

## Avaliação da eficácia de inibidor da galectina-3 em modelos experimentais de ansiedade

**Autores: Maria Laura Correa Aneli<sup>1</sup>, Priscila de Freitas Lima<sup>2</sup>**

**Colaboradores: Yasmin Carolina Pereira<sup>3</sup>, Victor Hugo Elias de Oliveira<sup>4</sup>**

**<sup>1,2,3,4</sup>Centro Universitário Barão de Mauá**

<sup>1</sup>m.laura.aneli@hotmail.com - Medicina, <sup>2</sup>priscila.freitas@baraodemaua.br

### Resumo

A ansiedade impacta negativamente na saúde biopsicossocial do indivíduo. Seu tratamento consiste em benzodiazepínicos, de elevado potencial de adicção e tolerância, e antidepressivos. O presente estudo avaliou a eficácia do triazol-galactosil arilsulfadimetoxina em camundongos submetidos a testes comportamentais de ansiedade. Nas condições experimentais adotadas, o composto não apresentou efeitos ansiolíticos.

### Introdução

De acordo com a American Psychiatric Association (2014), define-se ansiedade patológica como um sentimento de angústia e medo intenso que a pessoa sente perante diversas situações no presente ou futuro, com duração maior de 6 meses, sem estar sob efeitos de drogas ou medicamentos, levando a prejuízo funcional na qualidade de vida e bem-estar emocional do indivíduo. Esta se diferencia da ansiedade natural do ser humano por ser desproporcional e não necessariamente ter um estímulo de perigo iminente que explicaria essa sensação (CASTILLO, *et al.* 2000). A etiologia da ansiedade na população brasileira é variada, podendo ser desencadeada pelo excessivo estresse do cotidiano, cobrança, traumas, abusos físicos e psicológicos, desemprego e até violência, o que acarreta posteriormente um aumento considerável do risco de doenças neurológicas e cardiovasculares como acidente vascular cerebral e infarto nesses indivíduos (LOPES; SANTOS, 2018).

Sob essa ótica, ao se elucidar a fisiopatologia da ansiedade, percebe-se que esta ocorre como resultado de atividades nos circuitos neurais que envolvem as amígdalas, os hipocampos e o córtex pré-frontal somadas à liberação do hormônio adrenocorticotrópico. Este hormônio hipofisário induz a secreção do cortisol que, por sua vez, interfere diretamente na codificação e na percepção do medo. Além disso, a ativação desse circuito promove a liberação da adrenalina e da

noradrenalina, sinalizadores que também irão estimular a liberação do hormônio cortisol. Faz-se importante destacar que, reconhecidamente, a exposição crônica a níveis elevados de cortisol promove disfunção neural, inclusive com indicadores de morte neuronal (LIRA *et al.*, 2021). Ademais, acrescenta-se que a análise do Sistema Nervoso Central (SNC) de mamíferos adultos aponta o ácido gama-aminobutírico (GABA) como principal neurotransmissor inibitório através de suas ações sobre sistemas de receptores ionotrópicos e metabotrópicos (GOLAN *et al.*, 2009). Nesse contexto, os receptores para GABA demonstram, em diversos estudos, envolvimento com mecanismos patológicos tais quais ansiedade, depressão, epilepsia e outros (KALUEFF; NUTT, 2007).

O tratamento base para ansiedade é representado atualmente pelos fármacos psicotrópicos da classe dos benzodiazepínicos, os quais apresentam efeito ansiolítico notável já nas primeiras semanas de uso, sendo resolutivos para, em média, 55% dos pacientes (LOPES; SANTOS, 2018). Tais medicamentos atuam modulando a ação GABAérgica de modo a potencializar os efeitos inibitórios em SNC. Porém, é sabido que há um significativo potencial de tolerância mediada pela diminuição de receptores GABA<sub>A</sub> nas sinapses e, dessa forma, após o uso estendido, o indivíduo pode desenvolver dependência e adicção somadas à redução na eficácia do medicamento. Além disso, é necessário ressaltar que, após uso crônico, a súbita cessação do uso de benzodiazepínicos pode desenvolver síndrome de abstinência, que se caracteriza por confusão, agitação e insônia (GOLAN *et al.*, 2009).

Outrossim, a fluoxetina, um fármaco antidepressivo pertencente à classe dos inibidores seletivos da recaptção de serotonina (ISRS), é uma outra opção amplamente aplicada para o tratamento de ansiedade. Segundo a meta-análise conduzida por SLEE e colaboradores (2019), estudos demonstraram eficácia e boa tolerância ao tratamento com fluoxetina, porém, os resultados são limitados por pequenos tamanhos da amostra. GOLAN *et al.* (2009) elucidou que o mecanismo de

ação da fluoxetina se dá pela inibição da recaptção de serotonina na fenda sináptica, o que provoca o aumento da ativação de receptores 5-HT e, conseqüentemente, maior resposta serotoninérgica. Todavia, é comum durante o tratamento de ansiedade com fármacos ISRS, o relato de disfunção sexual, alterações do peso corporal e queixas relacionadas ao sono (BALDWIN, *et al.*, 2011). Uma pesquisa clínica britânica corroborou que 46% da amostra interrompeu o uso de ISRS em média após 3,7 meses do início do tratamento em virtude de queixas de tais naturezas (CHOLLET; *et al.*, 2013).

As galectinas são proteínas carboidrato-específicas (lectinas) que se ligam a moléculas de  $\beta$ -galactose de glicoconjugados por meio de seus domínios de reconhecimento de carboidratos (CRD). Existem cerca de 15 tipos de galectinas em mamíferos, dentre as quais a galectina-3, classificada como quimérica, é uma das mais estudadas em decorrência do seu envolvimento em diversos eventos biológicos no organismo, tais como mediação das respostas inflamatória e imunomodulatória, e desenvolvimento/progressão tumoral (YANG *et al.*, 2008; CAMPO *et al.*, 2016).

No que concerne à participação da galectina-3 em processos neurológicos, estudos recentes apontam o envolvimento desta em desordens neurodegenerativas como Doença de Alzheimer e Esclerose Lateral Amiotrófica, nas quais níveis elevados de galectina-3 no soro e líquor de pacientes com estas patologias estão possivelmente correlacionados a um aumento de inflamação, apoptose e neurodegeneração (ASHRAF *et al.*, 2018). Além do mais, foi observado que pacientes com esquizofrenia apresentam níveis séricos elevados de galectina-3, o que pode explicitar uma associação entre progressão de inflamação induzida por galectina-3 e esta importante doença psiquiátrica. Desta forma, a galectina-3 pode atuar como um biomarcador em desordens neurológicas e psiquiátricas tais como as supracitadas, sendo que sua inibição representa um potencial alvo para o desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas frente a graves distúrbios neurocomportamentais (DONG *et al.*, 2018; SREJOVIC *et al.*, 2020; SOARES *et al.*, 2021). No âmbito da depressão e da ansiedade, diferentes trabalhos têm apontado para o envolvimento da galectina-3 em tais condições tanto avaliando-se pacientes quanto modelos experimentais (STAJIC *et al.*, 2019; SARTIM *et al.*, 2020; KING *et al.*, 2021).

Marchiori *et al.* (2017), descreveu a síntese das triazol galactosil arilsulfonamidas, potenciais inibidoras de galectina-3 e sua aplicação para a inibição da infecção parasitária de *Trypanosoma cruzi*. Contudo, a análise dos potenciais

terapêuticos de inibidores da galectina-3 nestas condições psiquiátricas ainda carece de investigações. Assim sendo, tais compostos poderão representar importantes ferramentas para a investigação de novas terapias frente a graves patologias psiquiátricas, as quais figuram entre atuais ações prioritárias em saúde dados seus impactos negativos sobre a sociedade.

## Objetivo

O presente trabalho teve como objetivo geral avaliar o potencial efeito ansiolítico do composto triazol-galactosil arilsulfadimetoxina administrado por gavagem (via oral) em camundongos submetidos a testes de ansiedade.

## Materiais e Métodos

### Tipo de estudo

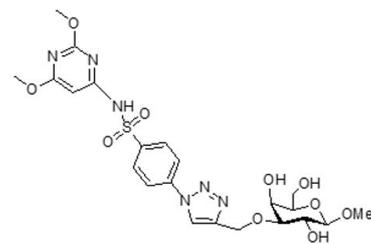
O presente trabalho caracteriza-se como *estudo experimental*.

### Composto arilsulfadimetoxina

### Triazol-galactosil

A síntese do composto Triazol galactosil arilsulfadimetoxina (Figura 1) seguiu protocolo publicado por Marchiori e colaboradores (2017). Todas as etapas analíticas foram conduzidas pela Profa Dra Vanessa Leiria Campo e equipe, numa parceria entre o Centro Universitário Barão de Mauá e a Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo.

**Figura 1 - Estrutura química do Triazol galactosil arilsulfadimetoxina**



Fonte: próprio autor

Para administração aos animais, o triazol galactosil arilsulfadimetoxina foi diluído em solução 0,05% dimetilsulfóxido (DMSO) em água destilada resultando na obtenção das três doses de teste 1mM, 0,1 mM e 0,01mM.

### Animais

Para a realização dos experimentos foram utilizados 43 camundongos machos, adultos jovens (peso aproximado de 30 gramas), todos pertencentes à linhagem Swiss. Os animais foram criados e mantidos pelo biotério do Centro

Universitário Barão de Mauá em caixas de polipropileno, agrupados em 5 animais por caixa, sob condições padronizadas de temperatura entre 24°C e 25°C, ciclo de luz claro-escuro com intervalos de 12h, água e ração sem restrições até alcançarem peso desejado.

### Aspectos éticos

Os experimentos foram conduzidos em conformidade com a aprovação sob o processo de número 460/22 do Comitê de Ética em Pesquisa e Experimentação Animal (CEPAN) do Centro Universitário Barão de Mauá.

### Testes comportamentais

O teste do labirinto em cruz elevado pauta-se na esquivada natural do roedor de lugares altos, iluminados e desprotegidos, sendo um teste amplamente empregado para avaliação de ansiedade (LISTER, 1987). Utilizou-se um aparato elevado acima do nível do chão composto por dois braços fechados opostos perpendicularmente a dois braços abertos. O animal foi colocado no centro do aparelho com a cabeça voltada para um dos braços fechados e o seu comportamento foi observado por 5 min (PELLOW *et al.*, 1985). A medida comportamental clássica registrada neste teste foi a exploração dos braços abertos (número de entradas e o tempo gasto). A entrada foi considerada quando o animal estava com as quatro patas em um dos braços abertos. Também foram registrados parâmetros etológicos para fins de maior sensibilidade do teste, tais como o número de estiramentos corporais protegidos e o número de imersões de cabeça no braço aberto, bem como o número de comportamentos de levantar (comportamento exploratório vertical) e de auto-limpeza (RODGERS *et al.*, 1995). Um aumento seletivo nos parâmetros correspondentes aos braços abertos revela um efeito tipo ansiolítico (PELLOW *et al.*, 1985).

O paradigma claro-escuro é baseado em uma situação de conflito, sem que haja a presença de um estímulo punitivo. O conflito se dá entre a tendência natural dos animais a explorar e a tendência inicial de se esquivar do que não é familiar. O comportamento aversivo dos animais foi produzido neste modelo pela novidade do ambiente e a iluminação. O aparato do teste da transição claro-escuro constituiu-se de uma caixa contendo dois compartimentos, um escuro e um iluminado (claro), com dimensões aproximadas de 220 x 223 x 220 (mm), interligados por uma abertura divisória, tendo sido inicialmente desenvolvido para avaliar os efeitos ansiolíticos de drogas benzodiazepínicas (TAKAO; MIYAKAWA, 2006).

O teste de campo aberto apresenta validade para mensurações de ansiedade e mobilidade em modelos de roedores. Foi utilizada uma arena circular com marcações de quadrantes em seu fundo, e para a realização do teste o animal foi posicionado no centro da arena. Tempo maior de permanência na periferia do campo aberto e aumento na atividade de defecação indicam ansiedade (SEIBENHENER; WOOTEN, 2015). O tempo de observação foi de 5 minutos, sendo o número de *crossing* (cruzamentos das linhas marcadas), o número de vezes em que o animal fica apoiado nas patas traseiras (*rearing*), a defecação do animal e o tempo despendido no centro e na periferia da arena, anotados. Este teste também fornece valiosas informações sobre tempo de mobilidade, distância percorrida e velocidade.

### Delineamento experimental

Primeiramente os camundongos, provenientes do biotério do Centro Universitário Barão de Mauá, passavam por um processo de aclimação na sala de experimentação. Para tanto, os animais eram colocados no referido ambiente 30 minutos antes do início dos protocolos, onde havia redução da intensidade da iluminação e atenuação de ruídos, além da temperatura mantida entre 24°C e 25°C. Os animais eram separados, um em cada caixa, para que fossem distinguidos por suas respectivas numerações. Após esse período de habituação, os animais recebiam os compostos previamente designados por meio da técnica de gavagem (via oral) conforme organização abaixo:

GRUPO VEÍCULO (n=8);  
GRUPO DIAZEPAM (n=7);  
GRUPO FLUOXETINA (n=7);  
GRUPO TRIAZOL 1mM (n=7) - triazol galactosil arilsulfadimetoxina 1mM;  
GRUPO TRIAZOL 0,1mM (n=7) - triazol galactosil arilsulfadimetoxina 0,1mM;  
GRUPO TRIAZOL 0,01mM (n=7) - triazol galactosil arilsulfadimetoxina 0,01mM;

Os animais retornavam às suas caixas, onde ficavam por mais 30 minutos até serem colocados no primeiro aparato de teste comportamental. Sendo assim, eles passavam por todas as etapas do experimento sob supervisão e filmagem para maior fidedignidade das análises. Entre um animal e outro, cada aparato era devidamente higienizado com álcool etílico 10% e secos em ar corrente. Além disso, os aparatos obedeceram a ordem: labirinto em cruz elevado, caixa claro-escuro e arena, e o tempo em cada um deles compreendeu um intervalo de 5 minutos. Ao final dessa sequência, os animais eram devolvidos às suas respectivas caixas, ainda na sala de experimentos,

para que então fossem levados a outra sala onde foi feita a indução de morte após 30 minutos de finalização dos experimentos.

Por fim, os animais eram anestesiados com xilazina (20 mg/kg) e ketamina (270 mg/kg) administrados por via intraperitoneal e, assim que perscrutado o efeito anestésico letal, eram coletadas as amostras de sangue através do plexo orbital, em seguida centrifugadas e o soro (cerca de 300 µL) posteriormente congelado.

### Análises de dados

Todos os experimentos foram integralmente gravados e esse material foi editado para ser analisado pelo *software* AnyMaze®. Desse modo, os dados coletados foram submetidos a uma análise estatística pela ANOVA de uma via pelo *software* GraphPad Prism 8®.

### Resultado e Discussão

Os experimentos se iniciaram com o teste do labirinto em cruz elevado (Figura 2), o qual visa avaliar principalmente a porcentagem de tempo em que o animal permanece no braço aberto e o número de entradas nele. Dessa forma, interpreta-se que quanto maior o tempo no braço aberto, menor é a ansiedade do animal, enquanto a quantidade de entradas no braço aberto avalia a atividade motora do camundongo, a fim de distinguir se o efeito observado não é devido a uma eventual sedação do animal.

Figura 2 – Teste do labirinto em cruz elevado

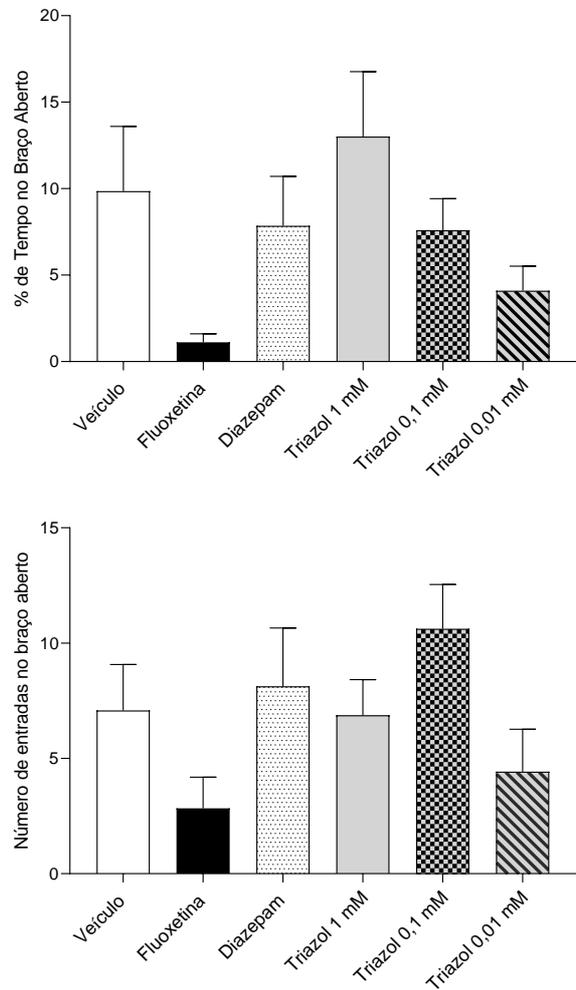


Fonte: acervo do autor

Em concordância com os resultados obtidos, analisados por ANOVA de uma via com teste de comparações múltiplas de Tukey, ao que se refere ao tempo em que o animal permaneceu no braço aberto e à quantidade de entradas nele (Figura 3), é possível inferir que não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos analisados. ANOVA de uma via: [% de tempo no braço aberto:  $F(5, 43) = 1,611$  ;  $p = 0,17$ ]; [número de entradas no braço aberto:  $F(5, 43) = 1,611$  ;  $p =$

0,17]. A partir da condução do teste de Grubbs os animais considerados *outliers* dentro do próprio grupo foram excluídos das análises.

Figura 3 – Resultados do teste do labirinto em cruz elevado



Fonte: o próprio autor

Em seguida, os animais foram submetidos ao teste da caixa claro-escuro (Figura 4), que por sua vez, avalia a porcentagem de tempo no compartimento claro, a qual corresponde à menor ansiedade do animal, bem como o número de transições entre claro e escuro, que avalia a atividade motora dele.

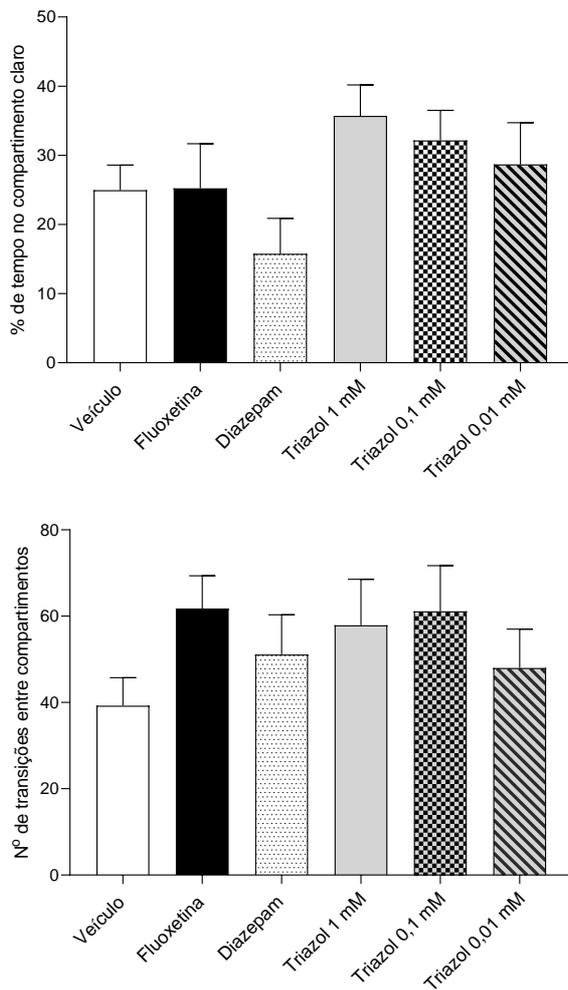
Figura 4 – Teste da caixa claro-escuro



Fonte: acervo do autor

Conforme os resultados obtidos, analisados por ANOVA de uma via com teste de comparações múltiplas de Tukey, ao que se refere à porcentagem de tempo no compartimento claro e ao número de transições entre os compartimentos (Figura 5), é possível inferir que não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos analisados. ANOVA de uma via: [% de tempo no claro:  $F(5,47) = 2,020$  ;  $p = 0,09$ ; número de transição:  $F(5,47) = 1,058$  ;  $p = 0,39$ ]. Nenhum animal foi considerado *outlier* dentro do próprio grupo (Teste de Grubbs).

**Figura 5 – Resultados do teste da caixa claro-escuro**



Fonte: o próprio autor

Por fim, os animais foram colocados no teste de campo aberto (Figura 6), no qual avalia-se a ansiedade pela porcentagem de tempo no centro do campo e exclui-se a sedação pela atividade locomotora, que corresponde à distância percorrida pelo animal ao longo do teste.

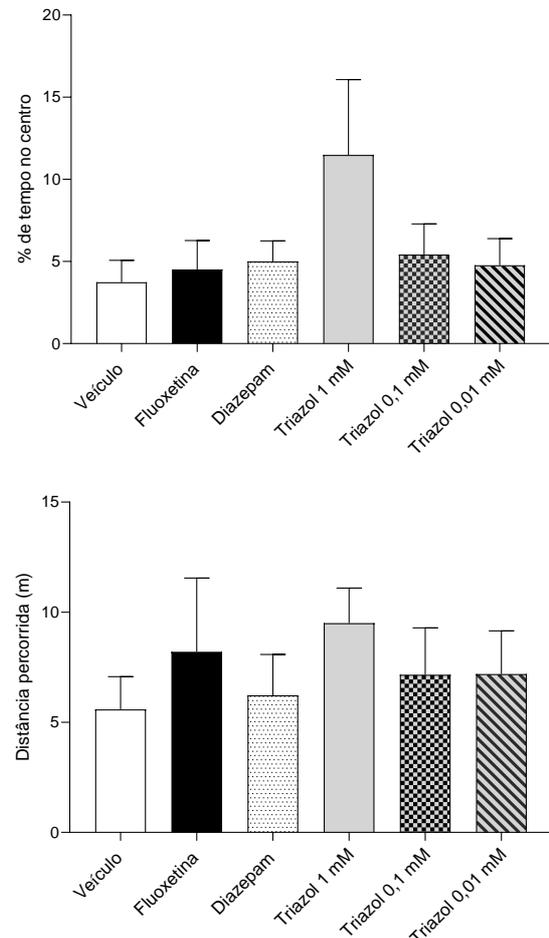
**Figura 6 – Teste do campo aberto**



Fonte: acervo do autor

De acordo com os resultados obtidos, analisados por uma ANOVA de uma via com teste de comparações múltiplas de Tukey, ao que se refere à porcentagem de tempo no centro do campo e à distância percorrida pelo animal (Figura 7), é possível inferir que não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos analisados. ANOVA de uma via: [% de tempo no centro:  $F(5, 44) = 1,436$ ;  $p = 0,23$ ; distância percorrida:  $F(5, 44) = 0,5611$  ;  $p = 0,73$ ]. A partir da condução do teste de Grubbs os animais considerados *outliers* dentro do próprio grupo foram excluídos das análises.

**Figura 7 – Resultados do teste do campo aberto**



Fonte: o próprio autor

## Conclusão

De acordo com os dados analisados é possível concluir que o inibidor de galectina-3 triazol galactosil arilsulfadimetoxina não apresentou efeitos ansiolíticos estatisticamente significativos em camundongos sob uso agudo por via oral. Contudo, compostos sintéticos inovadores podem ser opções promissoras para o uso adjuvante ou alternativo no tratamento da ansiedade, uma vez que suas equivalências nos efeitos ansiolíticos comparativamente a controles robustos (como o diazepam) podem representar uma opção a indivíduos que sofrem com a arresponsividade, toxicidade ou tolerância a benzodiazepínicos.

## Referências

- AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION. **Manual diagnóstico e estatístico de transtornos mentais: DSM-5**. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2014. Disponível em: <<http://www.institutopebioetica.com.br/documento-s/manual-diagnostico-e-estatistico-de-transtornos-mentais-dsm-5.pdf>>. Acesso em: 17 mar. 2023.
- ASHRAF, G. M.; BAEESA, S. S. Investigation of Gal-3 expression pattern in serum and cerebrospinal fluid of patients suffering from neurodegenerative disorders. **Frontiers in Neuroscience**, v. 12, p. 1-8, 2018. Disponível em: <<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fnins.2018.00430/full>>. Acesso em: 26 mar. 2023.
- BALDWIN, D. S.; WALDMAN, S.; ALLGULANDER, C. Evidence-based pharmacological treatment of generalized anxiety disorder. **The International Journal Of Neuropsychopharmacology**, v. 14, n. 05, p. 697-710, 2011. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21211105/>>. Acesso em: 28 mar. 2023.
- CAMPO, V. L.; MARCHIORI, M. F.; RODRIGUES, L. C. ; DIAS-BARUFFI, M. Synthetic glycoconjugates inhibitors of tumor-related galectin-3: an update. **Glycoconjugate Journal** , v. 1, p. 1-24, 2016. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27526114/>>. Acesso em: 20 mar. 2023.
- CASTILLO, A. R. GL.; RECONDO, R.; ASBAHR, F, R.; MANFRO G. G. Transtornos de ansiedade. **Brazilian Journal of Psychiatry**, v. 22, n. suppl 2, p. 20-23, 2000. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/rbp/a/dz9nS7gtB9pZFY6rkh48CLt/?lang=pt>>. Acesso em: 26 mar. 2023.
- CHOLLET, J.; SARAGOUSSI, D.; CLAY, E.; FRANÇOIS, C. A Clinical Research Practice Datalink Analysis of Antidepressant Treatment Patterns and Health Care Costs in Generalized Anxiety Disorder. **Value In Health**, v. 16, n. 8, p. 1133-1139, dez. 2013. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24326166/>>. Acesso em: 28 mar. 2023.
- DONG, R.; ZHANG, M.; QUNYING, H.; ZHENG, S.; SOH, A.; ZHENG, Y.; YUAN, H. Galectin-3 as a novel biomarker for disease diagnosis and a target for therapy (Review). **Int J Mol Med.**, v. 41, n. 2, p. 599-614, 2018. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29207027/>>. Acesso em: 26 mar. 2023.
- GOLAN, D.E., Tashjian, A.H., Armstrong, E.J., Armstrong, A.W. **Princípios de Farmacologia: A Base Fisiopatológica da Farmacoterapia**. 2ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2009.
- KALUEFF, A. V.; NUTT, D. J.. Role of GABA in anxiety and depression. **Depression And Anxiety**, [S.L.], v. 24, n. 7, p. 495-517, 2007. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17117412/>>. Acesso em: 25 mar. 2023.
- KING, D. R.; SALAKO, D. C.; ARTHUR-BENTIL, S. K.; RUBIN, A. E.; ITALIYA, J. B.; TAN, J. S.; MACRIS, D. G.; et al. Relationship between novel inflammatory biomarker galectin-3 and depression symptom severity in a large community-based sample. **J Affect Disord.**, v. 281, p. 384-389, 2021. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33352408/>>. Acesso em: 26 mar. 2023.
- LIRA, L. F. B. L. C.; ALVES, I. S. S.; GARROTE, M. A. R.; OLIVEIRA, S. G. Fisiopatologia do transtorno de ansiedade. **SEMPESq - Semana de Pesquisa da Unit - Alagoas**, n. 9, 2021. Disponível em: <[https://eventos.set.edu.br/al\\_sempesq/article/view/15165](https://eventos.set.edu.br/al_sempesq/article/view/15165)>. Acesso em: 26 mar. 2023.
- LISTER, R. G. The use of a plus-maze to measure anxiety in the mouse. **Psychopharmacology (Berl)**, v. 92, p. 180-5, 1987. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3110839/>>. Acesso em: 26 mar. 2023.

LOPES, K. C. DA S. P.; SANTOS, W. L. DOS. Transtorno de ansiedade. **Revista de Iniciação Científica e Extensão**, v. 1, n. 1, p. 45–50, 25 jun. 2018. Disponível em: <<https://revistasfasesa.senaaires.com.br/index.php/iniciacao-cientifica/article/view/47>>. Acesso em: 26 mar. 2023.

MARCHIORI, M.F.; RIUL, T.B.; OLIVEIRA, B. L.; ANDRADE, P.; JUNQUEIRA G. G.; FOCA, G.; DOTI, N.; RUVO, M.; DIAS-BARUFFI, M.; CAMPO, V.L. Binding of triazole-linked galactosyl arylsulfonamides to galectin-3 affects Trypanosoma cruzi cell invasion. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 25, n. 21, p. 6049-6059, 2017. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0968089617313664?via%3Dihub>>. Acesso em: 26 mar. 2023.

PELLOW, S.; CHOPIN, P.; FILE, S. E.; BRILEY, M. Validation of open: closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. **Journal of Neuroscience Methods**, v. 14, p. 149-16, 1985. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2864480/>>. Acesso em: 26 mar. 2023.

RODGERS, R.J.; CAO, B.-J.; DALVI, A.; HOLMES, A.. Animal models of anxiety: an ethological perspective. **Brazilian Journal Of Medical And Biological Research**, v. 30, n. 3, p. 289-304, mar. 1997. Disponível em: <<https://www.scielo.br/bjmb/a/dpZNzjvR5NfpwdXY4RS4sQz/?lang=en>>. Acesso em: 20 mar. 2023.

SARTIM, A. G.; SARTIM, M. A.; CUMMINGS, R. D.; DIAS-BARUFFI, M.; JOCA, S. R. Impaired emotional response to stress in mice lacking galectin-1 or galectin-3. **Physiol Behav.**, v. 220:112862, 2020. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32156558/>>. Acesso em: 26 mar. 2023.

SEIBENHENER, M. L.; WOOTEN, M. C. Use of the Open Field Maze to Measure Locomotor and Anxiety-like Behavior in Mice. **J Vis Exp.**; v. (96): 52434, 2015. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25742564/>>. Acesso em: 26 mar. 2023.

SLEE, A.; NAZARETH, I.; BONDARONEK, P.; LIU, Y.; CHENG, Z.; FREEMANTLE, N. Pharmacological treatments for generalised anxiety disorder: a systematic review and network meta-analysis. **The Lancet**, v. 393, n. 10173, p. 768-777, 2019. Disponível em: <[https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736\(18\)31793-8/fulltext](https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736(18)31793-8/fulltext)>. Acesso em: 28 mar. 2023.

SREJOVIC, I.; SELAKOVIC, D.; JOVICIC, N.; JAKOVLJEVIĆ, V.; LUKIC, M. L.; ROSIC, G. Galectin-3: Roles in Neurodevelopment, Neuroinflammation, and Behavior. **Biomolecules**, v. 21, n. 10(5), p. 798, 2020. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7277476/>>. Acesso em: 26 mar. 2023.

SOARES, L. C.; AL-DALAHMAH, O.; HILLIS, J.; YOUNG, C. C.; ASBED, I.; SAKAGUCHI, M.; O'NEILL, E.; SZELE, F. G. Novel Galectin-3 Roles in Neurogenesis, Inflammation and Neurological Diseases. **Cells**, v. 10, 3047, 2021. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8618878/>>. Acesso em: 26 mar. 2023.

STAJIC, D.; SELAKOVIC, D.; JOVICIC, N.; JOKSIMOVIC, J.; ARSENIJEVIC, N.; LUKIC, M. L.; ROSIC, G. The role of galectin-3 in modulation of anxiety state level in mice. **Brain Behav Immun.**, v. 78, p. 177-187, 2019. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30682502/>>. Acesso em: 26 mar. 2023.

TAKAO, K.; MIYAKAWA, T.; Light/dark transition test for mice. **J Vis Exp**, 2006. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18704188/>>. Acesso em: 16 mar. 2023.

YANG, R-Y., RABINOVICH, G.A., LIU, F-T.: Galectins: structure, function and therapeutic potential. **Expert Rev. Mol. Med.** 10, 2008. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18549522/>>. Acesso em: 26 mar. 2023.