



**ESTRESSE POR DERROTA SOCIAL INTERMITENTE EM RATOS
WISTAR MACHOS: REVISÃO E MODULAÇÃO FARMACOLÓGICA
EXPERIMENTAL DO SISTEMA CRF**

Mailton Vasconcelos

Tese apresentada como requisito parcial para a obtenção do título de Doutor em Psicologia, executada sob a supervisão da Profa. Dra. Rosa Maria Martins de Almeida

Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Instituto de Psicologia
Programa de Pós-Graduação em Psicologia
Março de 2018

AGRADECIMENTOS

Presto aqui meus sinceros agradecimentos a todas as pessoas que estiveram envolvidas, direta ou indiretamente, no processo que de desenvolvimento deste trabalho. Tornar-se doutor, ao meu ver, jamais será um processo de uma pessoa só.

Agradeço à minha orientadora Dra. Rosa M. M. de Almeida, que me conduziu desde o mestrado, depositou sua confiança em mim e que teve somente palavras de apoio durante os anos de trabalho conjunto. Agradeço também à Dra. Lisiane Bizarro, por sua orientação paralela e entusiasmo. Juntas, estas professoras coordenadoras do Laboratório de Psicologia Experimental, Neurociências e Comportamento, propiciaram um espaço de vivência importante para o meu desenvolvimento profissional e pessoal. Agradeço a todos que compuseram a equipe durante minha estadia, em especial agradeço aos colaboradores externos fundamentais para a realização desta tese: Dr. Aldo Lucion, Dr. Klaus Miczek, Dr. Flávio Kapczinski, Dra. Márcia Sant'Anna, Dra. Keila Ceresér e Dr. Lucas Albrechet-Souza.

Aos professores que compõem a banca avaliadora deste trabalho, Dr. Tarciso Miguel, Dr. Alberto Rasia-Filho e novamente à Dra. Lisiane Bizarro. Agradeço o interesse e esforço em contribuir com este trabalho.

Aos que integram o Instituto de Psicologia e o Programa de Pós-Graduação em Psicologia da UFRGS. Aos que integram o Instituto de Ciências Básicas da Saúde e o Programa de Pós-Graduação em Neurociências da UFRGS. Aos que integram o Laboratório de Psiquiatria Molecular do Hospital de Clínicas de Porto Alegre. Aos que integram a Unidade de Experimentação Animal, do Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

Aos meus queridos alunos de iniciação científica e estágio docente, aos amigos com quem tive o prazer de ser coautor em meus primeiros trabalhos científicos e aos colegas de laboratório.

Aos amigos que ganhei e às amigas que fortaleci. Cada um de vocês sabe em que ponto nossas vidas se cruzaram e como afetaram o desenvolvimento desta fase. Meus dias foram mais felizes por vocês estarem por perto, por ajudarem a superar momentos difíceis e por me manterem sorrindo.

Aos meus familiares, em especial minha mãe Julita e minha irmã Máisa. A conquista do doutorado não teria sido possível sem vocês. Aos meus avós, meus tias e tios, primas e primos, ao meu pai e aos amigos da família. Obrigado a todos pelo carinho

e pela fé, por se mostrarem presente quando necessitei e por se esforçarem para manter a nossa relação especial.

A todos que contribuíram, a soma dos esforços de vocês possibilitou a concretização deste trabalho.

À CAPES, pelo apoio financeiro.

*“Comovo-me em excesso, por natureza e por
ofício. Acho medonho alguém viver sem
paixões.”*

Graciliano Ramos

ÍNDICE

INTRODUÇÃO GERAL.....	11
ARTIGO DE REVISÃO.....	14
Abbreviations.....	15
Abstract.....	16
Corticotropin-releasing factor receptor signaling and pharmacological modulation: implications to stress response and resilience	17
CRF and social stress.....	17
The family of CRF receptors and their ligands	18
Mechanisms of receptor signaling	22
Regulatory mechanisms of receptor signaling.....	24
CRF signaling and individual reactivity to stress	25
Conclusion	29
ARTIGO EXPERIMENTAL 1.....	30
Abbreviations.....	31
Abstract.....	32
Recovery of stress-impaired social behavior by an antagonist of the CRF binding protein, CRF ₆₋₃₃ , in the bed nucleus of the stria terminalis of male rats.....	33
Methods	35
Animals.....	35
Drug	35
Procedures.....	35
Intermittent episodes of social defeat stress	36
Preference for sweet solution.....	36
Stereotaxic Surgery.....	37
Intra-BNST CRF ₆₋₃₃ infusions	37
Social Approach Test.....	37
Histology.....	38
Statistical analysis.....	38
Results.....	40

Effects of intermittent social defeat stress on sweet solution preference and total distance travelled	40
Effects of intra-BNST CRF ₆₋₃₃ on social approach	40
Discussion.....	42
Conclusions.....	46
Acknowledgements.....	47
Tables.....	48
Figures	49
Figure Legends	51
ARTIGO EXPERIMENTAL 2.....	52
Abbreviations.....	53
Abstract.....	54
Anxiolytic effects of CP376395, a CRF receptor 1 specific antagonist, in the bed nucleus of the stria terminalis of male rats exposed to social defeat.....	55
Methods	57
Animals.....	57
Drugs.....	57
Procedures.....	57
Intermittent episodes of social defeat stress	58
Preference for sweet solution.....	58
Stereotaxic surgery	59
Elevated-plus maze test	59
Intra-BNST microinjections	60
Social approach test	60
Histology.....	61
Statistical analysis.....	61
Results.....	63
Discussion.....	67
Conclusions.....	71
Tables.....	72
Figures	73

Figure legends.....	77
DISCUSSÃO GERAL.....	79
Conclusões finais	81
REFERÊNCIAS	83
ANEXO A	111
ANEXO B.....	112

LISTA DE TABELAS E FIGURAS

Table 1 - Data and summary of repeated measures ANOVA for preference for sweet solution ($M \pm SEM$) during baseline and two additional measurements	48
Table 2 - Data and summary of repeated measures ANOVA for preference for sweet solution ($M \pm SEM$) during baseline and two additional measurements in experiment 1	72
Table 3 - Data and summary of repeated measures ANOVA for preference for sweet solution ($M \pm SEM$) during baseline and two additional measurements in experiment 2	72
Figure 1 - Experimental procedure and schematic representation of the social approach apparatus	49
Figure 2 - Diagrammatic representations of bilateral BNST injection sites.....	49
Figure 3 - Effects of corticotropin releasing factor (CRF) fragment 6-33, a CRF binding protein antagonist, administered into the bed nucleus of the stria terminalis of rats exposed to intermittent social defeat stress or non-stressed controls	50
Figure 4 – Experimental procedure	73
Figure 5 - Diagrammatic representations of bilateral BNST injection sites.....	73
Figure 6 - Effects of intermittent social defeat exposure on anxiety-like behaviors assessed using elevated-plus maze in animals from non-stress and stress group from experiment 1	74
Figure 7 - Effects of intermittent social defeat exposure on anxiety-like behaviors assessed using elevated-plus maze in animals from non-stress and stress group from experiment 2	74
Figure 8 - Effects of CP376395, a CRF receptor 1 selective antagonist, administered into the bed nucleus of the stria terminalis of rats exposed to intermittent social defeat stress or non-stressed controls	75
Figure 9 - Effects of Astressin-2B, a CRF receptor 2 selective antagonist, administered into the bed nucleus of the stria terminalis of rats exposed to intermittent social defeat stress or non-stressed controls	76

RESUMO

O neuropeptídeo/hormônio CRF integra respostas de estresse a nível endócrino, imunológico e comportamental dos mamíferos. A atividade neuronal CRFérgica inapropriada pode estar por trás do aparecimento de sintomas associados a transtornos neuropsiquiátricos. Os experimentos apresentados nesta tese descrevem a modulação farmacológica de ligantes de CRF que compõem o sistema CRFérgico em ratos Wistar machos submetidos ao protocolo de estresse por derrota social. A experiência de episódios intermitentes à derrota social prejudicou o comportamento de interação social. Microinjeções de antagonista da proteína ligante de CRF e antagonista (CRF₆₋₃₃) e antagonista específico do receptor de CRF do tipo 1 (CP316311) no núcleo intersticial da estria terminal, separadamente, restauraram a aproximação social em animais estressados. Esses achados sugerem que o conteúdo de CRF no núcleo intersticial da estria terminal está envolvido na modulação de respostas relacionadas à ansiedade induzidas pelo estresse social.

Palavras-chave: hormônio liberador de corticotropina; derrota social; ansiedade; CRF₆₋₃₃; CP316311; núcleo intersticial da estria terminal;

ABSTRACT

The CRF neuropeptide/hormone integrates endocrine, immune and behavioral stress responses of mammals. Inappropriate CRFergic neuronal activity may underlie the appearance of symptoms associated with neuropsychiatric disorders. The experiments presented in this dissertation describe the pharmacological modulation of CRF ligands composing the CRFergic system in male Wistar rats submitted to the social defeat stress protocol. The experience of intermittent episodes of social defeat disrupted behaviors of social interaction. Microinjections of an antagonist of CRF binding protein (CRF₆₋₃₃) and specific antagonist of CRF receptor type 1 (CP316311) in the bed nucleus of stria terminalis, separately, restored the social approach behavior in stressed animals. These findings suggest that the CRF content in the bed nucleus of stria terminalis is involved in the modulation of anxiety-related responses induced by social stress.

Keywords: corticotropin-releasing hormone; social defeat; anxiety; CRF₆₋₃₃; CP316311; bed nucleus of stria terminalis;

INTRODUÇÃO GERAL

Esta seção tem por finalidade apresentar o tema central deste trabalho e apresentar os manuscritos que compõe esta tese. O intuito deste capítulo inicial é fornecer informações fundamentais à compreensão e melhor apreciação deste trabalho pela banca examinadora e por todos aqueles que desejarem ler este trabalho.

O estresse é um fenômeno fortemente associado à trajetória evolutiva dos animais. Várias das características presentes nas espécies atualmente vivas podem ser compreendidas como resultado da correta adaptação às demandas do ambiente. Apesar de seu significado evolutivo remoto, o conceito de estresse é bem moderno. O termo “Estresse” compreende uma série de respostas fisiológicas adaptativas impostas por eventos fisiológicos e psicológicos chamados “estressores” (Chrousos & Gold, 1992; de Kloet, Vreugdenhil, Oitzl, & Joëls, 1998; McEwen, 2008). O ajustamento evolutivo de uma espécie depende da correta resposta a estes eventos estressores por parte de seus indivíduos, essas respostas podem ser neurovegetativas, endócrinas, imunológicas, cardíacas, reprodutivas, comportamentais, entre outras. Ao longo do processo evolutivo, moléculas de sinalização que coordenam e orquestram todas essas respostas foram finamente desenvolvidas dentro da classe dos mamíferos. O nível de conservação dessas moléculas dentre as espécies denota suas importâncias tanto nas causas proximais quanto nas causas distais do comportamento animal (Denver, 1999).

O surgimento de um evento estressor resulta no direcionamento do comportamento em busca da apreciação da magnitude desse estressor. Se o evento supera a representação cognitiva que o indivíduo carrega de suas experiências anteriores ocorre uma excitação, aumento no estado de alerta e vigilância, aumento de processos atencionais e do processamento cognitivo (de Kloet, Joëls, & Holsboer, 2005). O processamento da informação sensorial de entrada e o processo de avaliação interno se dão com a ajuda de estruturas organizadas dentro do sistema límbico. O evento estressor também desencadeia repostas fisiológicas e comportamentais voltadas ao reestabelecimento da homeostase (Chrousos & Gold, 1992). Brevemente descrita, a resposta ao estresse se reflete numa rápida ativação do sistema simpático, com liberação de adrenalina pela medula adrenal, ativação do sistema endócrino com aumento nos níveis de glicocorticoides produzidos pelo córtex adrenal, ambas respostas obedecendo a períodos de tempo bem estabelecidos (McEwen, 2007). Alguns determinantes das

características desta resposta incluem a habilidade de prever eventos futuros e a capacidade de exercer controle sobre a situação (de Kloet et al., 2005).

Em face de uma situação percebida como estressante, vários circuitos neurais podem ser ativados, dentre as moléculas que atuam nesses circuitos dois neuropeptídeos são conhecidos como fundamentais na coordenação das respostas iniciais comportamentais e metabólicas ao estresse: o fator liberador de corticotropina (*corticotropin-releasing factor* - CRF) e o hormônio antidiurético ou vasopressina (de Kloet et al., 2005). Além da sua atuação como hormônio, CRF em particular, também atua como neurotransmissor no sistema nervoso. Um grande corpo de literatura sugere que o CRF integra as respostas aos estressores a nível endócrino, imunológico e comportamental dos mamíferos (Owens & Nemeroff, 1991). Os estudos apresentados nesta tese, baseiam-se na possibilidade de a atividade neuronal CRFérgica inapropriada ser manifestada na forma de transtornos mentais e afetivos, bem como outros transtornos associados ao estresse (Bale & Vale, 2004).

Nesta tese, avaliou-se o papel da modulação experimental farmacológica do sistema CRFérgico sobre as adaptações comportamentais induzidas pela exposição ao estresse social. Além disso, aprofundou-se o conhecimento sobre a sinalização do CRF e seus ligantes a nível celular, na tentativa de compreender como embasam a resposta ao estresse em modelos animais. Para isso, um estudo teórico e dois estudos empíricos foram elaborados.

O primeiro manuscrito intitulado “*Corticotropin-releasing factor receptor signaling and pharmacological modulation: implications to stress response and resilience*” foi desenvolvido com o intuito de revisar os conceitos básicos a respeito do sistema CRFérgico, seus componentes e suas principais funções. Nesta tese, ele introduz ao leitor mecanismos celulares de sinalização, comumente descritos em livros-texto de neurociências e psicologia, desencadeados pela ativação dos receptores de CRF e possíveis mecanismos associados à proteína ligante de CRF (*CRF binding protein* – CRFBP). Várias lacunas do conhecimento a respeito deste sistema foram apontadas, bem como algumas possíveis aplicações do conhecimento já obtido. O manuscrito foi preparado para ser enviado à revista *Trends in Psychiatry and Psychotherapy*.

O segundo manuscrito, sob o título “*Recovery of stress-impaired social behavior by an antagonist of the CRF binding protein, CRF₆₋₃₃, in the bed nucleus of the stria terminalis of male rats*”, foi desenvolvido com o intuito de avaliar os efeitos da derrota social intermitente no comportamento social de ratos Wistar machos, além de tentar

compreender como a modulação do CRF, através do antagonismo farmacológico da proteína ligante de CRF, no núcleo intersticial da estria terminal interfere nos efeitos da exposição ao estresse. Nesta tese, este artigo introduz o protocolo de derrota social ou *social defeat*, trata-se de um protocolo de estresse social para roedores gerado em situação de laboratório que apresenta como principal característica sua validade etológica (Vasconcelos, Stein, & Almeida, 2015). O protocolo se caracteriza por uma confrontação residente-intruso e apresenta vantagens no estudo das respostas fisiológicas ao estresse quando comparado a protocolos que expõem indivíduos a privação de recursos ou sofrimento fisiológico (Belzung & Lemoine, 2011). Os achados descritos neste manuscrito sugerem que o conteúdo de CRF do núcleo intersticial da estria terminal, modulado pela proteína ligante do CRF, está envolvido na modulação de respostas associadas à ansiedade induzidas pelo estresse social. Este artigo foi publicado na *Behavioural Brain Research*, tendo sido disponibilizado online em 9 de janeiro de 2018.

O terceiro manuscrito, intitulado “*Anxiolytic effects of CP376395, a CRF receptor 1 specific antagonist, in the bed nucleus of the stria terminalis of male rats exposed to social defeat*” descreve experimentos que complementam os achados do manuscrito descrito anteriormente. Como demonstrado no estudo anterior, após infusões locais do CRF₆₋₃₃ no núcleo intersticial da estria terminal, o comportamento de interação social em animais com um histórico de exposição ao estresse foi reestabelecido à níveis similares de animais não estressados. Esses experimentos demonstraram o envolvimento da sinalização CRF no desenvolvimento de comportamentos relacionados à ansiedade após a experiência de episódios intermitentes de derrota social. Contudo, o estudo não avaliou qual o subtipo de receptor de CRF estaria envolvido neste estado induzido pela exposição ao estresse. Nesta tese, este artigo demonstra a reprodução dos métodos descritos no segundo manuscrito e uma tentativa de refinar os achados derivados do mesmo. Para tal, foram utilizadas duas drogas, um antagonista específico de receptor de CRF do tipo 1 testado em uma leva de experimentos, e um antagonista específico de receptor de CRF do tipo 2 testado em uma segunda leva de experimentos. Os métodos descritos neste trabalho oferecem uma oportunidade para abordar a questão aberta pelo primeiro artigo experimental e ampliar o conhecimento sobre o tema. Os achados descritos no manuscrito reforçam o papel da sinalização do CRF extra-hipotalâmico na modulação de respostas relacionadas à ansiedade induzidas pelo estresse social, um efeito possivelmente mediado pela ativação de receptores de CRF de tipo 1. O manuscrito foi preparado para ser enviado à revista *Neuroscience Letters*.

DISCUSSÃO GERAL

Em seres humanos, o estresse social é um estímulo prevalente, de forma que o modelo de derrota social tem o intuito de mimetizar os efeitos dessa exposição ao estresse social em roedores (Björkqvist, 2001; Miczek, 1979). A exposição recorrente ao estresse é conhecidamente associada ao desenvolvimento de transtornos como a depressão, ansiedade e abuso de drogas (de Kloet et al., 2005; Kendler & Karkowski-Shuman, 1997; McEwen, 2007). Déficits na interação social são interpretados como indícios de transtornos psiquiátricos, como estados depressivos, ansiedade social e transtornos do espectro autista. Esses transtornos conferem aos indivíduos disfunções aparentes na reciprocidade das interações sociais e má adaptação ao ambiente de interação (Heimberg et al., 2014; Mehling & Tassé, 2016). Possivelmente, as neuroadaptações promovidas pela exposição à derrota social impuseram dificuldades aos animais utilizados nos estudos desta tese em se ajustar a desafios sociais, de forma que estes resultados foram interpretados como comportamentos relacionado à ansiedade. A exposição intermitente não foi severa o bastante a ponto de induzir déficits motivacionais que pudessem explicar decréscimo na interação social, descartando a possibilidade desses animais terem desenvolvido sintomas depressivos.

O CRF, então, pode ser considerado o fator comum entre a exposição ao estresse e o desenvolvimento de transtornos psiquiátricos (Wood et al., 2013). Além de iniciar a resposta do eixo HPA ao estresse, as ações do CRF em regiões extra-hipotalâmicas medeiam respostas comportamentais, cognitivas e autonômicas necessárias à adequada superação do estresse (de Kloet et al., 2005). A modulação farmacológica exercida pelos antagonistas da CRFBP e do CRFR1 e consequente reversão do sintoma de ansiedade, como demonstrado nos estudos apresentados nesta tese, se apresentam como evidência que corrobora o papel da sinalização de CRF na modulação dessas respostas. Apesar de não terem sido realizados estudos de conteúdo direto de CRF no núcleo intersticial da estria terminal, a modulação exercida pela microinjeção do CRF₆₋₃₃ e CP376395 nesta região, corrobora seu envolvimento nas respostas relacionadas à ansiedade.

O artigo de revisão, como primeiro estudo desta tese, introduz o sistema CRFérgico e esclarece questões fundamentais para compreensão dos resultados dos estudos experimentais que se seguem. Em resumo, os receptores de CRF são receptores de membrana acoplados a proteína G, sendo responsáveis por detectar CRF ou outros

agonistas para ativar vias internas de transdução de sinal e, finalmente, as respostas celulares. Foram descritos mecanismos para a regulação da sinalização dos receptores de CRF, estes mecanismos parecem estar mais bem elucidados em outros sistemas de neurotransmissão, deixando evidente algumas lacunas do conhecimento a respeito da sinalização do CRF e demonstrando a necessidade de mais estudos neste campo. Também foi discutido como alguns destes mecanismos predisõem indivíduos a um maior risco de doença mental ao longo do desenvolvimento ou conferem proteção sob condições adversas.

O primeiro estudo experimental apresentou evidências de como o antagonismo da CRFBP no núcleo intersticial da estria terminal foi capaz de reduzir comportamentos associados a ansiedade em ratos com um histórico de estresse. Este estudo serviu como base para delimitar a metodologia a ser empregada nos demais experimentos da tese, além de permitir a discussão do papel da CRFBP dentro do sistema CRFérgico. Assim como no artigo de revisão, o artigo experimental traz as principais hipóteses propostas para o funcionamento da CRFBP: a) molécula sequestradora do CRF, promovendo um antagonismo para o CRFR1; b) papel facilitador para a sinalização do CRFR2; c) propriedades de sinalização independentes dos receptores de CRF. Contudo, não foram testados quais dos subtipos de receptor de CRF poderiam estar associados à sinalização do peptídeo no núcleo intersticial da estria terminal e desenvolvimento de ansiedade.

O segundo estudo experimental se apresenta como uma continuidade dos estudos apresentados sobre a CRFBP. Foram descritos dois experimentos similares aos experimentos descritos no primeiro artigo experimental, tendo sido adicionado aos métodos do estudo o teste do labirinto em cruz elevado e novas variáveis derivadas dos dados obtidos no teste de interação social. Neste artigo, foi testado um antagonista do CRFR1 (CP376395) em um dos experimentos e um antagonista do CRFR2 (Astressina-2B) num segundo conjunto de experimentos. Infelizmente, o estudo conduzido com a Astressina-2B não teve sua análise levada a diante. Foram reproduzidos os efeitos da exposição ao estresse social intermitente e consequente déficit nos comportamentos de interação social. A microinjeção do antagonista do CRFR1 no núcleo intersticial da estria terminal foi capaz de reverter este efeito induzido pelo estresse, de forma que os animais do grupo estresse passaram mais tempo na zona de interação do teste de três câmaras quando microinjetados com este antagonista.

Os achados deste último artigo corroboram as evidências de que a sinalização de CRF no núcleo intersticial da estria terminal tem um papel na modulação de respostas

relacionadas à ansiedade induzidas pelo estresse social, um efeito possivelmente modulado pela ativação do CRFR1. Recentemente foi demonstrado que o estresse social causa uma maior expressão de RNAm de CRF no núcleo intersticial da estria terminal de camundongos submetidos a um regime de derrota social (Albrechet-Souza et al., 2017). Ambos os estudos estão de acordo com as afirmações a respeito de o CRF ser o principal agonista do CRFR1, é tentador especular que, em nosso estudo, a exposição intermitente à derrota social resultou numa elevação dos níveis de CRF na região estudada tendo como consequência a surgimento de respostas relacionadas à ansiedade. Os nossos resultados demonstraram que o bloqueio da ativação do CRFR1 consegue impedir o surgimento dessas repostas no teste de interação social. Mais ainda, nossos resultados demonstraram um efeito similar com o antagonismo da CRFBP.

Estes achados sugerem uma interpretação distinta às hipóteses de funcionamento biológico propostas para CRFBP anteriormente mencionadas. É possível que a CRFBP promova uma facilitação à sinalização de CRFR1, e o antagonismo da CRFBP impeça o aparecimento da resposta associada à ansiedade. Alguns autores já sugeriram que a CRFBP pode aumentar a meia-vida de CRF ou outros ligantes assemelhados, protegendo-os da degradação e facilitando sua ligação aos receptores no tecido alvo (Seasholtz, Valverde, & Denver, 2002). Não podemos descartar a possibilidade de a CRFBP ter efeitos de sinalização por conta própria, embora não tenha sido encontrados estudos que identificaram receptores para essa proteína (Chan et al., 2000). Possivelmente, a administração conjunta dos antagonistas de CRFR1 e CRFBP pudessem nos informar sobre a existência de um mecanismo de ação conjunta entre essas proteínas similar ao que já foi proposto para a CRFBP e CRFR2 na área tegmental ventral (Ungless et al., 2003). Vale salientar, que os estudos com essa proteína vêm demonstrando cada vez mais que o papel da CRFBP e seu mecanismo de ação podem depender de uma variedade de fatores, incluindo subtipo de receptor de CRF, região cerebral ou tipo celular específico associado (Ketchesin, Huang, & Seasholtz, 2017).

Conclusões finais

Regiões como o hipocampo, amígdala e córtex pré-frontal medial são consideradas como fundamentais na regulação do eixo HPA e resposta ao estresse, muito embora não se conheça inervações diretas dessas regiões para o núcleo paraventricular do hipotálamo (Herman et al., 2003). Neurônios do núcleo intersticial da estria terminal,

hipotálamo e tronco encefálico servem de conexão para que essas regiões reguladoras da resposta de estresse possam acessar outros neurônios com conteúdo de CRF (Herman et al., 2005). Um crescente número de evidências sugere que o núcleo intersticial da estria terminal desempenha um papel crucial na regulação da ansiedade (Duvarci et al., 2009; Fox et al., 2010; Somerville et al., 2010; Walker et al., 2003). Durante muito tempo essa região foi estudada somente como uma parte da amígdala expandida, tendo sua importância largamente ignorada em relação ao seu envolvimento na desregulação do humor, transtornos de ansiedade, disfunções sociais e trauma psicológico (Lebow & Chen, 2016). Esta tese se insere em um momento significativo em que o aumento da compreensão a respeito do núcleo intersticial da estria terminal promete fornecer informações translacionais importantes para tratamentos de doenças psiquiátricas humanas. Por fim, a relevância desta tese também reside na mudança importante ocorrida na farmacoterapia de transtornos psiquiátricos desde a caracterização inicial do sistema CRFérgico. Esta mudança se deu em direção ao estabelecimento de terapias com base na causalidade científica, fomentando uma farmacoterapia com efeito clínico rápido, menos efeitos colaterais e menor resistência ao tratamento.

REFERÊNCIAS

- Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K., & Walter, P. (2002). Signaling through G-protein-linked cell-surface receptors. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK26912/>
- Albrechet-Souza, L., Hwa, L. S., Han, X., Zhang, E. Y., DeBold, J. F., & Miczek, K. A. (2015). Corticotropin releasing factor binding protein and CRF2 receptors in the ventral tegmental area: modulation of ethanol binge drinking in C57BL/6J mice. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 39(9), 1609–1618. <https://doi.org/10.1111/acer.12825>
- Albrechet-Souza, L., Viola, T. W., Grassi-Oliveira, R., Miczek, K. A., & De Almeida, R. M. M. (2017). Corticotropin releasing factor in the bed nucleus of the stria terminalis in socially defeated and non-stressed mice with a history of chronic alcohol intake. *Frontiers in Pharmacology*, 8. <https://doi.org/10.3389/fphar.2017.00762>
- American Psychiatric Association. (2013). *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders* (Fifth Edition). American Psychiatric Association. Retrieved from <http://psychiatryonline.org/doi/book/10.1176/appi.books.9780890425596>
- Arborelius, L., Owens, M. J., Plotsky, P. M., & Nemeroff, C. B. (1999). The role of corticotropin-releasing factor in depression and anxiety disorders. *Journal of Endocrinology*, 160(1), 1–12. <https://doi.org/10.1677/joe.0.1600001>
- Bailer, U., & Kaye, W. (2003). A review of neuropeptide and neuroendocrine dysregulation in anorexia and bulimia nervosa. *Current Drug Targets. CNS and Neurological Disorders*, 2(1), 53–59. <https://doi.org/10.2174/1568007033338689>

- Bale, T. L., Contarino, A., Smith, G. W., Chan, R., Gold, L. H., Sawchenko, P. E., ... Lee, K. F. (2000). Mice deficient for corticotropin-releasing hormone receptor-2 display anxiety-like behaviour and are hypersensitive to stress. *Nature Genetics*, 24(4), 410–414. <https://doi.org/10.1038/74263>
- Bale, T. L., & Vale, W. W. (2004). CRF and CRF receptors: Role in stress responsivity and other behaviors. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 44(1), 525–557. <https://doi.org/10.1146/annurev.pharmtox.44.101802.121410>
- Behan, D. P., De Souza, E. B., Lowry, P. J., Potter, E., Sawchenko, P., & Vale, W. W. (1995). Corticotropin releasing factor (CRF) binding protein: a novel regulator of CRF and related peptides. *Frontiers in Neuroendocrinology*, 16(4), 362–382. <https://doi.org/10.1006/frne.1995.1013>
- Behan, D. P., Heinrichs, S. C., Troncoso, J. C., Liu, X.-J., Kawas, C. H., Ling, N., & De Souza, E. B. (1995). Displacement of corticotropin releasing factor from its binding protein as possible treatment for Alzheimer's disease. *Nature*, 378(6554), 284–287. <https://doi.org/10.1038/378284a0>
- Behan, D. P., Khongsaly, O., Owens, M. J., Chung, H. D., Nemeroff, C. B., & De Souza, E. B. (1997). Corticotropin-releasing factor (CRF), CRF-binding protein (CRF-BP), and CRF/CRF-BP complex in Alzheimer's disease and control postmortem human brain. *Journal of Neurochemistry*, 68(5), 2053–2060.
- Belzung, C., & Lemoine, M. (2011). Criteria of validity for animal models of psychiatric disorders: focus on anxiety disorders and depression. *Biology of Mood & Anxiety Disorders*, 1, 9. <https://doi.org/10.1186/2045-5380-1-9>
- Billings, A. G., & Moos, R. H. (1984). Coping, stress, and social resources among adults with unipolar depression. *Journal of Personality and Social Psychology*, 46(4), 877–891.

- Binder, E. B., Owens, M. J., Liu, W., Deveau, T. C., Rush, A. J., Trivedi, M. H., ... Nemeroff, C. B. (2010). Association of polymorphisms in genes regulating the corticotropin-releasing factor system with antidepressant treatment response. *Archives of General Psychiatry*, *67*(4), 369–379. <https://doi.org/10.1001/archgenpsychiatry.2010.18>
- Björkqvist, K. (2001). Social defeat as a stressor in humans. *Physiology & Behavior*, *73*(3), 435–442.
- Blanchard, R. J., & Caroline Blanchard, D. (1977). Aggressive behavior in the rat. *Behavioral Biology*, *21*(2), 197–224. [https://doi.org/10.1016/S0091-6773\(77\)90308-X](https://doi.org/10.1016/S0091-6773(77)90308-X)
- Branson, K. L., Grigoriadis, D. E., Lorang, M. T., & Baram, T. Z. (2002). Corticotropin-releasing hormone (CRH) downregulates the function of its receptor (CRF1) and induces CRF1 expression in hippocampal and cortical regions of the immature rat brain. *Experimental Neurology*, *176*(1), 75–86.
- Brar, B. K., Jonassen, A. K., Egorina, E. M., Chen, A., Negro, A., Perrin, M. H., ... Vale, W. (2004). Urocortin-II and urocortin-III are cardioprotective against ischemia reperfusion injury: an essential endogenous cardioprotective role for corticotropin releasing factor receptor type 2 in the murine heart. *Endocrinology*, *145*(1), 24–35; discussion 21-23. <https://doi.org/10.1210/en.2003-0689>
- Cantarella, G., Lempereur, L., Lombardo, G., Chiarenza, A., Pafumi, C., Zappalà, G., & Bernardini, R. (2001). Divergent effects of corticotropin releasing hormone on endothelial cell nitric oxide synthase are associated with different expression of CRH type 1 and 2 receptors. *British Journal of Pharmacology*, *134*(4), 837–844. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0704322>

- Chalmers, D. T., Lovenberg, T. W., & Souza, E. D. (1995). Localization of novel corticotropin-releasing factor receptor (CRF2) mRNA expression to specific subcortical nuclei in rat brain: comparison with CRF1 receptor mRNA expression. *The Journal of Neuroscience*, *15*(10), 6340–6350.
- Chan, R. K. W., Vale, W. W., & Sawchenko, P. E. (2000). Paradoxical activational effects of a corticotropin-releasing factor-binding protein “ligand inhibitor” in rat brain. *Neuroscience*, *101*(1), 115–129. [https://doi.org/10.1016/S0306-4522\(00\)00322-5](https://doi.org/10.1016/S0306-4522(00)00322-5)
- Chang, C. P., Pearse, R. V., O’Connell, S., & Rosenfeld, M. G. (1993). Identification of a seven transmembrane helix receptor for corticotropin-releasing factor and sauvagine in mammalian brain. *Neuron*, *11*(6), 1187–1195.
- Chen, R., Lewis, K. A., Perrin, M. H., & Vale, W. W. (1993). Expression cloning of a human corticotropin-releasing-factor receptor. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *90*(19), 8967–8971.
- Choi, D. C., Furay, A. R., Evanson, N. K., Ostrander, M. M., Ulrich-Lai, Y. M., & Herman, J. P. (2007). Bed nucleus of the stria terminalis subregions differentially regulate hypothalamic-pituitary-adrenal axis activity: implications for the integration of limbic inputs. *Journal of Neuroscience*, *27*(8), 2025–2034. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4301-06.2007>
- Chrousos, G. P., & Gold, P. W. (1992). The concepts of stress and stress system disorders. Overview of physical and behavioral homeostasis. *JAMA*, *267*(9), 1244–1252.
- Claing, A., Laporte, S. A., Caron, M. G., & Lefkowitz, R. J. (2002). Endocytosis of G protein-coupled receptors: roles of G protein-coupled receptor kinases and beta-arrestin proteins. *Progress in Neurobiology*, *66*(2), 61–79.

- Contarino, A., Heinrichs, S. C., & Gold, L. H. (1999). Understanding corticotropin releasing factor neurobiology: contributions from mutant mice. *Neuropeptides*, 33(1), 1–12. <https://doi.org/10.1054/npep.1999.0001>
- Cortright, D. N., Nicoletti, A., & Seasholtz, A. F. (1995). Molecular and biochemical characterization of the mouse brain corticotropin-releasing hormone-binding protein. *Molecular Cell Endocrinology*, 111(2), 147–157.
- Coste, S. C., Heard, A. D., Phillips, T. J., & Stenzel-Poore, M. P. (2006). Corticotropin-releasing factor receptor type 2-deficient mice display impaired coping behaviors during stress. *Genes, Brain and Behavior*, 5(2), 131–138. <https://doi.org/10.1111/j.1601-183X.2005.00142.x>
- Crestani, C. C., Alves, F. H. F., Gomes, F. V., Resstel, L. B. M., Correa, F. M. A., & Herman, J. P. (2013). Mechanisms in the bed nucleus of the stria terminalis involved in control of autonomic and neuroendocrine functions: a review. *Current Neuropharmacology*, 11(2), 141–159.
- Cummings, S., Elde, R., Ells, J., & Lindall, A. (1983). Corticotropin-releasing factor immunoreactivity is widely distributed within the central nervous system of the rat: an immunohistochemical study. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 3(7), 1355–1368.
- Dabrowska, J., Hazra, R., Ahern, T. H., Guo, J.-D., McDonald, A. J., Mascagni, F., ... Rainnie, D. G. (2011). Neuroanatomical evidence for reciprocal regulation of the corticotrophin-releasing factor and oxytocin systems in the hypothalamus and the bed nucleus of the stria terminalis of the rat: Implications for balancing stress and affect. *Psychoneuroendocrinology*, 36(9), 1312–1326. <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2011.03.003>

- Dabrowska, J., Hazra, R., Guo, J.-D., DeWitt, S., & Rainnie, D. G. (2013). Central CRF neurons are not created equal: phenotypic differences in CRF-containing neurons of the rat paraventricular hypothalamus and the bed nucleus of the stria terminalis. *Frontiers in Neuroscience*, *7*. <https://doi.org/10.3389/fnins.2013.00156>
- Daniel, S. E., & Rainnie, D. G. (2016). Stress modulation of opposing circuits in the bed nucleus of the stria terminalis. *Neuropsychopharmacology: Official Publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, *41*(1), 103–125. <https://doi.org/10.1038/npp.2015.178>
- Davis, M., Walker, D. L., Miles, L., & Grillon, C. (2009). Phasic vs sustained fear in rats and humans: role of the extended amygdala in fear vs anxiety. *Neuropsychopharmacology*, *35*(1), 105–135. <https://doi.org/10.1038/npp.2009.109>
- de Kloet, E. R., Joëls, M., & Holsboer, F. (2005). Stress and the brain: from adaptation to disease. *Nature Reviews Neuroscience*, *6*(6), 463–475. <https://doi.org/10.1038/nrn1683>
- de Kloet, E. R., Vreugdenhil, E., Oitzl, M. S., & Joëls, M. (1998). Brain corticosteroid receptor balance in health and disease. *Endocrine Reviews*, *19*(3), 269–301. <https://doi.org/10.1210/edrv.19.3.0331>
- Deak, T., Nguyen, K. T., Ehrlich, A. L., Watkins, L. R., Spencer, R. L., Maier, S. F., ... Gold, P. W. (1999). The impact of the nonpeptide corticotropin-releasing hormone antagonist antalarmin on behavioral and endocrine responses to stress. *Endocrinology*, *140*(1), 79–86. <https://doi.org/10.1210/endo.140.1.6415>
- Denver, R. J. (1993). Acceleration of anuran amphibian metamorphosis by corticotropin-releasing hormone-like peptides. *General and Comparative Endocrinology*, *91*(1), 38–51. <https://doi.org/10.1006/gcen.1993.1102>

- Denver, R. J. (1999). Evolution of the corticotropin-releasing hormone signaling system and its role in stress-induced phenotypic plasticity. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 897, 46–53.
- Dermitzaki, E., Tsatsanis, C., Gravanis, A., & Margioris, A. N. (2002). Corticotropin-releasing hormone induces Fas ligand production and apoptosis in PC12 cells via activation of p38 mitogen-activated protein kinase. *The Journal of Biological Chemistry*, 277(14), 12280–12287. <https://doi.org/10.1074/jbc.M111236200>
- Dieterich, K. D., Grigoriadis, D. E., & De Souza, E. B. (1996). Homologous desensitization of human corticotropin-releasing factor1 receptor in stable transfected mouse fibroblast cells. *Brain Research*, 710(1–2), 287–292.
- Dong, H.-W., Petrovich, G. D., & Swanson, L. W. (2000). Organization of projections from the juxtacapsular nucleus of the BST: a PHAL study in the rat. *Brain Research*, 859(1), 1–14. [https://doi.org/10.1016/S0006-8993\(99\)02246-5](https://doi.org/10.1016/S0006-8993(99)02246-5)
- Dong, H.-W., Petrovich, G. D., & Swanson, L. W. (2001). Topography of projections from amygdala to bed nuclei of the stria terminalis. *Brain Research Reviews*, 38(1–2), 192–246. [https://doi.org/10.1016/S0165-0173\(01\)00079-0](https://doi.org/10.1016/S0165-0173(01)00079-0)
- Dong, H.-W., Petrovich, G. D., Watts, A. G., & Swanson, L. W. (2001). Basic organization of projections from the oval and fusiform nuclei of the bed nuclei of the stria terminalis in adult rat brain. *The Journal of Comparative Neurology*, 436(4), 430–455. <https://doi.org/10.1002/cne.1079>
- Duvarci, S., Bauer, E. P., & Pare, D. (2009). The bed nucleus of the stria terminalis mediates inter-individual variations in anxiety and fear. *Journal of Neuroscience*, 29(33), 10357–10361. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2119-09.2009>
- Eckart, K., Jahn, O., Radulovic, J., Tezval, H., Werven, L. van, & Spiess, J. (2001). A single amino acid serves as an affinity switch between the receptor and the binding

- protein of corticotropin-releasing factor: Implications for the design of agonists and antagonists. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 98(20), 11142–11147. <https://doi.org/10.1073/pnas.211424998>
- Enoch, M. A., Shen, P. H., Ducci, F., Yuan, Q., Liu, J., White, K. V., ... Goldman, D. (2008). Common genetic origins for EEG, alcoholism and anxiety: the role of CRH-BP. *PLoS One*, 3(10), e3620. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0003620>
- Erb, S., & Stewart, J. (1999). A role for the bed nucleus of the stria terminalis, but not the amygdala, in the effects of corticotropin-releasing factor on stress-induced reinstatement of cocaine seeking. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 19(20), RC35–RC35.
- Fanous, S., Hammer Jr, R. P., & Nikulina, E. M. (2010). Short- and long-term effects of intermittent social defeat stress on brain-derived neurotrophic factor expression in mesocorticolimbic brain regions. *Neuroscience*, 167(3), 598–607. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2010.02.064>
- Fanous, S., Terwilliger, E. F., Hammer Jr., R. P., & Nikulina, E. M. (2011). Viral depletion of VTA BDNF in rats modulates social behavior, consequences of intermittent social defeat stress, and long-term weight regulation. *Neuroscience Letters*, 502(3), 192–196. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2011.07.043>
- File, S. E., & Hyde, J. r. g. (1978). Can social interaction be used to measure anxiety? *British Journal of Pharmacology*, 62(1), 19–24. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.1978.tb07001.x>
- File, S. E., & Seth, P. (2003). A review of 25 years of the social interaction test. *European Journal of Pharmacology*, 463(1–3), 35–53. [https://doi.org/10.1016/S0014-2999\(03\)01273-1](https://doi.org/10.1016/S0014-2999(03)01273-1)

- Fox, A., Shelton, S., Oakes, T., Converse, A., Davidson, R., & Kalin, N. (2010). Orbitofrontal cortex lesions alter anxiety-related activity in the primate bed nucleus of stria terminalis. *The Journal of Neuroscience : The Official Journal of the Society for Neuroscience*, *30*(20), 7023–7027. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5952-09.2010>
- Freedman, N. J., & Lefkowitz, R. J. (1996). Desensitization of G protein-coupled receptors. *Recent Progress in Hormone Research*, *51*, 319–351; discussion 352–353.
- Friard, O., & Gamba, M. (2016). BORIS: a free, versatile open-source event-logging software for video/audio coding and live observations. *Methods in Ecology and Evolution*, *7*(11), 1325–1330. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.12584>
- Funk, D., Li, Z., & Lê, A. D. (2006). Effects of environmental and pharmacological stressors on c-fos and corticotropin-releasing factor mRNA in rat brain: Relationship to the reinstatement of alcohol seeking. *Neuroscience*, *138*(1), 235–243. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2005.10.062>
- Furay, A. R., McDevitt, R. A., Miczek, K. A., & Neumaier, J. F. (2011). 5-HT1B mRNA expression after chronic social stress. *Behavioural Brain Research*, *224*(2), 350–357. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2011.06.016>
- Grammatopoulos, D. K. (2012). Insights into mechanisms of corticotropin-releasing hormone receptor signal transduction. *British Journal of Pharmacology*, *166*(1), 85–97. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.2011.01631.x>
- Grammatopoulos, D. K., Dai, Y., Randevara, H. S., Levine, M. A., Karteris, E., Easton, A. J., & Hillhouse, E. W. (1999). A novel spliced variant of the type 1 corticotropin-releasing hormone receptor with a deletion in the seventh transmembrane domain

- present in the human pregnant term myometrium and fetal membranes. *Molecular Endocrinology*, 13(12), 2189–2202. <https://doi.org/10.1210/mend.13.12.0391>
- Grammatopoulos, D. K., & Hillhouse, E. W. (1999). Basal and interleukin-1beta-stimulated prostaglandin production from cultured human myometrial cells: differential regulation by corticotropin-releasing hormone. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 84(6), 2204–2211. <https://doi.org/10.1210/jcem.84.6.5801>
- Gutman, D. A., Owens, M. J., Thirvikraman, K. V., & Nemeroff, C. B. (2011). Persistent anxiolytic effects after chronic administration of the CRF₁ receptor antagonist R121919 in rats. *Neuropharmacology*, 60(7–8), 1135–1141. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2010.10.004>
- Haass-Koffler, C. L., Henry, A. T., Melkus, G., Simms, J. A., Naemmuddin, M., Nielsen, C. K., ... Leggio, L. (2016). Defining the role of corticotropin releasing factor binding protein in alcohol consumption. *Translational Psychiatry*, 6(11), e953. <https://doi.org/10.1038/tp.2016.208>
- Hammack, S. E., Roman, C. W., Lezak, K. R., Kocho-Shellenberg, M., Grimmig, B., Falls, W. A., ... May, V. (2010). Roles for pituitary adenylate cyclase-activating peptide (PACAP) expression and signaling in the bed nucleus of the stria terminalis (BNST) in mediating the behavioral consequences of chronic stress. *Journal of Molecular Neuroscience*, 42(3), 327–340. <https://doi.org/10.1007/s12031-010-9364-7>
- Hammack, S. E., Todd, T. P., Kocho-Schellenberg, M., & Bouton, M. E. (2015). Role of the bed nucleus of the stria terminalis in the acquisition of contextual fear at long or short context-shock intervals. *Behavioral Neuroscience*, 129(5), 673–678. <https://doi.org/10.1037/bne0000088>

- Hauger, R. L., Risbrough, V., Brauns, O., & Dautzenberg, F. M. (2006). Corticotropin releasing factor (CRF) receptor signaling in the central nervous system: new molecular targets. *CNS & Neurological Disorders Drug Targets*, 5(4), 453–479.
- Hauger, R. L., Risbrough, V., Oakley, R. H., Olivares-Reyes, J. A., & Dautzenberg, F. M. (2009). Role of CRF receptor signaling in stress vulnerability, anxiety, and depression. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1179(1), 120–143. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2009.05011.x>
- Hauger, R. L., Smith, R. D., Braun, S., Dautzenberg, F. M., & Catt, K. J. (2000). Rapid agonist-induced phosphorylation of the human CRF receptor, type 1: a potential mechanism for homologous desensitization. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 268(2), 572–576. <https://doi.org/10.1006/bbrc.2000.2183>
- Heimberg, R. G., Hofmann, S. G., Liebowitz, M. R., Schneier, F. R., Smits, J. A. J., Stein, M. B., ... Craske, M. G. (2014). Social anxiety disorder in DSM-5: Review. *Depression and Anxiety*, 31(6), 472–479. <https://doi.org/10.1002/da.22231>
- Heinrichs, S. C., & Koob, G. F. (2004). Corticotropin-releasing factor in brain: a role in activation, arousal, and affect regulation. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 311(2), 427–440. <https://doi.org/10.1124/jpet.103.052092>
- Henckens, M. J. a. G., Printz, Y., Shamgar, U., Dine, J., Lebow, M., Drori, Y., ... Chen, A. (2016). CRF receptor type 2 neurons in the posterior bed nucleus of the stria terminalis critically contribute to stress recovery. *Molecular Psychiatry*. <https://doi.org/10.1038/mp.2016.133>
- 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 hypothalamo-pituitary-adrenocortical responsiveness. *Frontiers in Neuroendocrinology*, 24(3), 151–180.
- Herman, J. P., Ostrander, M. M., Mueller, N. K., & Figueiredo, H. (2005). Limbic system mechanisms of stress regulation: Hypothalamo-pituitary-adrenocortical axis. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 29(8), 1201–1213. <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2005.08.006>
- Hillhouse, E. W., & Grammatopoulos, D. K. (2006). The molecular mechanisms underlying the regulation of the biological activity of corticotropin-releasing hormone receptors: implications for physiology and pathophysiology. *Endocrine Reviews*, 27(3), 260–286. <https://doi.org/10.1210/er.2005-0034>
- Hiroi, N., Wong, M. L., Licinio, J., Park, C., Young, M., Gold, P. W., ... Bornstein, S. R. (2001). Expression of corticotropin releasing hormone receptors type I and type II mRNA in suicide victims and controls. *Molecular Psychiatry*, 6(5), 540–546. <https://doi.org/10.1038/sj.mp.4000908>
- Hoare, S. R. J. (2005). Mechanisms of peptide and nonpeptide ligand binding to Class B G-protein-coupled receptors. *Drug Discovery Today*, 10(6), 417–427. [https://doi.org/10.1016/S1359-6446\(05\)03370-2](https://doi.org/10.1016/S1359-6446(05)03370-2)
- Hogg, S. (1996). A review of the validity and variability of the Elevated Plus-Maze as an animal model of anxiety. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 54(1), 21–30. [https://doi.org/10.1016/0091-3057\(95\)02126-4](https://doi.org/10.1016/0091-3057(95)02126-4)
- Holsboer, F., Von Bardeleben, U., Gerken, A., Stalla, G. K., & Müller, O. A. (1984). Blunted corticotropin and normal cortisol response to human corticotropin-releasing factor in depression. *The New England Journal of Medicine*, 311(17), 1127. <https://doi.org/10.1056/NEJM198410253111718>

- Hsu, S. Y., & Hsueh, A. J. W. (2001). Human stresscopin and stresscopin-related peptide are selective ligands for the type 2 corticotropin-releasing hormone receptor. *Nature Medicine*, 7(5), 605–611. <https://doi.org/10.1038/87936>
- Huising, M. O., Vaughan, J. M., Shah, S. H., Grillot, K. L., Donaldson, C. J., Rivier, J., ... Vale, W. W. (2008). Residues of corticotropin releasing factor-binding protein (CRF-BP) that selectively abrogate binding to CRF but not to urocortin 1. *Journal of Biological Chemistry*, 283(14), 8902–8912. <https://doi.org/10.1074/jbc.M709904200>
- Jessop, D. S., Harbuz, M. S., & Lightman, S. L. (2001). CRH in chronic inflammatory stress. *Peptides*, 22(5), 803–807. [https://doi.org/10.1016/S0196-9781\(01\)00394-1](https://doi.org/10.1016/S0196-9781(01)00394-1)
- Kageyama, K., Furukawa, K.-I., Miki, I., Terui, K., Motomura, S., & Suda, T. (2003). Vasodilative effects of urocortin II via protein kinase A and a mitogen-activated protein kinase in rat thoracic aorta. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*, 42(4), 561–565.
- Karolyi, I. J., Burrows, H. L., Ramesh, T. M., Nakajima, M., Lesh, J. S., Seong, E., ... Seasholtz, A. F. (1999). Altered anxiety and weight gain in corticotropin-releasing hormone-binding protein-deficient mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 96(20), 11595–11600. <https://doi.org/10.1073/pnas.96.20.11595>
- Keck, M. E., Ohl, F., Holsboer, F., & Müller, M. B. (2005). Listening to mutant mice: a spotlight on the role of CRF/CRF receptor systems in affective disorders. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 29(4), 867–889. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2005.03.003>
- Kendler, K. S., & Karkowski-Shuman, L. (1997). Stressful life events and genetic liability to major depression: genetic control of exposure to the environment?

Psychological Medicine, 27(03), 539–547.

<https://doi.org/10.1017/S0033291797004716>

Ketchesin, K. D., Huang, N. S., & Seasholtz, A. F. (2017). Cell type-specific expression of corticotropin-releasing hormone-binding protein in GABAergic interneurons in the prefrontal cortex. *Frontiers in Neuroanatomy*, 11. <https://doi.org/10.3389/fnana.2017.00090>

Kiang, J. G. (1997). Corticotropin-releasing factor-like peptides increase cytosolic [Ca²⁺] in human epidermoid A-431 cells. *European Journal of Pharmacology*, 329(2–3), 237–244.

Kim, S.-Y., Adhikari, A., Lee, S. Y., Marshel, J. H., Kim, C. K., Mallory, C. S., ... Deisseroth, K. (2013). Diverging neural pathways assemble a behavioural state from separable features in anxiety. *Nature*, 496(7444), 219–223. <https://doi.org/10.1038/nature12018>

Kishimoto, T., Radulovic, J., Radulovic, M., Lin, C. R., Schrick, C., Hooshmand, F., ... Spiess, J. (2000). Deletion of crhr2 reveals an anxiolytic role for corticotropin-releasing hormone receptor-2. *Nature Genetics*, 24(4), 415–419. <https://doi.org/10.1038/74271>

Klampfl, S. M., Schramm, M. M., Stinnett, G. S., Bayerl, D. S., Seasholtz, A. F., & Bosch, O. J. (2016). Brain CRF-binding protein modulates aspects of maternal behavior under stressful conditions and supports a hypo-anxious state in lactating rats. *Hormones and Behavior*, 84, 136–144. <https://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2016.06.009>

Kostic, T. S., Andric, S. A., & Stojilkovic, S. S. (2001). Spontaneous and receptor-controlled soluble guanylyl cyclase activity in anterior pituitary cells. *Molecular*

- Endocrinology* (Baltimore, Md.), 15(6), 1010–1022.
<https://doi.org/10.1210/mend.15.6.0648>
- Kostich, W. A., Chen, A., Sperle, K., & Largent, B. L. (1998). Molecular identification and analysis of a novel human corticotropin-releasing factor (CRF) receptor: the CRF2 γ receptor. *Molecular Endocrinology*, 12(8), 1077–1085.
<https://doi.org/10.1210/mend.12.8.0145>
- Kovalovsky, D., Refojo, D., Liberman, A. C., Hochbaum, D., Pereda, M. P., Coso, O. A., ... Arzt, E. (2002). Activation and induction of NUR77/NURR1 in corticotrophs by CRH/cAMP: involvement of calcium, protein kinase A, and MAPK pathways. *Molecular Endocrinology* (Baltimore, Md.), 16(7), 1638–1651.
<https://doi.org/10.1210/mend.16.7.0863>
- Lagerström, M. C., & Schiöth, H. B. (2008). Structural diversity of G protein-coupled receptors and significance for drug discovery. *Nature Reviews. Drug Discovery*, 7(4), 339–357. <https://doi.org/10.1038/nrd2518>
- Lebow, M. A., & Chen, A. (2016). Overshadowed by the amygdala: the bed nucleus of the stria terminalis emerges as key to psychiatric disorders. *Molecular Psychiatry*, 21(4), 450–463. <https://doi.org/10.1038/mp.2016.1>
- Lee, Y., & Davis, M. (1997). Role of the hippocampus, the bed nucleus of the stria terminalis, and the amygdala in the excitatory effect of corticotropin-releasing hormone on the acoustic startle reflex. *The Journal of Neuroscience*, 17(16), 6434–6446.
- Lee, Y., Fitz, S., Johnson, P. L., & Shekhar, A. (2008). Repeated Stimulation of CRF Receptors in the BNST of Rats Selectively Induces Social but not Panic-Like Anxiety. *Neuropsychopharmacology*, 33(11), 2586–2594.
<https://doi.org/10.1038/sj.npp.1301674>

- Lewis, K., Li, C., Perrin, M. H., Blount, A., Kunitake, K., Donaldson, C., ... Vale, W. W. (2001). Identification of urocortin III, an additional member of the corticotropin-releasing factor (CRF) family with high affinity for the CRF2 receptor. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *98*(13), 7570–7575. <https://doi.org/10.1073/pnas.121165198>
- Li, Y.-W., Fitzgerald, L., Wong, H., Lelas, S., Zhang, G., Lindner, M. D., ... Zaczek, R. (2005). The pharmacology of DMP696 and DMP904, non-peptidergic CRF1 receptor antagonists. *CNS Drug Reviews*, *11*(1), 21–52.
- Lovenberg, T. W., Liaw, C. W., Grigoriadis, D. E., Clevenger, W., Chalmers, D. T., Souza, E. B. D., & Oltersdorf, T. (1995). Cloning and characterization of a functionally distinct corticotropin-releasing factor receptor subtype from rat brain. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *92*(3), 836–840.
- Makino, S., Gold, P. W., & Schulkin, J. (1994). Effects of corticosterone on CRH mRNA and content in the bed nucleus of the stria terminalis; comparison with the effects in the central nucleus of the amygdala and the paraventricular nucleus of the hypothalamus. *Brain Research*, *657*(1–2), 141–149. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(94\)90961-X](https://doi.org/10.1016/0006-8993(94)90961-X)
- Markovic, D., Pun, A., Lehnert, H., & Grammatopoulos, D. K. (2008). Intracellular mechanisms regulating corticotropin-releasing hormone receptor-2 β endocytosis and interaction with extracellularly regulated kinase 1/2 and p38 mitogen-activated protein kinase signaling cascades. *Molecular Endocrinology*, *22*(3), 689–706. <https://doi.org/10.1210/me.2007-0136>
- McDonald, A. J., Shammah-Lagnado, S. J., Shi, C., & Davis, M. (1999). Cortical afferents to the extended amygdala. *Annals of the New York Academy of Sciences*, *877*(1), 309–338. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1999.tb09275.x>

- McEwen, B. S. (2007). Physiology and neurobiology of stress and adaptation: central role of the brain. *Physiological Reviews*, 87(3), 873–904. <https://doi.org/10.1152/physrev.00041.2006>
- McEwen, B. S. (2008). Central effects of stress hormones in health and disease: Understanding the protective and damaging effects of stress and stress mediators. *European Journal of Pharmacology*, 583(2–3), 174–185. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2007.11.071>
- Meerlo, Overkamp, Daan, Van Den Hoofdakker RH, & Koolhaas. (1996). Changes in behaviour and body weight following a single or double social defeat in rats. *Stress (Amsterdam, Netherlands)*, 1(1), 21–32.
- Mehling, M. H., & Tassé, M. J. (2016). Severity of autism spectrum disorders: current conceptualization, and transition to DSM-5. *Journal of Autism and Developmental Disorders*, 46(6), 2000–2016. <https://doi.org/10.1007/s10803-016-2731-7>
- Miczek, K. A. (1979). A new test for aggression in rats without aversive stimulation: Differential effects of d-amphetamine and cocaine. *Psychopharmacology*, 60(3), 253–259. <https://doi.org/10.1007/BF00426664>
- Miczek, K. A., Nikulina, E. M., Shimamoto, A., & Covington, H. E. (2011). Escalated or suppressed cocaine reward, tegmental BDNF and accumbal dopamine due to episodic vs. continuous social stress in rats. *The Journal of Neuroscience : The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 31(27), 9848–9857. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0637-11.2011>
- Miczek, K. A., Yap, J. J., & Covington III, H. E. (2008). Social stress, therapeutics and drug abuse: Preclinical models of escalated and depressed intake. *Pharmacology*

- & *Therapeutics*, 120(2), 102–128.
<https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2008.07.006>
- Millan, M. A., Samra, A. B., Wynn, P. C., Catt, K. J., & Aguilera, G. (1987). Receptors and actions of corticotropin-releasing hormone in the primate pituitary gland. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 64(5), 1036–1041.
<https://doi.org/10.1210/jcem-64-5-1036>
- Müller, M. B., & Wurst, W. (2004). Getting closer to affective disorders: the role of CRH receptor systems. *Trends in Molecular Medicine*, 10(8), 409–415.
<https://doi.org/10.1016/j.molmed.2004.06.007>
- Murphy, E. P., & Conneely, O. M. (1997). Neuroendocrine regulation of the hypothalamic pituitary adrenal axis by the nurr1/nur77 subfamily of nuclear receptors. *Molecular Endocrinology (Baltimore, Md.)*, 11(1), 39–47.
<https://doi.org/10.1210/mend.11.1.9874>
- Nadler, J. J., Moy, S. S., Dold, G., Simmons, N., Perez, A., Young, N. B., ... Crawley, J. N. (2004). Automated apparatus for quantitation of social approach behaviors in mice. *Genes, Brain and Behavior*, 3(5), 303–314. <https://doi.org/10.1111/j.1601-183X.2004.00071.x>
- National Research Council. (2011). *Guide for the care and use of laboratory animals: eighth edition*. Washington, D.C.: The National Academies Press.
- Nemeroff, C. B., Widerlöv, E., Bissette, G., Walléus, H., Karlsson, I., Eklund, K., ... Vale, W. (1984). Elevated concentrations of CSF corticotropin-releasing factor-like immunoreactivity in depressed patients. *Science (New York, N.Y.)*, 226(4680), 1342–1344.
- Nocjar, C., Zhang, J., Feng, P., & Panksepp, J. (2012). The social defeat animal model of depression shows diminished levels of orexin in mesocortical regions of the

- dopamine system, and of dynorphin and orexin in the hypothalamus. *Neuroscience*, 218, 138–153. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2012.05.033>
- Okuyama, S., Chaki, S., Kawashima, N., Suzuki, Y., Ogawa, S., Nakazato, A., ... Tomisawa, K. (1999). Receptor binding, behavioral, and electrophysiological profiles of nonpeptide corticotropin-releasing factor subtype 1 receptor antagonists CRA1000 and CRA1001. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 289(2), 926–935.
- Olivares, E. L., Silva-Almeida, C., Pestana, F. M., Sonoda-Côrtes, R., Araujo, I. G., Rodrigues, N. C., ... Rocha, F. F. (2012). Social stress-induced hypothyroidism is attenuated by antidepressant treatment in rats. *Neuropharmacology*, 62(1), 446–456. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2011.08.035>
- Owens, M. J., & Nemeroff, C. B. (1991). Physiology and pharmacology of corticotropin-releasing factor. *Pharmacological Reviews*, 43(4), 425–473.
- Paxinos, G., & Watson, C. (2006). *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates: Hard Cover Edition*. Academic Press.
- Pedersen, W. A., Wan, R., Zhang, P., & Mattson, M. P. (2002). Urocortin, but not urocortin II, protects cultured hippocampal neurons from oxidative and excitotoxic cell death via corticotropin-releasing hormone receptor type I. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 22(2), 404–412.
- Peeters, P. J., Göhlmann, H. W., Van den Wyngaert, I., Swagemakers, S. M., Bijmens, L., Kass, S. U., & Steckler, T. (2004). Transcriptional response to corticotropin-releasing factor in AtT-20 cells. *Molecular Pharmacology*, 66(5), 1083–1092. <https://doi.org/10.1124/mol.104.000950>

- Pelleymounter, M. A., Joppa, M., Ling, N., & Foster, A. C. (2002). Pharmacological evidence supporting a role for central corticotropin-releasing factor(2) receptors in behavioral, but not endocrine, response to environmental stress. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, *302*(1), 145–152.
- Pellow, S., Chopin, P., File, S. E., & Briley, M. (1985). Validation of open : closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. *Journal of Neuroscience Methods*, *14*(3), 149–167. [https://doi.org/10.1016/0165-0270\(85\)90031-7](https://doi.org/10.1016/0165-0270(85)90031-7)
- Perrin, M., Donaldson, C., Chen, R., Blount, A., Berggren, T., Bilezikjian, L., ... Vale, W. (1995). Identification of a second corticotropin-releasing factor receptor gene and characterization of a cDNA expressed in heart. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *92*(7), 2969–2973.
- Perry, S. J., Junger, S., Kohout, T. A., Hoare, S. R. J., Struthers, R. S., Grigoriadis, D. E., & Maki, R. A. (2005). Distinct conformations of the corticotropin releasing factor type 1 receptor adopted following agonist and antagonist binding are differentially regulated. *The Journal of Biological Chemistry*, *280*(12), 11560–11568. <https://doi.org/10.1074/jbc.M412914200>
- Potter, E., Behan, D. P., Fischer, W. H., Linton, E. A., Lowry, P. J., & Vale, W. W. (1991). Cloning and characterization of the cDNAs for human and rat corticotropin releasing factor-binding proteins. *Nature*, *349*(6308), 423–426. <https://doi.org/10.1038/349423a0>
- Potter, E., Behan, D. P., Linton, E. A., Lowry, P. J., Sawchenko, P. E., & Vale, W. W. (1992). The central distribution of a corticotropin-releasing factor (CRF)-binding protein predicts multiple sites and modes of interaction with CRF. *Proceedings of*

the National Academy of Sciences of the United States of America, 89(9), 4192–4196.

- Rasmussen, T. N., Novak, I., & Nielsen, S. M. (2004). Internalization of the human CRF receptor 1 is independent of classical phosphorylation sites and of beta-arrestin 1 recruitment. *European Journal of Biochemistry*, 271(22), 4366–4374. <https://doi.org/10.1111/j.1432-1033.2004.04371.x>
- Reul, J. M. H. M., & Holsboer, F. (2002). On the role of corticotropin-releasing hormone receptors in anxiety and depression. *Dialogues in Clinical Neuroscience*, 4(1), 31–46.
- Reyes, T. M., Lewis, K., Perrin, M. H., Kunitake, K. S., Vaughan, J., Arias, C. A., ... Sawchenko, P. E. (2001). Urocortin II: A member of the corticotropin-releasing factor (CRF) neuropeptide family that is selectively bound by type 2 CRF receptors. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 98(5), 2843–2848. <https://doi.org/10.1073/pnas.051626398>
- Richard, D., Huang, Q., & Timofeeva, E. (2000). The corticotropin-releasing hormone system in the regulation of energy balance in obesity. *International Journal of Obesity and Related Metabolic Disorders: Journal of the International Association for the Study of Obesity*, 24 Suppl 2, S36-9.
- Rivier, C., Rivier, J., Mormede, P., & Vale, W. (1984). Studies of the nature of the interaction between vasopressin and corticotropin-releasing factor on adrenocorticotropin release in the rat. *Endocrinology*, 115(3), 882–886. <https://doi.org/10.1210/endo-115-3-882>
- Rygula, R., Abumaria, N., Flügge, G., Fuchs, E., Rüter, E., & Havemann-Reinecke, U. (2005). Anhedonia and motivational deficits in rats: Impact of chronic social

- stress. *Behavioural Brain Research*, *162*(1), 127–134.
<https://doi.org/10.1016/j.bbr.2005.03.009>
- Rygula, R., Papciak, J., & Popik, P. (2013). Trait pessimism predicts vulnerability to stress-induced anhedonia in rats. *Neuropsychopharmacology*, *38*(11), 2188–2196.
<https://doi.org/10.1038/npp.2013.116>
- Sahuque, L. L., Kullberg, E. F., Mcgeehan, A. J., Kinder, J. R., Hicks, M. P., Blanton, M. G., ... Olive, M. F. (2006). Anxiogenic and aversive effects of corticotropin-releasing factor (CRF) in the bed nucleus of the stria terminalis in the rat: role of CRF receptor subtypes. *Psychopharmacology*, *186*(1), 122–132.
<https://doi.org/10.1007/s00213-006-0362-y>
- Sananbenesi, F., Fischer, A., Schrick, C., Spiess, J., & Radulovic, J. (2003). Mitogen-activated protein kinase signaling in the hippocampus and its modulation by corticotropin-releasing factor receptor 2: a possible link between stress and fear memory. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, *23*(36), 11436–11443.
- Seasholtz, A. F., Valverde, R. A., & Denver, R. J. (2002). Corticotropin-releasing hormone-binding protein: biochemistry and function from fishes to mammals. *J Endocrinol*, *175*(1), 89–97.
- Selye, H. (1946). The general adaptation syndrome and the diseases of adaptation. *Journal of Allergy*, *17*(6), 358–398. [https://doi.org/10.1016/0021-8707\(46\)90159-1](https://doi.org/10.1016/0021-8707(46)90159-1)
- Shaywitz, A. J., & Greenberg, M. E. (1999). CREB: a stimulus-induced transcription factor activated by a diverse array of extracellular signals. *Annual Review of Biochemistry*, *68*, 821–861. <https://doi.org/10.1146/annurev.biochem.68.1.821>

- Simon, M. I., Strathmann, M. P., & Gautam, N. (1991). Diversity of G proteins in signal transduction. *Science (New York, N.Y.)*, *252*(5007), 802–808.
- Sirianni, R., Mayhew, B. A., Carr, B. R., Parker, C. R., & Rainey, W. E. (2005). Corticotropin-releasing hormone (CRH) and urocortin act through type 1 CRH receptors to stimulate dehydroepiandrosterone sulfate production in human fetal adrenal cells. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, *90*(9), 5393–5400. <https://doi.org/10.1210/jc.2005-0680>
- Slater, P. G., Cerda, C. A., Pereira, L. A., Andrés, M. E., & Gysling, K. (2016). CRF binding protein facilitates the presence of CRF type 2 α receptor on the cell surface. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *113*(15), 4075–4080. <https://doi.org/10.1073/pnas.1523745113>
- Smagin, G. N., & Dunn, A. J. (2000). The role of CRF receptor subtypes in stress-induced behavioural responses. *European Journal of Pharmacology*, *405*(1–3), 199–206.
- Smith, R. (1998). Alterations in the hypothalamic pituitary adrenal axis during pregnancy and the placental clock that determines the length of parturition. *Journal of Reproductive Immunology*, *39*(1–2), 215–220.
- Somerville, L. H., Whalen, P. J., & Kelley, W. M. (2010). Human bed nucleus of the stria terminalis indexes hypervigilant threat monitoring. *Biological Psychiatry*, *68*(5), 416–424. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2010.04.002>
- Spierling, S. R., & Zorrilla, E. P. (2017). Don't stress about CRF: assessing the translational failures of CRF1 antagonists. *Psychopharmacology*, *234*(9–10), 1467–1481. <https://doi.org/10.1007/s00213-017-4556-2>
- Spiess, J., Dautzenberg, F. M., Sydow, S., Hauger, R. L., Rühmann, A., Blank, T., & Radulovic, J. (1998). Molecular properties of the CRF receptor. *Trends in*

- Endocrinology & Metabolism*, 9(4), 140–145. [https://doi.org/10.1016/S1043-2760\(98\)00037-X](https://doi.org/10.1016/S1043-2760(98)00037-X)
- Stewart, C. A., & Morris, R. G. M. (1993). The watermaze. *Behavioural Neuroscience*, 1, 107–122.
- Sutton, S. W., Behan, D. P., Lahrichi, S. L., Kaiser, R., Corrigan, A., Lowry, P., ... Vale, W. W. (1995). Ligand requirements of the human corticotropin-releasing factor-binding protein. *Endocrinology*, 136(3), 1097–1102. <https://doi.org/10.1210/endo.136.3.7867564>
- Takahashi, L. K. (2001). Role of CRF1 and CRF2 receptors in fear and anxiety. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 25(7), 627–636. [https://doi.org/10.1016/S0149-7634\(01\)00046-X](https://doi.org/10.1016/S0149-7634(01)00046-X)
- Taskén, K., & Aandahl, E. M. (2004). Localized effects of cAMP mediated by distinct routes of protein kinase A. *Physiological Reviews*, 84(1), 137–167. <https://doi.org/10.1152/physrev.00021.2003>
- Teli, T., Markovic, D., Levine, M. A., Hillhouse, E. W., & Grammatopoulos, D. K. (2005). Regulation of corticotropin-releasing hormone receptor type 1alpha signaling: structural determinants for G protein-coupled receptor kinase-mediated phosphorylation and agonist-mediated desensitization. *Molecular Endocrinology (Baltimore, Md.)*, 19(2), 474–490. <https://doi.org/10.1210/me.2004-0275>
- Tornatzky, W., & Miczek, K. A. (1993). Long-term impairment of autonomic circadian rhythms after brief intermittent social stress. *Physiology & Behavior*, 53(5), 983–993. [https://doi.org/10.1016/0031-9384\(93\)90278-N](https://doi.org/10.1016/0031-9384(93)90278-N)
- Ungless, M. A., Singh, V., Crowder, T. L., Yaka, R., Ron, D., & Bonci, A. (2003). Corticotropin-releasing factor requires CRF binding protein to potentiate NMDA

- receptors via CRF receptor 2 in dopamine neurons. *Neuron*, 39(3), 401–407.
[https://doi.org/10.1016/S0896-6273\(03\)00461-6](https://doi.org/10.1016/S0896-6273(03)00461-6)
- Vale, W., Spiess, J., Rivier, C., & Rivier, J. (1981). Characterization of a 41-Residue Ovine Hypothalamic Peptide that Stimulates Secretion of Corticotropin and β -endorphin. *Science*, 213, 1394–1397. <https://doi.org/10.1126/science.6267699>
- Valentino, R. J., & Commons, K. G. (2005). Peptides that fine-tune the serotonin system. *Neuropeptides*, 39(1), 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.npep.2004.09.005>
- Valentino, R. J., Foote, S. L., & Aston-Jones, G. (1983). Corticotropin-releasing factor activates noradrenergic neurons of the locus coeruleus. *Brain Research*, 270(2), 363–367. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(83\)90615-7](https://doi.org/10.1016/0006-8993(83)90615-7)
- Van Pett, K., Viau, V., Bittencourt, J. C., Chan, R. K. W., Li, H.-Y., Arias, C., ... Sawchenko, P. E. (2000). Distribution of mRNAs encoding CRF receptors in brain and pituitary of rat and mouse. *The Journal of Comparative Neurology*, 428(2), 191–212. [https://doi.org/10.1002/1096-9861\(20001211\)428:2](https://doi.org/10.1002/1096-9861(20001211)428:2)
- Vasconcelos, M., Stein, D. J., Albrechet-Souza, L., Miczek, K. A., & de Almeida, R. M. M. (2018). Recovery of stress-impaired social behavior by an antagonist of the CRF binding protein, CRF6–33, in the bed nucleus of the stria terminalis of male rats. *Behavioural Brain Research*. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2018.01.010>
- Vasconcelos, M., Stein, D. J., & Almeida, R. M. M. de. (2015). Social defeat protocol and relevant biomarkers, implications for stress response physiology, drug abuse, mood disorders and individual stress vulnerability: a systematic review of the last decade. *Trends in Psychiatry and Psychotherapy*, 37(2), 51–66. <https://doi.org/10.1590/2237-6089-2014-0034>
- Vaughan, J., Donaldson, C., Bittencourt, J., Perrin, M. H., Lewis, K., Sutton, S., ... Vale, W. (1995). Urocortin, a mammalian neuropeptide related to fish urotensin I and

- to corticotropin-releasing factor. *Nature*, 378(6554), 287–292.
<https://doi.org/10.1038/378287a0>
- Vinberg, M., Froekjaer, V. G., & Kessing, L. V. (2010). Coping styles in healthy individuals at risk of affective disorder. *The Journal of Nervous and Mental Disease*, 198(1), 39–44. <https://doi.org/10.1097/NMD.0b013e3181c84cc5>
- Vita, N., Laurent, P., Lefort, S., Chalon, P., Lelias, J.-M., Kaghad, M., ... Ferrara, P. (1993). Primary structure and functional expression of mouse pituitary and human brain corticotrophin releasing factor receptors. *FEBS Letters*, 335(1), 1–5.
[https://doi.org/10.1016/0014-5793\(93\)80427-V](https://doi.org/10.1016/0014-5793(93)80427-V)
- Walker, D. L., Miles, L. A., & Davis, M. (2009). Selective participation of the bed nucleus of the stria terminalis and CRF in sustained anxiety-like versus phasic fear-like responses. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 33(8), 1291–1308. <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2009.06.022>
- Walker, D. L., Toufexis, D. J., & Davis, M. (2003). Role of the bed nucleus of the stria terminalis versus the amygdala in fear, stress, and anxiety. *European Journal of Pharmacology*, 463(1–3), 199–216.
- Walter, A., Mai, J. K., Lanta, L., & Görös, T. (1991). Differential distribution of immunohistochemical markers in the bed nucleus of the stria terminalis in the human brain. *Journal of Chemical Neuroanatomy*, 4(4), 281–298.
[https://doi.org/10.1016/0891-0618\(91\)90019-9](https://doi.org/10.1016/0891-0618(91)90019-9)
- Wang, B., You, Z.-B., Rice, K. C., & Wise, R. A. (2007). Stress-induced relapse to cocaine seeking: roles for the CRF2 receptor and CRF-binding protein in the ventral tegmental area of the rat. *Psychopharmacology*, 193(2), 283–294.
<https://doi.org/10.1007/s00213-007-0782-3>

- Waselus, M., Nazzaro, C., Valentino, R. J., & Van Bockstaele, E. J. (2009). Stress-induced redistribution of corticotropin-releasing factor receptor subtypes in the dorsal raphe nucleus. *Biological Psychiatry*, *66*(1), 76–83. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2009.02.014>
- Westphal, N. J., & Seasholtz, A. F. (2006). CRH-BP: the regulation and function of a phylogenetically conserved binding protein. *Frontiers in Bioscience*, *11*, 1878–1891.
- Willner, P., Muscat, R., & Papp, M. (1992). Chronic mild stress-induced anhedonia: A realistic animal model of depression. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, *16*(4), 525–534. [https://doi.org/10.1016/S0149-7634\(05\)80194-0](https://doi.org/10.1016/S0149-7634(05)80194-0)
- Wood, S. K., McFadden, K. V., Grigoriadis, D., Bhatnagar, S., & Valentino, R. J. (2012). Depressive and cardiovascular disease comorbidity in a rat model of social stress: a putative role for corticotropin-releasing factor. *Psychopharmacology*, *222*(2), 325–336. <https://doi.org/10.1007/s00213-012-2648-6>
- Wood, S. K., Walker, H. E., Valentino, R. J., & Bhatnagar, S. (2010). Individual differences in reactivity to social stress predict susceptibility and resilience to a depressive phenotype: role of corticotropin-releasing factor. *Endocrinology*, *151*(4), 1795–1805. <https://doi.org/10.1210/en.2009-1026>
- Wood, S. K., Zhang, X.-Y., Reyes, B. A. S., Lee, C. S., Van Bockstaele, E. J., & Valentino, R. J. (2013). Cellular adaptations of dorsal raphe serotonin neurons associated with the development of active coping in response to social stress. *Biological Psychiatry*. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2013.01.026>
- Woods, R. J., Kemp, C. F., David, J., Sumner, I. G., & Lowry, P. J. (1999). Cleavage of Recombinant Human Corticotropin-Releasing Factor (CRF)-Binding Protein Produces a 27-Kilodalton Fragment Capable of Binding CRF. *The Journal of*

Clinical Endocrinology & Metabolism, 84(8), 2788–2794.

<https://doi.org/10.1210/jcem.84.8.5898>

Zorrilla, E. P., & Koob, G. F. (2004). The therapeutic potential of CRF1 antagonists for

anxiety. *Expert Opinion on Investigational Drugs*, 13(7), 799–828.

<https://doi.org/10.1517/13543784.13.7.799>

ANEXO A

Carta de aprovação dos experimentos conduzidos no Artigo Experimental 1



HCPA - HOSPITAL DE CLÍNICAS DE PORTO ALEGRE
GRUPO DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO

COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

A Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA/HCPA) analisou o projeto:

Projeto: 140136

Data da Versão do Projeto: 10/05/2014

Pesquisadores:

MARCIA KAUER SANT ANNA

ROSA MARIA MARTINS DE ALMEIDA

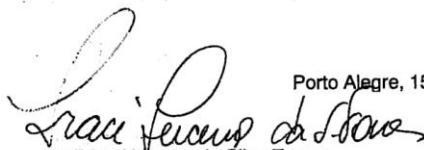
JULIO CESAR WALZ

MAILTON VASCONCELOS

Título: Derrota social e avaliação comportamental em ratos Wistar machos microinjetados por via intracerebroventricular com fator liberador de corticotropina

Este projeto foi APROVADO em seus aspectos éticos e metodológicos de acordo com as Diretrizes e Normas Nacionais e Internacionais, especialmente a Lei 11.794 de 08/10/2008, que estabelece procedimentos para o uso científico de animais.

- Os membros da CEUA/HCPA não participaram do processo de avaliação de projetos onde constam como pesquisadores.
- Toda e qualquer alteração do Projeto deverá ser comunicada à CEUA/HCPA.
- O pesquisador deverá apresentar relatórios semestrais de acompanhamento e relatório final ao CEUA/HCPA.


Profª Iraci Lucena da Silva Torres
Coordenadora CEUA/HCPA

Porto Alegre, 15 de julho de 2014.



**GRUPO DE PESQUISA E PÓS GRADUAÇÃO
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS**



Certificamos que o projeto abaixo, que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica, encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovada pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) e pelas áreas de apoio indicadas pelo pesquisador.

Projeto: 160392

Data de Aprovação do Projeto:

Título: PAPEL DO SISTEMA CERÉBRICO NO NÚCLEO LEITO DA ESTRIA TERMINAL NA MODULAÇÃO DE COMPORTAMENTOS ASSOCIADOS À ANSIEDADE EM RATOS WISTAR SUBMETIDOS A DERROTA SOCIAL

Pesquisador- Responsável: FLAVIO KAPCZINSKI

Equipe de pesquisa:

GIOVANA BRUM TEIXEIRA

MALTON VASCONCELOS

MALTON VASCONCELOS

Submissão	Documento	Especie/Linhagem	Sexo/Idade	Qtd.	Data Reunião	Situação
01/08/2016	APROVAÇÃO	RATO - WISTAR	M/50dias	124	09/08/2016	APROVADO
01/08/2016	APROVAÇÃO	RATO - WISTAR	F/50dias	12	09/08/2016	APROVADO

Total de Animais: 136

Coordenador

Comissão de Ética no Uso de Animais

- Os membros da CEUA/HCPA não participaram do processo de avaliação onde constam como pesquisadores.
- Toda e qualquer alteração do Projeto deveria ser comunicada à CEUA/HCPA.
- O pesquisador deverá apresentar relatórios semestrais de acompanhamento e relatório final ao CEUA/HCPA.

ANEXO B

Carta de aprovação dos experimentos conduzidos no Artigo Experimental 2