRAOUI, A.; THIBAUT, F.; SKIBA, M.; THUILLEZ, C.; BOURIN, M. Receptores 5-HT_{2C} em transtornos psiquiátricos: uma revisão. *Prog. Neuro-Psychopharmacol. Biol. Psychiatry*, 66, 2016, p. 120-135, 10.1016 /2015.12.006.
- CHIAVEGATTO, S.; NELSON, R. J. Interaction of nitric oxide and serotonin in aggressive behavior. *Hormones and Behavior*, v. 44, p. 233-241, 2007.
- CLOTFELTER, E. D.; O'HARE, E. P.; MCNITT, M. M.; CARPENTER, R. E.; SUMMERS, C. H. Serotonin decreases aggression via 5-HT_{1A} receptors in the fighting fish *Betta splendens*. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, v. 87, p. 222-231, 2007.
- COCCARO, E. F.; KAVOUSSI, J.; HAUGER, R. L. Serotonin function and antiaggressive response to fluoxetine: a pilot study. *Biologic Psychiatry*, v. 42, p. 546-552, 1997.
- DE ALMEIDA, R. M. M.; FERRARI, P. F.; PARMIFIANI, S.; MICZEK, K. A. Escalated aggressive behavior: dopamine, serotonin and GABA. *European Journal of Phamacology*, v. 526, p. 51-64, 2005.

DI GIOVANNI, G.; DE DEURWAERDÈRE, P. Novas oportunidades terapêuticas para ligantes do receptor 5-HT_{2C} em transtornos neuropsiquiátricos. **Pharmacol. Ther.**, 157, p. 125–162, 10.1016 / 2016.

DUARTE, T. **Análise do comportamento tipo agressivo em resposta à substância de alarme em diferentes linhagens de peixe-zebra.** 2016. 11 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Química) – Faculdade de Química, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2016.

DUGATKIN, L. A. **Animal cooperation among unrelated individuals.** *Naturwissenschaften*, [S. l.], v. 89, n. 12, p. 533-541, 2005. DOI: 10.1007/s00114-002-310379-y.

EARLEY, R. L.; HUS Y.; WOLF L. L. The use of standard aggression testing methods to predict combat behaviour and contest outcome in *Rivulus marmoratus* dyads (Teleostei: Cyprinodontidae). **Ethology**, v. 106, p. 743-761, 2015.

EVANS, C. S. Display vigor and subsequent fight performance in the Siamese fighting fish, *Betta splendens*. **Behavioral Processes**, 11, 113–121, 1985.

FERREIRA, J. de B. **Efeitos comportamentais de concentração ambiental de fluoxetina em zebrafish.** 2020. 20 f. Dissertação (Mestrado em Conservação de Recursos Naturais do Cerrado) – Curso de Programa de Pós-Graduação em Conservação de Recursos Naturais do Cerrado, Instituto Federal Goiano, Urutaí, 2020.

FONTANA, D. B. *et al.* Modulatory of taurine on ethanol-induced aggressive behavior in zebrafish. **Pharmacol Biochem Behav.**, v. 141, p. 18-27, 2016.

GERLAI, R. *et al.* Drinks like a fish: zebrafish (*Danio rerio*) as a behavior genetic model to study alcohol effects. **Pharmacol Biochem Behav.**, v. 67, p. 773-782, 2000.

GERLAI, R. *et al.* Effects of acute and chronic ethanol exposure on the behavior of adult zebrafish (*Danio rerio*). **Pharmac Biochem and Behav.**, 85: 752–761, 2006.

GOMEZ-MOLINA, C. *et al.* Effects of selective $\alpha 4\beta 2$ nicotinic acetylcholine receptor (nachr) ligands on the behaviour of adult zebrafish (*Danio rerio*) in the novel tank diving task. **Rev. Farmacol.**, v. 8, p. 35-40, 2015.

GOUVEIA JR., A.; MAXIMINO, C.; BRITO, T. M. **Comportamento de Peixe: vantagens e utilidades nas neurociências.** Bauru: [S.n.], p. 17-18, 2006.

GOUVEIA JR., A.; MAXIMINO, C.; ROMÃO, C. F.; BRITO, T. M.; VENTURA, D. F. Effects of trophic poisoning with methylmercury on the appetitive elements of the agonistic sequence in fighting-fish (*Betta splendens*). **The Spanish journal of psychology**, 10(2), 436-448, 2007.

GRIFFITHS, S. W. *et al.* Coping with divided attention: the advantage of familiarity. **Proc. Biol. Sci.**, v. 271(1540), p. 695-699, 2004.

HALFORD, J. C.; LAWTON, C.; BLUNDELL, J. **The 5-HT₂ Receptor Agonist MK-212 Reduces Food Intake and Increases Resting but Prevents the Behavioural Satiety Sequence.** *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, v. 56, n. 1, p. 41-46, jan. 1997.

HEALY, A. F.; PROCTOR, R. W. **Handbook of Psychology: Experimental Psychology**, v. 4, John Wiley & Sons, 2003.

INVERNIZZI, R. W. Selective activation of 5-HT_{2C} receptors stimulates GABA-ergic function in the rat substantia nigra pars reticulata: a combined in vivo electrophysiological and neurochemical study. *Neuroscience*, 2007, 144, p. 1523-1535.

KALUEFF A. V.; GEBHARDT, M.; STEWART, A. M.; CACHAT, J. M.; BRIMMER, M.; CHAWLA, J. S.; CRADDOCK, C.; KYZAR, E. J.; ROTH, A.; LANDSMAN, S.; GAIKWAD, S.; ROBINSON, K.; BAATRUP, E.; TIERNEY, K.; SHAMCHUK, A.; NORTON, W.; MILLER, N.; NICOLSON, T.; BRAUBACH, O.; GILMAN, C. P.; PITTMAN, J.; ROSEMBERG, D. B.; GERLAI, R.; ECHEVARRIA, D.; LAMB, E.; NEUHAUSS, S. C.; WENG, W.; BALLY-CUIF, L.; SCHNEIDER, H.; Zebrafish Neuroscience Research Consortium. Towards a comprehensive catalog of zebrafish behavior 1.0 and beyond. *Zebrafish*, 2013, mar., 10(1):70-86. DOI: 10.1089/zeb.2012.0861. PMID: 23590400. PMCID: PMC3629777.

KINKEL, M. D. *et al.* Intraperitoneal Injection into Adult Zebrafish. *Journal of Visualized Experiments*, n. 42, 30 ago. 2010.

KOOLHAS, M. J.; BOHUS, B. Animal models of Human Agression. *Animal Models in Psychiatry*, II., v. 19, p. 249-271, 1992.

LARSON, E. T.; O'MALLEY, D. M.; MELLONI, R. H. J. Aggression and vasotocin are associated with dominant-subordinate relationships in zebrafish. *Behav Brain Res*, 2006, Feb 15, 167(1):94-102. DOI: 10.1016/j.bbr.2005.08.020. E-pub, 2005, Oct 4. PMID: 16213035.

LEDESMA, J. M.; MCROBERT. Shoaling in juvenile guppies: the effects of body size and shoal size. *Behavioural Processes*, v. 77, p. 384-388, 2008.

LEPAGE, O.; LARSON, E. T.; MAYER, I.; WINBERG, S. Serotonin, but not melatonin, plays a role in shaping dominant-subordinate relationship and aggression in rainbow-trout. *Hormones and Behavior*, v. 48, p. 233-242, 2005.

LYNN, S. E.; EGAR, J. M.; WALKER, B. G.; SPERRY, T. S.; RAMENOFSKY, M. Fish on Prozac: a simple, noninvasive physiology laboratory investigating the mechanisms of aggressive behavior in *Betta splendens*. *Advances in Physiology Education*, v. 31, p. 358-363, 2007.

MANDRIOLI, R.; MERCOLINI, L.; RAGGI, M. A. Benzodiazepine Metabolism: an Analytical Perspective. *Current Drug Metabolism*, v. 9, p. 827-844, 2008.

MAXIMINO, C. *et al.* Pharmacological analysis of Zebrafish (*Danio rerio*) scototaxis. *Progress in Neuro-psychopharmacology and Biological Psychiatry*, v. 35, n. 2, p. 624-631, mar. 2011.

- MEZZOMO, N. J.; MÜLLER, T. E.; FRANSCESCON, F. *et al.* Taurinemediated aggression is abolished via 5-HT_{1A} antagonism and serotonin depletion in zebrafish. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**, 2018, DOI: <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2020.173067>.
- NELSON, R. J.; CHIAVEGATTO, S. Molecular basis of aggression. **Trends in Neuroscience**, v. 24, n. 12, p.713-719, 2001.
- NELSON, R. J.; TRAINOR, B. C. Neural mechanisms of aggression. **Nature Reviews – Neuroscience**, v. 8, 2007.
- NORTON, W. H. J. Comparative analysis of serotonin receptor (HTR1A/HTR1B Families) and transporter (slc6a4a/b) gene expression in the zebrafish brain. **J. Comp. Neurol.**, 511, p. 521-542, 2008.
- NORTON, W.; BALLY-CUIF, L. Adult zebrafish as a model organism for behavioural genetics. **BMC neuroscience**, 11, 90, 2011. DOI: 10.1186/1471-2202-11-90.
- NORTON, W. H. J. *et al.* Modulation of fgfr1a signaling in zebrafish reveals a genetic basis for the aggression-boldness syndrome. **Journal of Neuroscience**, v. 31, n. 39, p. 13796-13807, 2011.
- OLIVEIRA, F. R.; SILVA, F. J.; SIMÕES, M. J. Fighting Zebrafish: characterization of aggressive behavior and winner-loser effects. **Zebrafish**, v. 8, p. 73-81, 2011.
- OLIVIER, B.; VAN OORSCHOT, R. 5-HT_{1B} receptors and aggression: a review. **European Journal of Pharmacology**, v. 526, p. 207-217, 2005.
- ØVERLI, Ø.; KORZAN, W. J.; HOGLUND, E.; WINBERG, S.; BOLLIG, H.; WATT, M.; FORSTER, G. L.; BARTON, B. A.; ØVERLI, E.; RENNER, K. J.; SUMMERS, C. H. Stress coping style predicts aggression and social dominance in rainbow trout. **Horm Behav.**, 45, 235-241, 2004.
- PERREAULT, H. A. N.; SEMSAR, K.; GODWIN, J. Fluoxetine treatment decreases territorial aggression in a coral reef fish. **Physiology e Behavior**, v. 79, p. 719-724, 2003.
- PIMENTEL, A. F. N.; CARVALHO, T. dos S.; LIMA, F.; LIMA-MAXIMINO, M.; SOARES, M. C.; MAXIMINO, C. **Conditional approach as cooperation in predator inspection: a role for serotonin?** **Behavioural Brain Research**, [S. l.], v. 365, n. March, p. 164-169, 2019. DOI:10.1016/j.bbr.2019.03.005. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2019.03.005>.
- PIMENTEL, A. F. N. **Participação do receptor 5-ht_{2c} na aproximação condicional em zebrafish (Danio rerio hamilton 1822)**. 2021. 28 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Psicologia) – Faculdade de Psicologia, Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará, Marabá, 2021.
- POPOVA, N. K. From genes to aggressive behavior: the role of serotonergic system. **BioEssays**, v. 28, p. 495-503, 2006.

PYTERSON, M. P. **Avaliação do papel do receptor 5-ht_{2c} na preferência social e respostas à novidade social em paulistinhas (Danio rerio)**. 2021. 22 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Psicologia) – Faculdade de Psicologia, Universidade do Sul e Sudeste do Pará, Marabá, 2021.

ROSSI, L.; TIRAPEGUI, J. Implicações do Sistema Serotoninérgico no Exercício Físico. **Arq Bras Endocrinol Metab.**, 48(2):227-33. 2004.

SANTANA, N.; ARTIGAS, F. Expressão de receptores de serotonina_{2C} em neurônios piramidais e GABAérgicos do córtex pré-frontal de ratos: uma comparação com o corpo estriado. **Cereb. Córtex**, 27 (6), 3125–3139, 2017.

SANT'ANNA, M. C. B. **Zebrafish (Danio rerio) como modelo para estudo de toxicidade induzida por ferro**. Dissertação (Mestrado em Biologia Celular e Molecular). Faculdade de Biociências, Pontifícia Universidade Católica de Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2009.

SCHNEIDER, H. Measuring agonistic behavior in zebrafish. In: KALUEFF, A. V.; CACHAT, J. M. (eds.). **Zebrafish Neurobehavioral Protocols**, Humana Press/Springer, New York, 2011, p. 125-134.

SEMSAR, K.; PERREAULT, H. A. N.; GODWIN, J. Fluoxetine-treated male wrasses exhibit low AVT expression. **Brain Research**, v. 1029, p. 141-147, 2004.

SIEGEL, A.; VICTOROFF, J. **Understanding human aggression: new insights from neuroscience**. **Inter. J. Law and Psychiatry**, v. 32, p. 209-215, 2009.

SILVA, R. X.; DO NASCIMENTO, B. G.; GOMES, G. C. V., DA SILVA, N. A. H., PINHEIRO, J. S., DA SILVA CHAVES, S. N.; PIMENTEL, A.F. N.; COSTA, B.P. D.; HERCULANO, A. M.; LIMA-MAXIMINO, M.; MAXIMINO, C. 5-HT_{2C} agonists and antagonists block different components of behavioral responses to potential, distal, and proximal threat in zebrafish. **Pharmacol Biochem Behav**, nov. 2021, 210:173276. DOI: 10.1016/j.pbb.2021.173276. E-pub, 2021, Sep 20. PMID: 34555392.

SORENSEN, C.; ØVERLI, Ø.; SUMMERS, C. H.; NILSSON, G. E. Social regulation of neurogenesis in teleosts. **Brain Behavior Evolution**, v. 70, p. 239-246, 2007.

SUMMERS, C. H.; SUMMERS, T. R.; MOORE, M. C.; KORZAN, W. J.; WOODLEY, S. K.; RONAN, P. J.; HOGLUND, E.; WATT, M. J.; GREENBERG, N. Temporal patterns of limbic monoamine and plasma corticosterone response during social stress. **Neuroscience**, 116, p. 553-563, 2003.

THEODORIDI, A.; TSALAFOUTA, A.; PAVLIDIS, M. Acute Exposure to Fluoxetine Alters Aggressive Behavior of Zebrafish and Expression of Genes Involved in Serotonergic System Regulation. **Frontiers in Neuroscience**, v. 11, n. April, p. 1-9, 2017.

WINBERG, S.; ØVERLI, Ø.; LEPAGE, O. Supression of agression in rainbow trout (Oncorhynchus mykiss) by dietary L-tryptophan. **The Journal of Experimental Biology**, v. 204, p. 3867-3876, 2001.

ZABEGALOV, K. N. *et al.* Understanding zebrafish aggressive behavior. **Behavioural Processes**, v. 158, n. April 2018, p. 200-210, 2019.