

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA INTERINSTITUCIONAL DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
FISIOLÓGICAS (PIPGCF) UFSCar-UNESP**

**Administração do 8-OH-DPAT no septo dorso lateral de camundongos submetidos
ao labirinto em cruz elevado promove efeito ansiolítico que é revertido pelo pré-
tratamento local com WAY100635**

Helvia Arandas Monteiro e Silva

São Carlos - SP
2010

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA INTERINSTITUCIONAL DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
FISIOLÓGICAS (PIPGCF) UFSCar-UNESP**

**Administração do 8-OH-DPAT no septo dorso lateral de camundongos submetidos
ao labirinto em cruz elevado promove efeito ansiolítico que é revertido pelo pré-
tratamento local com WAY100635**

Helvia Arandas Monteiro e Silva

Dissertação apresentada ao Programa Interinstitucional de Pós-Graduação
em Ciências Fisiológicas UFSCar-UNESP, como parte dos requisitos para
obtenção do título de mestre em Ciências Fisiológicas

Orientadora: Prof^a Dr^a Azair Liane Matos do Canto de Souza

São Carlos - SP
2010

**Ficha catalográfica elaborada pelo DePT da
Biblioteca Comunitária da UFSCar**

M775as

Monteiro e Silva, Helvia Arandas.

Administração do 8-OH-DPAT no septo dorso lateral de camundongos submetidos ao labirinto em cruz elevado promove efeito ansiolítico que é revertido pelo prétratamento local com WAY100635 / Helvia Arandas Monteiro e Silva. -- São Carlos : UFSCar, 2010.

57 f.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal de São Carlos, 2010.

1. Neuropsicofarmacologia. 2. Ansiedade. 3. Sistema nervoso - cirurgia. 4. Serotonina. 5. Comportamento animal.
I. Título.

CDD: 616.8041 (20^a)

Programa Interinstitucional de Pós-Graduação em Ciências
Fisiológicas
Associação Ampla UFSCar/UNESP

Defesa de Dissertação de Helvia Arandas Monteiro e Silva

Profa. Dra. Azair Liane Matos do Canto de Souza.....

Azair Liane Matos do Canto de Souza

Profa. Dra. Cleopatra da Silva Planeta.....

Cleopatra da Silva Planeta

Profa. Dra. Carla Christina Medalha.....

Carla Christina Medalha

Dedico este trabalho à minha mãe, Dete, pelo incentivo e participação em todos os momentos da minha vida, sejam alegres ou tristes. A você, toda a minha gratidão e amor por tudo que fez e faz por mim.

AGRADECIMENTOS

À **Deus**, que nos deu o dom da vida e da sabedoria.

A prof. Dr^a **Azair Liane Matos do Canto de Souza**, pela sua orientação científica e dedicação.

À banca examinadora do que da qualificação, **Profa. Dra. Keico Okino Nonaka, Profa. Dra. Patricia Maria de Paula e Profa. Dra. Heloisa Sobreiro Selistre de Araújo**, pela atenção dispensada na leitura deste trabalho.

À banca examinadora da dissertação **Profa. Dra. Cleópatra da Silva Planeta e Profa. Dra. Carla Christina Medalha** pela atenção dispensada na leitura deste trabalho.

À técnica de laboratório **Adriana**, pela amizade e prontidão no auxílio do trabalho no biotério.

Aos meus irmãos, **Silas e Daniela** pelo carinho e apoio.

As minhas amigas que fiz nas repúblicas em que morei, **Daniela, Elenice e Fábio**, pela amizade, conselhos e conversas nos diversos momentos de convivência.

Aos colegas do laboratório, **Letícia, Fernando, Gabriel, Luciana, Vanessa, Ana, Daniela, Vinícius**, pela amizade e pelo apoio nas atividades realizadas.

Ao meu noivo **Marcelo** pelo amor, respeito e apoio às minhas escolhas.

Ao secretário **Alexandre** pela competência profissional na secretaria do Programa Interinstitucional de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas UFSCAR-UNESP.

À **Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo** pelo apoio financeiro (FAPESP – processo nº 2008/02347-0).

SUMÁRIO

1. RESUMO	8
2. ABSTRACT	9
3. INTRODUÇÃO	10
4. OBJETIVO	18
5. MATERIAL E MÉTODO	19
5.1 Sujeitos	19
5.2 Drogas	19
5.3 Cirurgia e microinjeção	20
5.4 Aparato e procedimento geral	21
5.5 Análise comportamental	21
5.6 Histologia	22
5.7 Ética	23
5.8 Delineamento experimental	23
5.9 Análise estatística	24
6. RESULTADOS	24
6.1 Histologia	24
6.2 Efeito da microinjeção de 8-OH-DPAT no Septo dorso lateral de camundongos expostos ao LCE	26
6.3 Efeito da microinjeção WAY100635 no Septo dorso lateral de camundongos expostos ao LCE	27
6.4 Efeito da microinjeção combinada no Septo dorso lateral de camundongos expostos ao LCE	28
7. DISCUSSÃO	32
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	38
9. APÊNDICES	48

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Representação esquemática dos sítios de microinjeção no septo dorsolateral de camundongos (Paxinos e Franklin, 2001).

Figura 2. Efeito do 8-OH-DPAT (veículo, 5,6 e 10 nmol/0,1ul) intra septo dorsolateral de camundongos sobre a frequência de entradas nos braços fechados e a porcentagem de entradas e de tempo gasto nos braços abertos do LCE. Os dados representam as médias (M) + erro padrão da média (E.P.M). $n = 11-14$.

* $P < 0,05$, comparado a salina (ANOVA de uma via seguida do teste de Duncan)

Figura 3. Efeito da injeção combinada de WAY 100635 (salina ou 5,6 nmol) e 8-OH-DPAT (salina, 5,6 ou 10 nmol) intra septo dorsolateral de camundongos sobre a frequência de entradas nos braços fechados e a porcentagem de entradas e de tempo gasto nos braços abertos do LCE. Os dados representam as médias (M) + erro padrão da média (E.P.M.). $n = 5 -8$.

* $P < 0,05$, comparado a salina (Sal+Sal).

$P < 0,05$, comparado a salina e 8-OH-DPAT 5,6 nmol (Sal + 8DPAT)

@ $P < 0,05$, comparado a WAY100635 e salina (WAY + Sal) (ANOVA de duas vias seguida do teste de Duncan)

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Efeito da microinjeção de 8-OH-DPAT (veículo, 5,6 ou 10 nmol/0,1 µl) no septo dorsolateral de camundongos avaliados no LCE. Os valores representam as médias e o erro padrão da média (M±EPM) dos demais comportamentos avaliados no LCE. NS = Não Significativo; $n = 11-14$

* $P < 0,05$, comparado à salina (ANOVA de uma via seguida do teste de Duncan).

Tabela 2: Efeito da microinjeção de WAY100635 (salina e 5,6 nmol/0,1 µl) no septo dorsolateral de camundongos avaliados no LCE. Os valores representam as médias e o erro padrão da média (M±EPM) dos demais comportamentos avaliados no LCE. NS = Não Significativo; $n = 8-10$.

Tabela 3: Efeito da injeção combinada de WAY100635 (salina e 5,6 nmol/0,1µl) e 8-OH-DPAT (salina, 5,6 ou 10 nmol/0,1µl) no septo dorsolateral de camundongos expostos ao LCE. Os valores representam as médias e o erro padrão da média (M±EPM) dos demais comportamentos avaliados no LCE, $n = 5-8$.

* $P < 0,05$, comparado a salina e salina (Sal+Sal).

$P < 0,05$, comparado a salina e 8-OH-DPAT 5,6 nmol (Sal + 8DPAT)

@ $P < 0,05$, comparado a WAY100635 e salina (WAY + Sal) (ANOVA de duas vias seguida do teste de Duncan)

1. RESUMO

As pesquisas sobre ansiedade envolvem frequentemente o uso de modelos animais para investigação de compostos terapêuticos. Assim, o labirinto em cruz elevado (LCE) é um dos modelos mais utilizados em pesquisas que envolvem ansiedade e já foi validado para ratos e camundongos. A serotonina (5-HT) é um neurotransmissor envolvido não só na ansiedade, mas também em outros distúrbios. Alguns relatos na literatura mostram que o aumento da potência e seletividade dos agonistas revela que os receptores 5-HT_{1A} estão envolvidos nos mecanismos de alterações comportamentais, por exemplo, na ansiedade. Portanto, o presente estudo teve o objetivo de avaliar os efeitos do agonista e antagonista de receptores 5-HT_{1A}, administrados intra-septo dorsolateral em camundongos expostos ao LCE. Os efeitos comportamentais foram examinados pelas análises convencionais e etológicas das sessões (gravadas) de teste. No experimento 1, a maior dose do agonista 8-OH-DPAT(10nmol) promoveu efeito ansiolítico, enquanto que a menor dose testada (5,6nmol) não promoveu efeito. No experimento 2, a injeção do antagonista WAY-100635 (5,6nmol) não alterou nenhum dos índices convencionais de ansiedade. No experimento 3, o pré-tratamento com WAY-100635 (5,6nmol) reverteu o efeito ansiolítico das duas doses de 8-OH-DPAT (5,6 e 10nmol). Os resultados obtidos mostraram que o efeito ansiolítico promovido pelo agonista dos receptores 5-HT_{1A} foi bloqueado pela administração local de WAY-100635, antagonista do mesmo receptor.

2. ABSTRACT

Research on anxiety often involves the use of animal models for investigation of therapeutic compounds. Thus, the elevated plus maze (EPM) is one of the most commonly model used in research involving anxiety and it has been validated for rats and mice. Serotonin (5-HT) is a neurotransmitter involved not only in anxiety but also in other disorders. Some reports show that increasing the potency and selectivity of agonists demonstrates that the 5-HT_{1A} receptors are involved in mechanisms of behavioral changes, for example, anxiety. Therefore, the aim of the present study was to evaluate the effects of agonist and antagonist of 5-HT_{1A} receptors, administered intradorsolateral septum in mice exposed by LCE. The behavioral effects were examined by conventional and ethological analysis of the sessions (tripped) test. In experiment 1, the highest dose of the agonist 8-OH-DPAT (10nmol) induced anxiolytic effect, whereas the lowest dose tested (5.6 nmol) did not provide effect. In experiment 2, injection of the antagonist WAY-100 635 (5.6 nmol) did not alter any of the conventional indices of anxiety. In experiment 3, pretreatment with WAY-100 635 (5.6 nmol) reversed the anxiolytic effect of the two doses of 8-OH-DPAT (5.6 and 10nmol). The results showed that the anxiolytic effect promoted by the agonist of 5-HT_{1A} receptors was blocked by local administration of WAY-100 635, the same receptor antagonist.

3. INTRODUÇÃO

Desde o século XIX, têm sido realizados estudos em busca da compreensão do substrato neural da ansiedade, quando fármacos tais como os sais de bromo passaram a ser utilizados no tratamento da ansiedade patológica (Graeff e Guimarães, 1999).

Com a evolução dos tratamentos farmacológicos e a descoberta de novos fármacos tais como os barbitúricos (fenobarbital e meprobamato), os benzodiazepínicos e, mais recentemente, os compostos não-benzodiazepínicos como a buspirona, novas técnicas de experimentação foram criadas, entre elas pode ser citada a estimulação química do sistema nervoso, em seres humanos e em modelos animais experimentais (Graeff e Guimarães, 1999).

Os mecanismos de defesa diante de situações de perigo têm particular importância no repertório adaptativo da maior parte dos animais. As reações de um animal quando confrontado a uma ameaça à sua integridade são altamente estereotipadas na maioria das espécies. Em um ambiente novo, potencialmente perigoso, os animais apresentam comportamentos de avaliação de risco e, uma vez definido o perigo real, comportamentos de fuga ou luta contra o agressor, sendo que essas respostas comportamentais são geralmente acompanhadas de intensas alterações neurovegetativas e hormonais (Blanchard et al., 1988, 1990; Graeff, 1990).

A ansiedade, sob este ponto de vista, pode ser considerada como um estado emocional subjetivo de apreensão ou tensão que pode ser vivenciada como desagradável ou ameaçadora, sendo que a ameaça pode ser representada por um estímulo que evoca

uma resposta inata ou respostas aprendidas. Todavia a ansiedade também pode ser considerada como um estado emocional essencial dentro do repertório afetivo humano, uma vez que um determinado grau de ansiedade é necessário para o bom desempenho em tarefas de natureza motora e cognitiva (Nutt, 1990; Dractu e Lader, 1993; Graeff, 1999). No livro de Charles Darwin “A expressão das emoções no homem e nos animais” publicado em 1972, a ansiedade é vista como a busca do valor adaptativo de processos psicológicos e comportamentais. Assim, neste caso ela pode ser apresentada como um sentimento que garante a sobrevivência da espécie humana (Schmitt e Kapczinski, 2004).

A ansiedade apresenta sinais e sintomas similares aos do medo. No entanto, ela não se encontra claramente associada a um único estímulo desencadeador, ao contrário, caracteriza-se por um estado de apreensão que ocorre em circunstâncias onde o perigo não é evidente, havendo, portanto um componente de incerteza, e perdura por longo tempo. Em situações de conflito também existe ansiedade, porque um mesmo comportamento pode ser simultaneamente recompensado e punido. Ou ainda em situações novas, onde a ansiedade inibe o comportamento exploratório motivado pela curiosidade (Graeff, 1989).

Um dos modelos animais mais utilizado para o estudo da ansiedade generalizada é o labirinto em cruz elevado (LCE). Ele se baseia na medida de todas as categorias comportamentais, que refletem o conflito resultante da tendência dos animais de explorar ambientes desconhecidos e evitar situações potencialmente perigosas (para revisão, Carobrez e Bertoglio, 2005; Pinheiro et al, 2007). Sua ampla utilização é

resultado da eficiência e facilidades desse teste, pois ele detecta os efeitos de drogas ansiolíticas e ansiogênicas e também inclui um procedimento simples e rápido, baseado no comportamento espontâneo do animal e ainda não necessita de uso de estímulos nociceptivos, ou privação de água e alimento (Pellow et al, 1985). Este modelo validado para ratos (Handley e Mithani, 1984; Pelow et al, 1985) e camundongos (Stephens et al, 1986; Lister, 1987) é baseado na aversão natural dos roedores a espaços abertos e abrange o estudo de padrões exploratórios em um labirinto simples, compreendendo quatro braços, dos quais dois tem paredes (braços fechados) e dois não (braços abertos). Assim os níveis de ansiedade no LCE são avaliados pela esquivas aos braços abertos (porcentagens de entradas e de tempo gasto nos braços abertos), ao passo que a atividade geral é avaliada pela frequência absoluta de entrada nos braços fechados (Pellow et al, 1985; Lister, 1987).

Os processos emocionais no geral são controlados pelo sistema límbico. Este é um sistema em forma de anel cortical, contínuo, que contorna as formações inter hemisféricas. Está relacionado fundamentalmente com a regulação dos processos Emocionais e o Sistema Nervoso Autônomo. Foi considerado por Broca (1878) como lobo independente. Alterações fisiológicas e patológicas no sistema límbico implicam em mudanças comportamentais como alteração no estado de ansiedade (Davis, 1992; Gray, 1982, 1991). Este sistema está associado com a integração superior de informação visceral, olfatória e somática e elementos subjetivos e expressivos em respostas emocionais.

O septo o qual faz parte do sistema límbico possui duas grandes subdivisões rostrais ao fórnix: o núcleo septal lateral e núcleo septal medial, cada um com distintas conexões aferentes e eferentes. Com base em critérios de desenvolvimento, conexão e citoarquitetura, o septo pode ser dividido em 4 partes principais: (1) a porção medial, que se projeta para o hipocampo; (2) a porção lateral, que recebe aferências do mesmo; (3) a divisão ventral que compreende o núcleo basal da estria terminal (relacionada anatomicamente com a amígdala); (4) a divisão posterior, que inclui os núcleos habenulares e interpedunculares, que se relacionam com o hipocampo (Endepols et al., 2005).

Os tratamentos farmacológicos da ansiedade percorreram um longo caminho desde os primeiros tratamentos com brometos e barbitúricos, até o surgimento de fármacos mais eficazes e menos tóxicos, como os benzodiazepínicos e outros ansiolíticos seletivos. Sabe-se atualmente que os mecanismos gabaérgicos estão profundamente implicados no controle da ansiedade. No entanto, a identificação de estruturas e sistemas específicos envolvidos no controle deste processo foi um trabalho difícil, pois a distribuição dessas projeções gabaérgicas é extensa (Barone et. al, 1991). Hoje se sabe que os receptores benzodiazepínicos estão amplamente distribuídos em todo sistema nervoso central em particular em algumas estruturas do sistema límbico, por exemplo, o septo (Winson, 1978). E de acordo com Pesold & Treit (1996) os receptores GABA-benzodiazepínicos estão especialmente localizados no núcleo septal, mais especificamente na região lateral.

Neste sentido, estudos demonstraram que ratos submetidos à lesão do núcleo septal medial apresentaram aumento do comportamento de submissão enquanto animais com lesão do núcleo septal lateral apresentavam elevada agressividade e hiperemocionalidade (Poplawski e Johnson, 1973).

Evidências também têm apontado para o papel do septo na modulação da ansiedade. Assim, alguns autores têm demonstrado que a infusão de midazolam, agonista GABA-benzodiazepínico, no septo de ratos produziu aumento da entrada nos braços abertos do labirinto em cruz elevado e diminuiu o comportamento de retirada no teste esconder defensivo “shock probe”, enquanto que a mesma infusão na amígdala não causou nenhum desses efeitos (Pesold e Treit, 1994). Além disso, lesões no septo principalmente na região lateral de ratos avaliados em dois testes comportamentais, o labirinto em cruz elevado e o esconder defensivo, produziram diminuição da ansiedade (Pesold e Treit, 1996).

Além dos receptores GABA-benzodiazepínicos vários outros sistemas de neurotransmissores estão envolvidos na modulação da ansiedade, como por exemplo, receptores glutamatérgicos, dopaminérgicos e serotoninérgicos. A serotonina (5-hidroxitriptamina ou 5-HT) é uma molécula sinalizadora evolutivamente antiga e tem papel no desempenho em um vasto número de funções em muitas espécies animais e vários tecidos (Cambraia, 2004). Várias respostas comportamentais são moduladas por este neurotransmissor, tais como, alimentação, sono (Jouvet, 1967), termorregulação e agressão (Sheard, 1969).

Desde quando foi descoberta há 50 anos, foi demonstrado que a serotonina possui um grande número de diferentes ações fisiológicas, o que não é surpreendente dada à variedade de tipos de receptores. Além disso, a 5-HT é conhecida por interagir com outros sistemas de neurotransmissores, como por exemplo, sistema dopaminérgico e GABAérgico (Cabraia, 2004). O papel da 5-HT na ansiedade tem sido grande objeto de estudo, principalmente sobre a hipótese de que 5-HT promove ansiedade e, portanto que drogas que reduzem a atividade de 5-HT são agentes ansiolíticos (Handley, 1995).

Os receptores de serotonina estão divididos em 7 famílias (5-HT₁ a 5-HT₇), sendo ainda subdivididos em 14 subtipos (5-HT_{1A}, 5-HT_{1B}, 5-HT_{1D}, 5-HT_{1E}, 5-HT_{1F}, 5-HT_{2A}, 5-HT_{2B}, 5-HT_{2C}, 5-HT₃, 5-HT₄, 5-HT_{5A}, 5-HT_{5B}, 5-HT₆ e 5-HT₇) (Barnes e Sharp, 1999). Dentre todos os subtipos de receptores, muitos estudos têm focado o envolvimento dos receptores do subtipo 5-HT_{1A} (Menard e Treit, 1998; Nunes-de-Souza et al, 2000; Canto-de-Souza et al, 2002), 5-HT₂ (Cornélio e Nunes-de-Souza, 2008), 5-HT₃ (Fachini e Canto-de-Souza, 2006 e 2007; Marucci e Canto-de-Souza, 2006;) e 5-HT₄ (Kennett et al, 1997) nos mecanismos de ansiedade.

Os neurônios do sistema nervoso central contendo 5-HT estão concentrados na linha média da região da rafe do tronco encefálico. Nos núcleos mediano (NMR) e dorsal da rafe é encontrada a origem da maioria das fibras serotoninérgicas que inervam estruturas do sistema nervoso central (Adell et al., 2002).

Estudos sobre o papel da serotonina nos receptores 5-HT_{1A} do septo lateral em ratos, nas diferentes respostas de ansiedade, sugerem que estes receptores na citada estrutura estão envolvidos no controle inibitório comportamental e que falhas neste

mecanismo regulatório podem ser de grande importância na compreensão do mecanismo do transtorno da ansiedade generalizada (Viana et al., 2007).

Devido aos diferentes resultados obtidos com a administração sistêmica ou central de serotonina, Deakin e Graeff (1991) propuseram uma hipótese que sugere um papel dual da serotonina na modulação de respostas defensivas, levando em consideração diferenças anatômicas e funcionais das vias serotoninérgicas e os diferentes subtipos de receptores envolvidos. Estes autores enfatizaram que a serotonina tem um papel ansiogênico na amígdala e sua ação ansiolítica na substância cinzenta periaquedutal dorsal (SCPd).

Resultados obtidos com testes de conflito em animais de laboratório indicam que a 5-HT aumenta a ansiedade, enquanto que a estimulação aversiva da SCP aponta para um papel ansiolítico. Para resolver esta contradição, sugeriu-se que os estados emocionais determinados pelos dois paradigmas são diferentes. Testes de conflito gerariam ansiedade antecipatória, enquanto que a estimulação da SCP produziria medo de perigo iminente (Graeff, 2003).

Dentre os subtipos de receptores de serotonina, os receptores 5-HT_{1A} se destacam por estarem envolvidos na etiologia de inúmeras desordens neuropsiquiátricas, como por exemplo, a ansiedade (Murphy et al., 1990 e Maes et al., 1995).

A ativação dos receptores 5-HT_{1A} por drogas agonistas causa redução da concentração de serotonina nos neurônios devido à supressão da síntese da mesma (Jolas et al., 1993), apresentando assim caráter ansiolítico. As substâncias antagonistas são de caráter ansiogênico (Fletcher et al., 1996). Os receptores 5-HT_{1A} pré-sinápticos são

encontrados nos núcleos medianos e dorsais da rafe e projetam-se para outras localidades no encéfalo. Os receptores pós-sinápticos são encontrados geralmente nas regiões límbicas como hipocampo e septo e também áreas do córtex (Bohmarker et al., 1993).

Canto-de-Souza, et al., (2002) relataram que microinjeções de WAY 100635, antagonista seletivo dos receptores 5-HT_{1A} no núcleo mediano da rafe (NMR), diminuíram os índices de ansiedade em camundongos expostos ao LCE. Sabe-se que o WAY 100635 aumenta a taxa de disparos de neurônios serotoninérgicos ao bloquear os auto-receptores somatodendríticos do tipo 5-HT_{1A} (Fornal et al, 1996; Munday et al, 1996; Hajós et al, 2001). Assim, este efeito ansiolítico obtido no NMR pode ser devido a uma desinibição na liberação de serotonina em sítios pós-sinápticos, aumentando assim a sua disponibilidade deste neurotransmissor em nestes sítios.

Levando em consideração esta hipótese, estes autores afirmaram que esta resposta não pode ser atribuída ao aumento da atividade serotoninérgica nos receptores do subtipo 5-HT_{1A} e 5-HT₂ do hipocampo e da amígdala, dado o conhecido efeito ansiogênico da serotonina nestes sítios em ratos (Cruz et al, 1994; Alves et al, 2004) e camundongos (Nunes-de-Souza et al, 2000; Nunes-de-Souza et al, 2002; Cornélio e Nunes-de-Souza, 2008). Entretanto, outros sítios, recebem projeções serotoninérgicas do NMR e neste sentido estudos têm demonstrado que a substância cinzenta periaquedutal (SCP) e o hipocampo ventral podem ser um desses sítios.

Assim, foi verificado que a desinibição na liberação de serotonina em sítios pós-sinápticos pode ser consequência do aumento da liberação de serotonina agindo sobre os

receptores 5-HT_{2C} da SCP, uma estrutura chave na neurocircuitaria do sistema defensivo (Nunes-de-Souza et al, 2008). Além disso, pode ser devido ao bloqueio dos receptores 5-HT₃ do hipocampo ventral (Fachini e Canto-de-Souza et al, 2007) e não da amígdala (Marucci e Canto-de-Souza, 2006).

Porém, permanece desconhecido se o septo pode ser uma dessas estruturas límbicas onde a serotonina esteja exercendo sua ação de desinibição comportamental, pois também recebe projeções serotonérgicas dos núcleos da rafe.

4. OBJETIVO

Diante do exposto acima o objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito da administração do 8-OH-DPAT e WAY-100635, agonista e antagonista dos receptores 5HT_{1A}, respectivamente no septo dorso-lateral de camundongos submetidos ao labirinto em cruz elevado.

5. MATERIAL E MÉTODO

5.1 Sujeitos

Foram utilizados camundongos machos, da linhagem suíço albino, 5-6 semanas de vida, pesando entre 25-30 g e provenientes do biotério da Universidade Federal de São Carlos-UFSCar. Os animais foram alojados em grupos de 10 por caixa (41 x 34 x 16 cm), mantidos sob condições controladas de temperatura ($24 \pm 1^\circ\text{C}$), umidade ($55 \pm 5\%$), luz (ciclo claro/escuro de 12/12 horas, com luzes acesas às 7:00 e apagadas às 19:00 horas) com livre acesso à água e comida, exceto durante as breves sessões do teste. O experimento foi realizado durante a fase clara do ciclo de luz (09:00-16:00 h).

5.2 Drogas

Foi utilizado o agonista dos receptores 5-HT_{1A}, 8-OH-DPAT, [(±)-8-hidroxi-2-(di-n-propilamino) tetralin] hidrobromida, RBI, PM: 328,3g, nas concentrações de (5,6 e 10 nmol/0,1µl) dissolvido em veículo (salina com Tween 80, usado como controle). Foi utilizado o WAY100635 (N-{2[4-(2-metoxifenil)-1-piperazinil]etil}-N-(piridinil) cicloexanecarboxamida trihidroclorada), antagonista dos receptores 5-HT_{1A}, Sigma, PM: 538,6g, na concentração de (5,6 nmol/0,1µl e salina como controle). As doses foram selecionadas segundo estudos anteriores (Nunes-de-Souza et al, 2000; Canto-de-Souza et al, 2002).

5.3 Cirurgia e microinjeção

Após anestesia com uma solução de cetamina (0,05g/0,4ml) e xilazina (0,004g/0,18ml) intraperitonealmente (i.p.) e lidocaína sob a pele da cabeça, os animais receberam implantação estereotáxica (Insight) de uma cânula-guia (25-gauge) de 7 mm de comprimento no septo dorsolateral. As coordenadas foram selecionadas de acordo com o Atlas de Franklin e Paxinos (1987): Antero-posterior = 0,08mm, Lateral = 0,20mm e Ventral = 1,4mm ao bregma, com ângulo de implantação de 20°. A cânula foi fixada ao crânio com cimento acrílico e selada com mandril para proteção. Após quatro ou cinco dias de recuperação, os sujeitos foram submetidos à injeção unilateral no septo dorso-lateral, com a utilização de uma agulha de 9,0 mm, acoplada a um tubo de polietileno, conectada a uma seringa Hamilton de 10 µl. Uma bomba de infusão (Insight BI 2000 – Equipamentos Científicos Ltda, Brasil) foi programada para injetar 0,1 µl de solução durante um período de 60 segundos.

O procedimento de injeção consistiu na remoção do mandril, inserção da agulha de injeção, injeção da solução por 60 segundos, permanência da agulha de injeção por 90 segundos após o término da injeção e inserção do mandril enquanto o animal foi contido gentilmente pelo examinador, manualmente. O movimento de uma pequena bolha de ar no tubo de polietileno antes, durante e depois da injeção confirmou o fluxo da solução (Nunes-de-Souza et al, 2000).

5.4 Aparato e procedimento geral

O labirinto em cruz elevado (LCE) consiste de dois braços abertos (30 x 5 x 0.25 cm) e dois braços fechados (30 x 5 x 15 cm) unidos ortogonalmente à uma plataforma central (5 x 5 cm). O aparato foi construído com vidro transparente, elevado a 38,5 cm do solo por um suporte de madeira (modificado de Lister, 1987). Todos os testes foram conduzidos durante a fase clara do ciclo de luz (9:00-16:00 h) em condições moderadas de iluminação (77 lux).

5.5 Análise comportamental

Os comportamentos foram avaliados pela análise das fitas gravadas, por um observador treinado, usando um programa de análise etológica X-plorat versão 3.0 (Garcia et al, 2005). Os comportamentos analisados envolveram tanto os parâmetros convencionais (Lister, 1987), quanto os etológicos (Cruz et al, 1994; Rodgers e Johnson, 1995).

Medidas convencionais: Frequência de entradas nos braços abertos e fechados (a entrada em um braço é definida pelo cruzamento com todas as quatro patas para dentro do braço) e duração do tempo gasto nestes compartimentos e na plataforma central. Estes dados foram usados para o cálculo da porcentagem de entradas e do tempo de permanência dos animais nos braços abertos (Entradas: $[\text{aberto} / \text{total}] \times 100$; Tempo $[\text{tempo no compartimento} / 300] \times 100$).

Medidas etológicas: Frequência e duração de levantamentos (elevação do corpo sobre as patas traseiras), mergulhar a cabeça (head-dipping - frequência de movimentos

exploratórios da cabeça/ ombros em direção ao solo), posturas de esticar o corpo (stretched attend postures (SAP) - frequência de esticar o corpo e retrá-lo à posição original, sem a ocorrência de locomoção e imobilidade (ausência de atividade locomotora nos membros dianteiros/traseiros e corpo, exceto movimentação respiratória). Como os sinais de tigmotatismo são importantes para a exploração no LCE (Treit et al., 1993), os comportamentos de mergulhar a cabeça e esticar o corpo serão diferenciados quanto ao local de sua ocorrência no labirinto. Os braços fechados e a plataforma central são normalmente designados como áreas “protegidas” do labirinto e os dados coletados nestes compartimentos serão mostrados no total e como porcentagem ($[\text{protegido}/ \text{total}] \times 100$) de cada comportamento.

5.6 Histologia

Após o término dos experimentos todos os animais receberam injeção central de 0,1 µl de uma solução de 1% de azul de metileno, de acordo com o procedimento descrito para a injeção de drogas. Os animais receberam uma superdosagem de anestésico, foram então decapitados, seus cérebros removidos e acomodados em recipientes contendo solução de formol (10%) para posteriormente utilizando o micrótomo (criostato ANCAP 300), sofrerem secções coronais de 70 micrômetros (µm) ao longo do trajeto da cânula. As secções foram inspecionadas com o uso de um microscópio (Olympus B202) e a visualização da dispersão do azul de metileno indicou o local da injeção. Os animais cujas injeções não atingiram o septo foram excluídos do estudo.

5.7 Ética

Os experimentos foram realizados seguindo as recomendações da Sociedade Brasileira de Neurociências e Comportamento (SBNeC) baseada no US National Institutes of Health *Guide for Care and Use of Laboratory Animals* e aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa com animais da Universidade Federal de São Carlos-UFSCar (Nº 023/2008).

5.8 Delineamento experimental

- **Experimento 1:** Administrações intra-SDL de 8-OH-DPAT (veículo ; 5,6 e 10nmol)
- **Experimento 2:** Administrações intra-SDL de WAY100635 (salina ; 5,6 nmol)
- **Experimento 3:** Administrações combinadas intra-SDL de WAY100635 (5,6 nmol) e 8-OH-DPAT (5,6 e 10 nmol)

No experimento 1 e 2 foram feitas administrações do fármaco ou controle (salina ou veículo) , espera de 5 minutos e então o animal era colocado na plataforma central do labirinto e permanecia neste aparato por mais 5 minutos sendo toda a sessão gravada. No experimento 3 foi feita a injeção do controle ou antagonista, espera de 5 minutos para posterior injeção do controle ou agonista, espera por mais 5 minutos para então colocar o animal no aparato e a sessão ser gravada por 5 minutos.

5.9 Análise estatística

Todos os dados foram inicialmente submetidos ao teste de homogeneidade de Levene, e quando apropriado, os dados foram transformados em raiz quadrada, cúbica ou log de 10. Posteriormente, os dados do experimento 1, foram submetidos à análise de variância (ANOVA) de um fator (tratamento). Os dados do experimento 2 foram submetidos ao teste t para amostras independentes. E os dados do experimento 3, foram submetidos à análise de variância de dois fatores (fator 1: pré-tratamento x fator 2: tratamento), seguidos pelo teste de comparações múltiplas de Duncan. Em todos os casos, os valores de p inferiores a 0,05 foram considerados significativos.

6. RESULTADOS

6.1 Histologia

A análise histológica confirmou um total de 75% de acerto após os testes, ou seja, 90 camundongos com canulação positiva no septo dorso lateral (Figura 1).

Desses, trinta e seis camundongos foram utilizados para investigar os efeitos da microinjeção no SDL de 8-OH-DPAT [Experimento 1: veículo (n = 11), 8-OH-DPAT 5,6 nmol (n = 14) e 10 nmol (n = 11)] sob os comportamentos de ansiedade no LCE;

Dezoito animais foram utilizados para investigar os efeitos da injeção intra-SDL de WAY100635 [Experimento 2: salina (n = 10), WAY100635 5,6 nmol (n = 8)] nos comportamentos de ansiedade no LCE. Trinta e seis camundongos foram utilizados para

avaliar o efeito da injeção combinada de WAY100635 e 8-OH-DPAT [Experimento 3: salina + salina (Sal + Sal, n = 8), salina + 8-OH-DPAT 5,6 nmol (Sal + 8-OH-DPAT, n = 5), salina + 8-OH-DPAT 10 nmol (Sal + 8-OH-DPAT, n = 7), WAY 5,6 nmol + salina (WAY + Sal, n = 6), WAY 5,6 nmol + 8-OH-DPAT 5,6 nmol (WAY + 8-OH-DPAT, n = 5), WAY 5,6 nmol + 8-OH-DPAT 10 nmol (WAY + 8-OH-DPAT, n = 5)] sob os comportamentos no LCE.

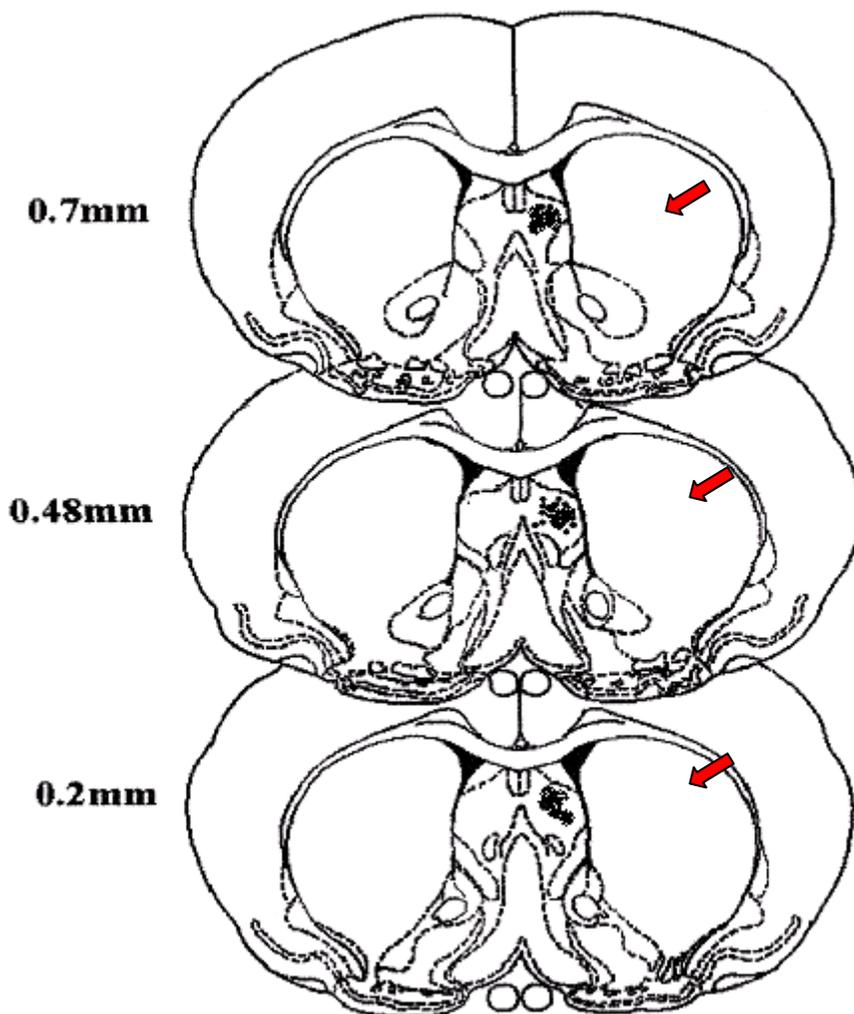


Fig.1.

Representação esquemática dos sítios de microinjeções intra septo dorso lateral. As setas apontam para uma representação das áreas de acerto das injeções dos fármacos (FranklinPaxinos, 1987).

6.2 Efeito ansiolítico da microinjeção de 8-OH-DPAT no septo dorsolateral de camundongos expostos ao LCE.

A análise de variância (ANOVA) mostrou efeito significativo do 8-OH-DPAT intra-SDL para a porcentagem de entradas nos braços abertos ($F_{(2,33)} = 6,22, P < 0,05$) e a porcentagem de tempo gasto nos braços abertos do LCE ($F_{(2,33)} = 4,89, P < 0,05$).

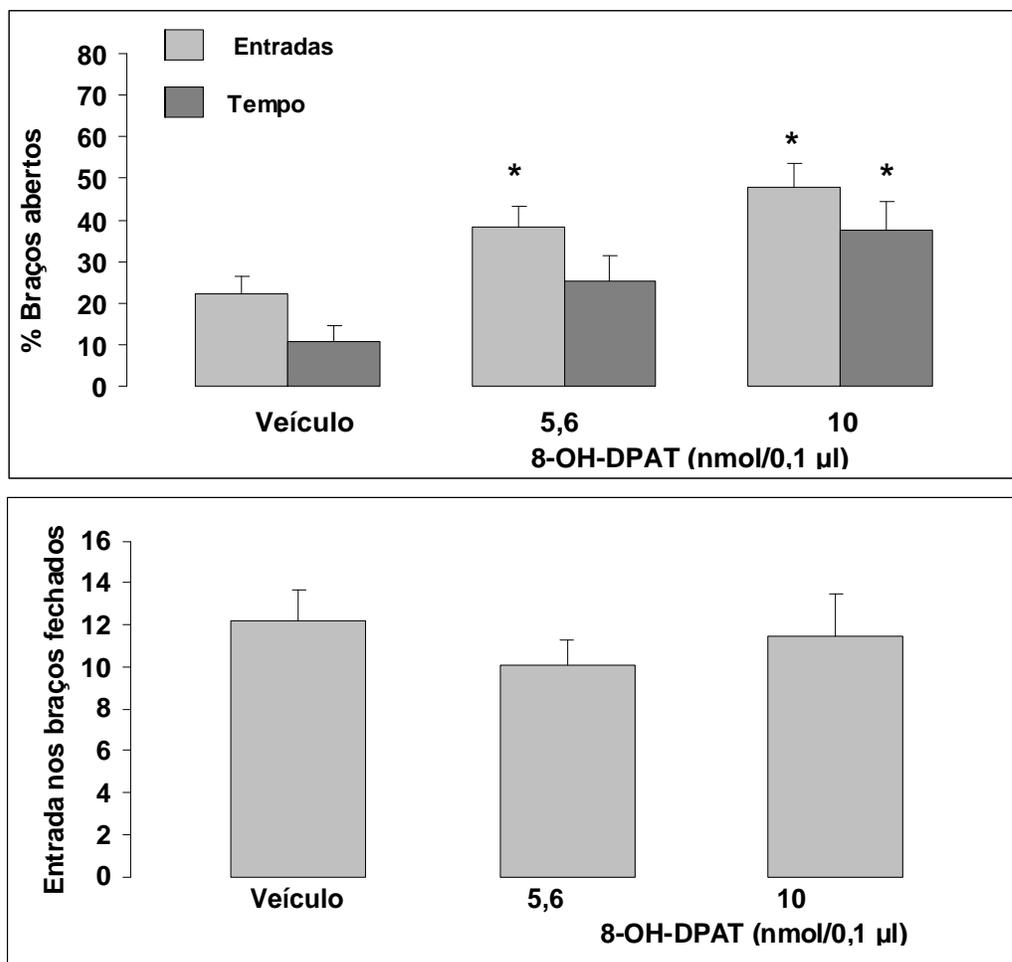


Figura 2. Efeito do 8-OH-DPAT (veículo, 5,6 e 10 nmol/0,1µl) intra-SDL de camundongos sobre a freqüência de entradas nos braços fechados e a porcentagem de entradas e de tempo gasto nos braços abertos do LCE. Os dados representam as médias (M) + erro padrão da média (E.P.M). $n = 11-14$. * $P < 0,05$, comparado ao veículo (ANOVA de uma via seguida do teste de Duncan).

O teste de Duncan mostrou que ambas as doses do agonista (5,6 e 10 nmol) produziram aumento da porcentagem de entradas nos braços abertos ($p < 0,05$), porém somente a dose de 10 nmol do agonista foi capaz de aumentar a porcentagem de tempo gasto nos braços abertos do LCE ($p < 0,05$). Nenhuma das doses de 8-OH-DPAT alterou a atividade locomotora dos camundongos avaliados no LCE ($F_{(2,33)} = 0,50$, $P > 0,05$) (Figura 2).

A ANOVA revelou também que nenhum dos outros comportamentos apresentou diferença significativa ($F_{(2,33)} = 3,65$, $p > 0,05$) (Tabela 1).

Tabela 1: Efeito da microinjeção de 8-OH-DPAT (Veículo, 5,6 e 10 nmol/0,1 μ l) no septo dorsolateral de camundongos avaliados no LCE.

Comportamentos	8-OH-DPAT (nmol/0,1 μ l)			F(2,33)
	Veículo	5,6	10	
Total entradas	16,3 \pm 2,1	16,0 \pm 1,5	21,0 \pm 3,9	1,1, NS
Entradas nos braços abertos	4,1 \pm 1,1	6,0 \pm 0,7	9,5 \pm 2,1	3,6, NS
% Tempo nos braços fechados	68,1 \pm 6,9	57,0 \pm 6,3	45,4 \pm 6,2	2,8, NS
% Tempo no centro	21,1 \pm 4,9	17,8 \pm 4,5	16,9 \pm 2,5	0,2, NS
Total mergulhos	21,6 \pm 2,6	20,9 \pm 3,6	24,4 \pm 2,8	0,3, NS
% Mergulhos protegidos	74,8 \pm 9,7	55,9 \pm 10,6	55,5 \pm 10,9	1,1, NS
Total Esticadas	57,1 \pm 5,2	44,3 \pm 7,1	44,6 \pm 6,0	1,2, NS
% Esticadas Protegidas	77,4 \pm 7,6	72,9 \pm 9,0	69,5 \pm 9,4	0,1, NS
Total Levantamento	20,7 \pm 2,8	19,2 \pm 4,1	19,1 \pm 3,9	0,1, NS
Total Imobilidade	0,1 \pm 0,9	4,5 \pm 2,0	8,18 \pm 4,7	1,8, NS

Os valores representam as médias e o erro padrão da média ($M \pm EPM$) dos demais comportamentos avaliados no LCE. NS = Não Significativo; $n = 11-14$

6.3 Efeito da microinjeção de WAY 100635 no septo dorsolateral de camundongos expostos ao LCE.

A Tabela 2 mostra os efeitos da microinjeção de WAY 100635 (5,6 nmol/0,1 μ l) no septo dorsolateral de camundongos expostos ao LCE. O teste t para amostras

independentes mostrou que o WAY 100635 não alterou nenhum dos índices convencionais de ansiedade, atividade locomotora e os outros comportamentos avaliados no LCE (Tabela 2).

Tabela 2: Efeito da microinjeção de WAY 100635 (salina, 5,6 nmol/0,1 µl) no septo dorsolateral de camundongos avaliados no LCE.

Comportamentos	WAY 100635 (nmol/0,1µl)		t (1,16)
	Salina	5,6	
Total entradas	19,2 ± 1,9	15,1 ± 1,5	NS
Entradas nos braços abertos	8,8 ± 1,3	6,6 ± 1,2	NS
% Entradas nos braços abertos	45,9 ± 4,2	43,3 ± 6,9	NS
Tempo nos braços abertos	31,7 ± 5,2	27,0 ± 5,0	NS
% Tempo nos braços fechados	50,3 ± 4,6	63,4 ± 6,0	NS
% Tempo no centro	18,1 ± 4,6	10,1 ± 1,6	NS
Total mergulhos	19,0 ± 2,9	23,2 ± 2,8	NS
% Mergulhos protegidos	17,9 ± 1,2	29,0 ± 2,12	NS
Total Esticadas	33,1 ± 3,9	44,0 ± 4,8	NS
% Esticadas Protegidas	54,0 ± 3,7	60,4 ± 6,3	NS
Total Levantamentos	22,8 ± 4,3	16,9 ± 2,1	NS

Os valores representam as médias e o erro padrão da média (M±EPM) dos demais comportamentos avaliados no LCE. NS = Não Significativo; $n = 8-10$.

6.4 Bloqueio do efeito ansiolítico do 8-OH-DPAT (5,6 e 10 nmol) pelo pré-tratamento com WAY 100635 (5,6 nmol) intra septo dorsolateral em camundongos expostos ao LCE.

A ANOVA de dois fatores mostrou efeito significativo do 8-OH-DPAT para a porcentagem de entradas nos braços abertos ($F_{(2,30)} = 6,35$, $p < 0,05$) e as entradas nos braços fechados ($F_{(2,30)} = 35,61$, $p < 0,001$), e interação entre o pré-tratamento x tratamento para a porcentagem de tempo gasto nos braços abertos ($F_{(2,30)} = 6,06$, $p <$

0,001) e fechados ($F_{(2,30)} = 5,78$, $p < 0,001$), porcentagem de esticar protegido ($F_{(2,30)} = 3,43$, $p < 0,05$) e total de levantar ($F_{(2,30)} = 6,66$, $p < 0,05$).

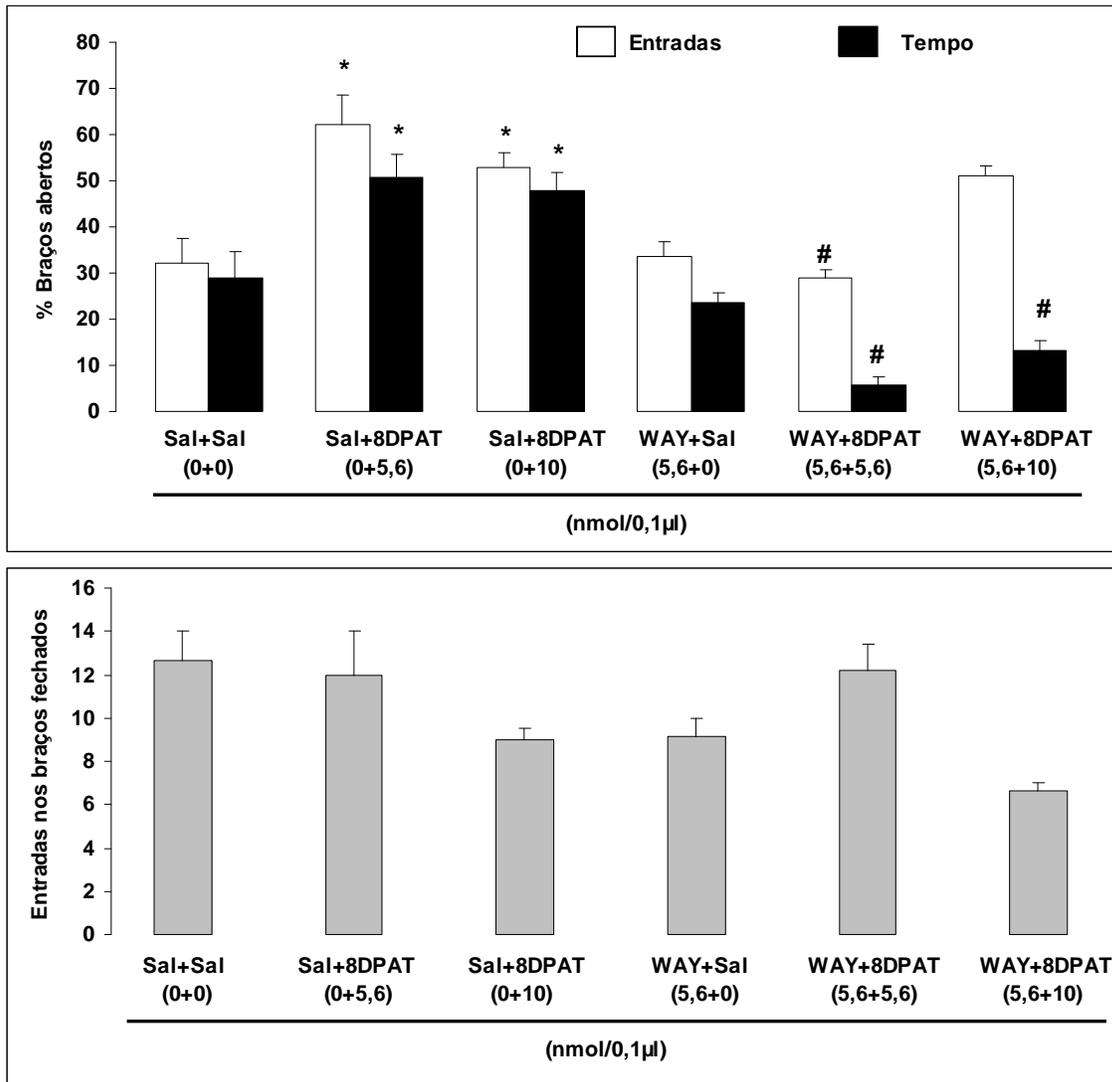


Figura 3. Efeito da injeção combinada de WAY 100635 (Sal ou 5,57 nmol) e 8-OH-DPAT (Sal ou 10 nmol) intra-SDL de camundongos sobre a frequência de entradas nos braços fechados e a porcentagem de entradas e de tempo gasto nos braços abertos do LCE. Os dados representam as médias (M) + erro padrão da média (E.P.M.). $n = 5 - 8$.

* $P < 0,05$, comparado a salina (Sal+Sal).

$P < 0,05$, comparado a salina e 8-OH-DPAT (Sal + 8DPAT). ANOVA de duas vias seguida do teste de Duncan.

Comparações de *post hoc* mostraram que o tratamento com as duas doses de 8-OH-DPAT (Sal + 8-OH-DPAT 5,6 nmol e Sal + 8-DPAT 10 nmol) aumentaram a porcentagem de entradas ($p < 0,05$) e tempo gasto nos braços abertos ($p < 0,05$) quando comparados ao controle (Sal+Sal). Porém, somente a menor dose (Sal + 8-OH-DPAT 5,6 nmol) aumentou o total de entradas ($p < 0,001$), número de entradas nos braços abertos ($p < 0,001$) e o total de esticar ($p < 0,01$), enquanto diminuiu a porcentagem de tempo gasto nos braços fechados ($p < 0,05$). A dose mais alta de 8-OH-DPAT (Sal + 8-DPAT 10 nmol) não alterou nenhum dos comportamentos avaliados, com exceção do total de levantamentos que foi aumentado ($p < 0,05$).

Tabela 3: Efeito da injeção combinada de WAY100635 (5,6 nmol/ 0,1 μ l) e 8-OH-DPAT (5,6 e 10 nmol/0,1 μ l) no septo dorsolateral de camundongos expostos ao LCE.

	Sal+Sal	Sal+8DPAT	Sal+8DPAT	WAY+Sal	WAY+8DPAT	WAY+8DPAT
	0+0	0+5,6	0+10	5,6+0	5,6+5,6	5,6+10
Comportamentos	(nmol/0,1 μ l)					
Total Entradas	19,1 \pm 1,9	34,6 \pm 2,1*	19,4 \pm 1,3	16,8 \pm 1,9	19,0 \pm 1,9#	15,0 \pm 0,6
Entradas nos braços abertos	6,5 \pm 1,3	22,6 \pm 3,2*	10,4 \pm 1,2	7,7 \pm 1,5	6,8 \pm 1,9#	8,4 \pm 0,2
% Tempo nos braços fechados	59,3 \pm 5,8	27,1 \pm 3,7*	42,8 \pm 4,8	50,6 \pm 7,3	67,0 \pm 6,2#	55,9 \pm 8,2
% Tempo no centro	11,8 \pm 4,5	22,2 \pm 2,8	9,2 \pm 2,6	25,8 \pm 8,6*	27,2 \pm 5,0	30,8 \pm 7,3#
Total mergulhos	15,1 \pm 4,5	22,6 \pm 5,9	18,7 \pm 4,8	21,5 \pm 4,8	10,2 \pm 3,4	6,4 \pm 1,5#
% Mergulhos protegidos	26,0 \pm 13,1	7,5 \pm 6,5*	24,3 \pm 8,5	12,9 \pm 7,8*	34,4 \pm 17,1#	51,8 \pm 13,8#
Total esticadas	29,3 \pm 4,2	76,2 \pm 5,8*	42,6 \pm 6,7*	40,2 \pm 7,5	59,2 \pm 6,3#	48,0 \pm 10,2
% Esticadas protegidas	62,4 \pm 10,0	26,7 \pm 14 *	55,4 \pm 9,1	51,1 \pm 12,5	73,2 \pm 14,6#	51,2 \pm 9,2
Total levantamentos	11,8 \pm 3,1	20,8 \pm 5,3	24,7 \pm 3,6*	26,7 \pm 2,3*	27,6 \pm 3,4	14,6 \pm 3,2
Total imobilidade	1,0 \pm 0,8	0,0 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0	0,2 \pm 0,2	0,8 \pm 0,5	1,2 \pm 1,2

Os valores representam as médias e o erro padrão da média (M \pm EPM) dos demais comportamentos avaliados no LCE, $n = 5-8$.

* $P < 0,05$, comparado a salina e salina (Sal+Sal).

$P < 0,05$, comparado a salina e 8-OH-DPAT (Sal + 8DPAT) (ANOVA de duas vias seguida do teste de Duncan).

Apesar da ANOVA apontar diferença significativa do tratamento com 8-OH-DPAT para as entradas nos braços fechados, análises posteriores de *post hoc* mostraram

que não houve diferença significativa entre as duas doses do agonista 5-HT_{1A} (5,6 e 10 nmol) e o grupo controle (Sal+Sal).

Análise posteriores de *post hoc* mostraram que o pré-tratamento com WAY100635 (WAY 5,6 nmol + Sal) não alterou nenhum dos comportamentos avaliados no LCE, quando comparados ao grupo controle (Sal+Sal).

Comparações de *post hoc* mostraram que ocorreu interação entre o pré-tratamento (WAY100635 5,6 nmol) e tratamento (8-OH-DPAT) somente para a dose de 5,6nmol. Os comportamentos alterados foram: porcentagem de tempo gasto nos braços abertos e fechados, entrada nos braços abertos, total de levantar e total de esticar ($p < 0,05$).

Análises posteriores de *post hoc* mostraram que o pré-tratamento com WAY100635 (5,6nmol) + 8-OH-DPAT 5,6 nmol, diminuiu a porcentagem de entrada e de tempo gasto nos braços abertos, total de entradas, entradas nos braços abertos, total de esticadas ($p < 0,05$) e aumentou a porcentagem de tempo gasto os braços fechados e o total de levantamentos ($p < 0,05$), quando comparado ao grupo Salina + 8-OH-DPAT 5,6 nmol. O pré-tratamento com WAY100635 (5,6nmol) + 8-OH-DPAT 10 nmol, diminuiu a porcentagem de tempo gasto nos braços abertos ($p < 0,05$), quando comparado ao grupo Salina + 8-OH-DPAT 10 nmol, enquanto aumentou as entradas nos braços abertos e a porcentagem de tempo gasto nos braços fechados ($p < 0,05$) quando comparado ao grupo WAY100635 (5,6nmol) + Salina (olhar Figura 3 e Tabela 3).

A ANOVA revelou também que nenhum dos outros comportamentos apresentou diferença significativa ($F_{(2,30)} = 11,7$, $p > 0,01$) (Tabela 3).

7. DISCUSSÃO

Os resultados do nosso estudo mostraram que o agonista dos receptores 5-HT_{1A}, 8-OH-DPAT intra-septo dorso lateral (SDL), produziu diminuição da ansiedade sem alterar a atividade locomotora e os comportamentos de avaliação de risco em camundongos. A injeção local de WAY100635, antagonista pleno dos receptores 5-HT_{1A}, não alterou os índices de ansiedade. Entretanto, a administração prévia desse antagonista foi capaz de bloquear o efeito ansiolítico produzido pelo 8-OH-DPAT nas duas doses utilizadas. Esses resultados sugerem que os receptores do subtipo 5-HT_{1A} do SDL estão modulando a resposta de ansiedade avaliada no LCE (Barnes e Sharp 1999).

Em estudo anterior foi demonstrado que a ativação dos receptores 5-HT_{1A} por drogas agonistas causa redução da concentração de serotonina nos neurônios devido à supressão da síntese da mesma (Jolas et al., 1993), apresentando assim caráter ansiolítico. Também é de conhecimento geral que o papel dos receptores 5-HT_{1A} na modulação da ansiedade em modelos animais é controverso (para revisão olhar Engin e Treit, 2008).

Evidências têm apontado para o papel do septo na modulação da ansiedade e do medo (Gray and McNaughton, 2000) e lesões nesta estrutura principalmente na região lateral, produziram efeitos anti-medo em ratos submetidos a dois testes comportamentais de ansiedade, o labirinto em cruz elevado e o esconder defensivo (Pesold e Treit, 1996).

Alguns trabalhos têm mostrado o efeito ansiolítico dos agonistas de receptores 5-HT_{1A} (para revisão olhar Engin e Treit, 2008), entretanto, diferente do nosso trabalho, a

maioria dos estudos têm ocorrido em ratos e em outros modelos de ansiedade. Por exemplo, foi observado que o 8-OH-DPAT intra-septo promoveu reduções significativas no comportamento de “esconder” no teste do “esconder punido”, sem alteração na atividade locomotora, sugerindo um efeito ansiolítico (Menard e Treit, 1998).

Quando administrado em outras estruturas do sistema nervoso central (SNC) este agonista também apresentou efeito ansiolítico no labirinto e em diferentes modelos. Neste sentido, o 8-OH-DPAT (0,5 e 3,0 µg) intra-amídala e intra-hipocampo dorsal (0,5 µg), produziu efeito ansiolítico em ratos expostos ao teste de vocalização ultrassônica (Schreiber e DeVry, 1993). Este mesmo efeito foi obtido com a dose de 5,0 µg, intra-hipocampo dorsal em ratos expostos ao teste de vocalização ultrassônica (Jolas et al, 1993). Em intervalo semelhante de doses (0,1 e 5,0 µg) e intra-hipocampo dorsal, também foi encontrado efeito ansiolítico em ratos avaliados no LCE (Menard e Treit, 1998). Neste sentido, a injeção de 8-OH-DPAT (0,2, 0,5 e 2,0 µg), no núcleo mediano da rafe, produziu efeito ansiolítico em ratas fêmeas avaliadas no LCE (Almeida et al., 1998).

Porém outros trabalhos têm mostrado resultados diferentes daquele observado no nosso e nos estudos citados acima. Assim, a injeção de 8-OH-DPAT (0,2, 0,5 e 2,0 µg), na área septal em ratas fêmeas produziu efeito ansiogênico avaliado no LCE (Almeida et al., 1998). Em outro estudo, utilizando ratos e com administração de 8-OH-DPAT (500 ng) bilateral no septo lateral e no hipocampo dorsal, também foi observado o mesmo efeito no LCE (Cheeta et al., 2000a, b).

A administração desse agonista em outras estruturas do SNC também promoveu efeito ansiogênico. Por exemplo, quando injetado no hipocampo dorsal na dose de 0,1 µg, aumentou a ansiedade em ratos avaliados no teste de interação social (Andrews et al. 1994, File et al. 1996). Na amígdala, a injeção de uma dose menor (0,05 µg), também produziu o mesmo efeito, ou seja, aumento da ansiedade no teste de interação social (Gonzalez et al., 1996). Em camundongos, o 8-OH-DPAT (5,6 nmol) intra-amígdala também aumentou a ansiedade avaliada no LCE (Nunes-de-Souza et al., 2000).

Estudos mais recentes envolvendo a avaliação da ansiedade em outros modelos, como por exemplo, o labirinto em T elevado, também confirma este efeito. Neste sentido, 8-OH-DPAT (0,6, 3,0 e 15 nmoles) administrado no septo lateral de ratos facilitou a esquivia inibitória, efeito ansiogênico, sem alterar a fuga, no labirinto em T elevado (Viana et al., 2007).

A ausência de efeito deste agonista dos receptores 5-HT_{1A} também já foi observada em roedores expostos ao LCE e em outros testes de ansiedade. Assim, injeções de 8-OH-DPAT no hipocampo dorsal, hipocampo ventral, amígdala e septo de ratos, não modificaram as medidas de ansiedade avaliadas no LCE (Belcheva et al., 1994; Zangrossi e Graeff, 1994; File e Gonzalez, 1996; Gonzalez et al., 1996; Menard e Treit, 1998; Cheeta et al., 2000b). Ausência de efeito pode ser observado também nos testes de vocalização ultrassônica com injeção no hipocampo ventral (Hogg et al., 1994), teste de interação social com injeção no hipocampo dorsal (Picazo et al., 1995) e no teste de “esconder punido” com injeção no hipocampo dorsal (Menard e Treit, 1998).

Provavelmente os diferentes resultados descritos na literatura com a administração sistêmica ou central de agonistas de serotonina, possam ser explicados pela hipótese proposta por Deakin e Graeff (1991). Estes autores propuseram que a serotonina apresenta um papel dual na modulação de respostas defensivas, levando em consideração diferenças anatômicas e funcionais das vias serotoninérgicas e os diferentes subtipos de receptores envolvidos.

No nosso estudo, a injeção local de WAY100635 (5,6 nmol) no septo dorsolateral não alterou os índices de ansiedade, atividade locomotora e os outros comportamentos avaliados no labirinto (Tabela 2).

Vários trabalhos têm demonstrado que este antagonista promove aumento da taxa de disparos em neurônios serotoninérgicos ao bloquear os auto-receptores somatodendríticos do subtipo 5-HT_{1A} (Fornal et al, 1996; Munday et al, 1996; Hajós et al, 2001). Entretanto, este bloqueio nem sempre leva a diminuição da ansiedade, algumas vezes não altera este comportamento, como encontramos no nosso estudo.

Resultados semelhantes de ausência de efeito deste antagonista seletivo dos receptores 5-HT_{1A} em outras estruturas do SNC, também têm sido descritos na literatura (File e Gonzalez, 1996; File, Gonzalez e Andrews, 1996; Fletcher et al., 1996; Remy et al., 1996; Gonzalez e File, 1998). Neste sentido, injeções de WAY100635 no hipocampo dorsal e no núcleo dorsal da rafe, não promoveram efeito em camundongos avaliados no LCE. Porém, quando este fármaco foi administrado em outras estruturas do SNC, tais como o hipocampo ventral e o núcleo mediano da rafe, produziu efeito ansiolítico

(Nunes-de-Souza, Canto-de-Souza e Rodgers, 1999; Canto-de-Souza, Nunes-de-Souza e Rodgers, 2002; Nunes-de-Souza, Canto-de-Souza e Rodgers, 2002).

A administração combinada de um agonista com o seu antagonista seletivo pode produzir o bloqueio do efeito do agonista ou não. No Experimento 3, verificamos que o tratamento com salina e 8-OH-DPAT (5,6 e 10 nmol) intra-SDL confirmou os resultados anteriores do Experimento 1 deste estudo, ou seja, diminuição dos índices de ansiedade.

Na injeção combinada (Exp.3) o (WAY 5,6 nmol+Sal) confirmaram os efeitos mostrados no experimento 2, onde este antagonista não alterou nenhum índice convencional de ansiedade e também não houve alteração da atividade locomotora. Nesse trabalho, a administração prévia de WAY 100635 (5,6 nmol) bloqueou o efeito ansiolítico do 8-OH-DPAT nas duas doses utilizadas (5,6 e 10 nmol), onde houve uma diminuição da porcentagem de entrada e tempo gasto nos braços abertos. Além disso, a interação antagonista junto ao agonista promoveu diminuição de alguns outros comportamentos avaliados no labirinto, tais como, entrada nos braços abertos e total de entradas e também promoveu aumento de alguns outros tais como, porcentagem de tempo gasto nos braços fechados, porcentagem de tempo gasto no centro e no esticar protegido (Tabela 3).

Estudos têm demonstrado que a administração sistêmica de WAY-100635 não foi capaz de antagonizar o efeito ansiolítico promovido pelo 8-OH-DPAT em ratos testados no LCE (Audi et al., 1998). Além disso, assim como demonstramos no Experimento 2, a administração de WAY 100635 produziu ausência de efeito quando

injetado em diferentes estruturas do sistema nervoso central, em diferentes doses e em diferentes modelos (Cheeta e File, 2000a; Santos et al., 2008; Viana et al, 2008).

Entretanto, em outros trabalhos a administração no septo lateral deste antagonista, bloqueou o efeito ansiogênico do 8-OH-DPAT em ratos submetidos ao labirinto em T (Viana et al, 2008), ainda nesta estrutura, o efeito ansiogênico do 8-OH-DPAT em ratos expostos ao teste de interação social, foi bloqueado pelo WAY100635 (Cheeta e File, 2000a).

Diante do nosso resultado verificamos que o efeito ansiolítico promovido pelo agonista dos receptores 5-HT_{1A}, 8-OH-DPAT foi bloqueado pela pré-administração central do antagonista do mesmo receptor, WAY100635. Assim concluímos que os receptores 5-HT_{1A} do septo dorso lateral modulam a resposta de ansiedade em camundongos expostos ao LCE. Administração do antagonista sozinho não alterou a resposta de ansiedade, mas em associação com o agonista bloqueou o efeito ansiolítico do mesmo. Provavelmente o bloqueio dos receptores 5-HT_{1A} no NMR pode ser devido também a uma desinibição de serotonina no septo.

8. Referências Bibliográficas

ADELL, A.; CELADA, P.; ABELLÁN, M.T.; ARTIGAS, F. Origin and functional role of the extracellular serotonin in the midbrain raphe nuclei. **Brain Research Reviews**, v. 39, p.154-180, 2002.

ALVES, S.H., et al. Anxiogenic effects in the rat elevated plus-maze of 5-HT_{2C} agonists into ventral, but no dorsal hippocampus. **Behavioural Pharmacology**, v.15, p.37-43, 2004.

ANDREWS, N., et al. 5HT_{1A} receptors in the media raphe nucleus and dorsal hippocampus may mediate anxiolytic and anxiogenic behaviors respectively. **Eur J Pharmacol**, v.264, p.259-264, 1994.

BARNES, N.M.; SHARP, T. A review of central 5-HT receptors and their function. **Neuropharmacology**, v. 38, p.1083-1152, 1999.

BARONE, S., et al. Spatial learning deficits are not solely due to cholinergic deficits following medial septal lesions with colchicine. **Psychobiology**, v.19, p.41-50, 1991.

BECERRA-GARCIA, A.M., CARDENAS, F.R.; MORATO, S. Effect of different illumination levels on the rat behavior in the elevated plus-maze. **Physiology and Behavior**, v.85, p. 265-270, 2005.

BELCHEVA, I., et al. Hippocampal asymmetry in the behavioral responses to the 5-HT_{1A} receptor agonist 8-OH-DPAT. **Brain Res**, v.640, p.223-228, 1994.

BLANCHARD, R.J., et al. Ethanol changes patterns of defensive behavior in wild rats. **Physiology and Behavior**, v.38, p.645-650, 1988.

BLANCHARD, R.J.; BLANCHARD, D.C. **Anxiety**. An ethopharmacological analysis of defense, fear and anxiety, University of Otago Press, Dunedin, p.124-133, 1990.

BOHMAKER, K., et al. Comparative effects of chronic 8-OH-DPAT, gepirone and ipsapirone treatment on the sensitivity of somatodendritic 5-HT_{1A} autoreceptors. **Neuropharmacology**, v.32, p.527-534, 1993.

CAMBRAIA, S. V. Teste de Atenção Concentrada. São Paulo: **Vetor Editora Psicopedagógica Ltda**, 2004.

CANTO-DE-SOUZA, A.; NUNES-DE-SOUZA, R.L.; RODGERS, R.J. Anxiolytic-like effect of WAY-100635 microinfusions into the median (but not dorsal) raphe nucleus in mice exposed to the plus-maze: influence of prior test experience. **Brain Research**, v. 928, p. 50-59, 2002.

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

CHEETA, S.; KENNY, P.J.; FILE, S. The role of 5HT_{1A} receptors in mediating the anxiogenic effects of nicotine following lateral septal administration. **European Journal of Neuroscience**, v.12, p.3797-3802, 2000a.

CHEETA, S.; KENY, P.J.; FILE, S. Hippocampal and septal injections of nicotine and 8-OH-DPAT distinguish among different animal tests of anxiety. **Prog. Neuro-Psychopharmacol. & Biol. Psychiat**, v.24, p.1053-1067, 2000b.

CRUZ, A. P. M.; FREI, F.; GRAEFF, F. G. Ethopharmacological analysis of rat behavior on the elevated plus-maze. Pharmacology. **Biochemistry Behavior**, v.49, p.171-179, 1994.

CORNÉLIO, A.; NUNES-DE-SOUZA, R.L. Anxiogenic-like effects of mCPP microinfusions into the amygdala (but not dorsal or ventral hippocampus) in mice exposed to elevated plus-maze. **Behavioural Brain Research**, v.178, p.82- 89, 2007.

DAVIS, M. The role of the amygdale in fear and anxiety. **An Revista Neuroscience**, v15, p.373 – 375, 1992.

DEAKIN, J.F.W.; GRAEFF, F.G. 5-HT and mechanisms of defense. **Journal of Psychopharmacology**, v.5, p.305-315, 1991.

DRACTU, L.; LADER, M. Ansiedade: conceito, classificação e biologia. Uma interpretação contemporânea da literatura. **Jornal Brasileiro Psiquiatria**, v.42, p.19-32, 1993.

ENDEPOLS, H., et al. The septal complex of the fire-bellied toad *Bombina orientalis*: Chemoarchitecture. **Journal of Chemical Neuroanatomy**, v.31, p.59-73, 2005.

ENGIN, E.; TREIT, D. The effects of intra-cerebral drug infusions on animals unconditioned fear reactions: A systematic review. **Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry**, v.25, p, 69-75, 2008.

FACHINI, G.; CANTO-de-SOUZA, A. Efeito ansiogênico do ondansetron microinjetado no hipocampo ventral de camundongos. In: **Federação de Sociedades de Biologia Experimental – FeSBE. XXI Reunião Anual, Águas de Lindóia, SP. 2006.**

FACHINI, G.; CANTO-de-SOUZA, A. Reversão do efeito ansiogênico do ondansetron microinjetado no hipocampo ventral de camundongos com administração sistêmica de mCPBG em camundongos expostos ao labirinto em cruz elevado. In: **Federação de Sociedades de Biologia Experimental** – FeSBE. XXII Reunião Anual, Águas de Lindóia, SP. 2007

FRANKLIN, K.B.J., PAXINOS, G. The mouse brain in stereotaxic coordinates. **Academic Press**, California, USA, 1987.

FLETCHER, A., et al. Electrophysiological, biochemical, neurohormonal and behavioral studies with WAY 100635, a potente, selective and silent 5-HT_{1A} receptor antagonist. **Behavior Brain**, v.73, p.337-353, 1996.

FORNAL, C.A., et al. WAY 100635, a potent and selective 5-hydroxytryptamine 1A antagonist, increases serotonergic neuronal activity in behaving cats: comparison with (S)-WAY-100135. **Journal of Pharmacological and Experimental Therapeutics**, v.27, p.752-762, 1996.

GRAEFF, F.G. Ansiolíticos. Drogas Psicotrópicas e seu modo de ação. **2ªed. São Paulo: EPU**, cap.5, p.61-83, 1989.

GRAEFF, F.G.; Ansiedade. In: GRAEFF, F.G.& BRANDÃO, M.L. **Neurobiologia das Doenças Mentais** (5ªeds.), Lemos, São Paulo, p.135-178, 1990.

GRAEFF, F.G.; GUIMERAS, T.S.; ANDRADE, T.G. Role of 5-HT in stress, anxiety and depression. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**, v.54, p.129-141, 1996.

GRAEFF, F.G., VIANA, M.B., MORA, P.O. Dual role of 5-HT in defense and anxiety. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, v.21, p.791-799, 1997.

GRAEFF, F.G. Brain defense systems and anxiety. In: Roth M, Burrows GD e Noyes R (editores), **Handbook of anxiety**. Elsevier, Amsterdam, p.307-54, 1999.

GRAEFF, F.G.; GUIMARAES, F.S. **Fundamentos de Psicofarmacologia**. São Paulo, editora Ateneu. 1999.

GRAEFF, F. G. Serotonina, matéria cinzenta periaquedutal e transtorno do pânico. **Revista Brasileira de Psiquiatria**, v.25, p.42-45, 2003.

GRAY, J. A. The neuropsychology of anxiety: Na enquiry into the functions of the septo-hippocampal system. **New York: Oxford University Press**, 1982.

GRAY, J.A. Neural systems, emotion and personality. In J. Madden V, p.273-306. **New York: Raven Press**, 1991.

GRAY, J.A.; McNaughton N,. The Neuropsychology of Anxiety. **Oxford: Oxford University Press**, 2000.

GONZALES, L. E.; ANDREWS, N.; FILE, S. E. 5-HT_{1A} and benzodiazepine receptors in the basolateral amygdala modulate anxiety in the social interaction test, but not in the elevated plus-maze test. **Brain Research**, v.732, p.145-153, 1996.

GONZALES, L. E.; FILE, S. E. D.H. Overstreet, Selectively bred lines of rats differ in social interaction and hippocampal 5-HT receptor function: a link between anxiety and depression? **Pharmacol Biochem Behav**, v.59, p.787-792, 1998.

HAJÓS, M., et al. Different tonic regulation of neuronal activity in the rat dorsal raphe and medial prefrontal cortex via 5-HT_{1A} receptors. **Neuroscience Letters**, v.304, p.129-132, 2001.

HOGG, S.; ANDREWS, N.; FILE, S.E. Contrasting behavioral effects of 8-OH-DPAT in the dorsal raphe nucleus and ventral hippocampus. **Neuropharmacology**, v.33, p.343-348, 1994.

HANDLEY, S.; MITHANI, S. Effects of alpha-adrenoceptor agonists and antagonists in a maze exploration model of "fear"-motivated behaviour. **Naunyn-Schmiedeberg's Pharmacology**, v.327, p.1-5, 1984.

HANDLEY, S. L. 5-Hydroxytryptamine pathways in anxiety and its treatment. **Pharmacology Ther**, v.66, p.103-148, 1995.

JOLAS, T., et al. Autoregulation of Serotonin Neurons: Role in Antidepressant Drug 8-OH-DPAT. **Naunyn-Schmiedeberg's Archive Pharmacology**, v.347, p.453-463, 1993.

JOUVET, M. Neurophysiology of the states of sleep. **Physiology Review**, v.47, p.117-177, 1967.

KENNETT, G.A., et al. Effects of SB 204070A and SB 207266A, selective 5-HT₄ receptor antagonists in three rat models of anxiety. **British Journal of Pharmacology**, v.20, p.137, 1997.

LISTER, R.G. The use of a plus-maze to measure anxiety in the mouse. **Psychopharmacology**, v.92, p.180-185, 1987.

MAES, M. & MELTZER, H. The serotonin hypothesis of depression., eds. **Raven, New York**, p.933-944, 1995.

MARUCCI, F.A.F.; CANTO-de-SOUZA, A. Microinjeção de antagonista dos receptores 5-HT₃ na amígdala de camundongos produz efeito ansiolítico. In: **Federação de Sociedades de Biologia Experimental – FeSBE. XXI Reunião Anual**, Águas de Lindóia, SP, 2006.

MENARD, J. e TREIT, D. The septum and the hippocampus differentially mediate anxiolytic effects of R(+)-8-OH-DPAT. **Behavioral Pharmacology**, v.9, p.93-101, 1998.

MENARD, J.; TREIT, D. The anxiolytic effects of intra-hipocampal midazolam are antagonized by intra-septal L-Glutamate. **BrainResearch**, v.888, p.163-166, 2001.

,MUNDEY, M.K., FLETCHER, A., MARSDEN, C.A. Effects of 8-OH-DPAT and 5-HT_{1A} antagonists WAY 100135 and WAY 100635, on guinea-pig behaviour and dorsal raphe 5-HT neurone firing. **Brain Journal Pharmacology**, v.117, p.750-756, 1996.

MURPHY, D.L. Neuroendocrine responses to serotonergic agonists as indices of the functional status of central serotonin neurotransmission in humans: A preliminary comparative analysis of neuroendocrine endpoints versus other endpoint measures. **Neuropsychopharmacology**, v.3, p.457-471, 1990.

NUNES-DE-SOUZA V, NUNES-DE-SOUZA RL, CANTO-DE-SOUZA A. 5-HT₂ receptor activation in the midbrain periaqueductal grey (PAG) reduces anxiety-like behaviour in mice. **Behav Brain Res**, 187, 72-79.

NUNES-DE-SOUZA, R.L., et al. Anxiety-induced antinociception in mice: effects of systemic and intra-amygdala administration of 8-OH-DPAT and midazolam. **Psychopharmacology**, v.150, p.300-310, 2000.

NUNES-DE-SOUZA, R. L.; CANTO-DE-SOUZA, A.; RODGERS, R.J. Effects of intra-hippocampal infusion of WAY-100635 on plus-maze behavior in mice: Influence of site of injection and prior test experience. **Brain Research** , v.927, p.87-96, 2002.

NUNES-DE-SOUZA, R. L.; CANTO-DE-SOUZA, A.; RODGERS, R.J. Anxiolytic-like effect of WAY-100635 microinfusions into ventral but not dorsal hippocampus in mice, **J. Psychopharmacol**, v.13 , Suppl A, 1999.

NUTT, D.J. The pharmacology of human anxiety. **Pharmacology & Therapeutics**, v.47, p.233-266, 1990.

PELLOW, S.; CHOPIN, P.; FILE, S. E.; BRILEY, M. Validation of open: closed arm entries in the elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. **Journal of Neuroscience Methods**, v.14, p.149-167, 1985.

PESOLD, C.; TREIT, D. The neuroanatomical specificity of the anxiolytic effects of intra-septal infusions of midazolam. **Brain Research**, v.710, p.161-168, 1996.

PESOLD, C.; TREIT, D. The septum and amygdala differentially mediate the anxiolytic effects of benzodiazepines. **Brain Research**, v.638, p.295-301, 1994.

PICAZO, O.; LOPEZ-RUBALCAVA, C.; FERNANDEZ-GUASTI, A. Anxiolytic effect of the 5-HT_{1A} compounds 8-OH-DPAT and ipsapirone in the social interaction paradigm: evidence of a presynaptic action. **Brain Research**, v.37, p.169-175, 1995.

PINHEIRO, S.N., et al. Anxiolytic and panicolytic effects of escitalopram in the elevated T-maze. **Journal Psychopharmacology**, v.25, p.256-260, 2007.

POPLAWSKI, A.; JOHNSON, D. A. Open- field social behavior of rats following lateral or medial septal lesions. **Physiology and Behavior**, v.11, p.845-854, 1973.

REMY, S. M.; SCHRIEBER, M. R.; DALMUS, J.; DE VRY. Somatodendritic 5-HT receptors are critically involved in the anxiolytic effects of 8-OH-DPAT, **Psychopharmacology**, v.125, p.89-91, 1996.

RODGERS, R. J.; JOHNSON, J.T. Factor analysis of spatiotemporal and ethological measures in the murine elevated plus-maze test of anxiety. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v.52, p.297-303, 1995.

SANTOS, L.; ANDRADE, T.G.C.S.; ZANGROSSI JR., H. 5HT_{1A} receptors in the dorsal hippocampus mediate the anxiogenic effect induced by stimulation of 5-HT neurons in the median raphe nucleus. **Eur. J. Pharmacol**, v.18, p.283-294, 2008.

SHEARD, M. H. The effect of pCPA on behavior in rats: relation to brain serotonin and 5-HT_{1A}. **Brain Research**, v.15, p.524-528, 1969.

SCHIMITT, R.; KAPCZINSKI, F. Transtorno de Ansiedade Generalizada. **Transtornos de Ansiedade. São Paulo**: Editora Atheneu, p265-283, 2004.

SCHREIBER, R. DEVRY. Neuronal circuits involved in the anxiolytic effects of the 5-HT1A receptor agonists 8-OH-DPAT, ipsapirone and buspirone in the rat. **Eur. J. Pharmacol**, v.249, p.341-351, 1993.

STEPHENS, D.N., et al. Does the excitatory amino acid receptor antagonist 3-APH exhibit anxiolytic activity? **Psychopharmacology**, v.90, p.166-169, 1986.

TREIT, D.; PESOLD, C. Septal lesions inhibit fear reactions in two animal models of anxiolytic drug action. **Physiology & Behavior**, v.47, p.365-371, 1990.

TREIT, D.; MENARD, J.; ROYAN, C. Anxiogenic stimuli in the elevated plus maze. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**, v.44, p.463-469, 1993.

VIANA, M.B.; ONUSIC, G.M.; ZANGROSSI, H. Role of serotonin 1A receptors of the lateral septum in different anxiety-related responses, **European Neuropsychopharmacology**, v.17, p.510-512, 2007.

WINSON, J. Loss of hippocampal theta rhythm results in spatial memory deficit in the rat. **Science**, v.201, p.569-575, 1978.

ZANGROSSI, H.; GRAEFF, F.G. Behavioral effects of intraamygdala injections of GABA and 5-HT acting drugs in the elevated plus-maze. **Braz J Med Biol Res**, v.27, p.2453-2456, 1994.

9. APÊNDICE

Quadro 1: Registro das medidas convencionais em camundongos submetidos ao LCE após microinjeção intra-septo de 8-OH-DPAT (0, 5,6 e 10,0 nmol/0,1µl).

Controle

SUJEITO	TE	EBA	EBF	TBA	TBF	TC	%EBA	%EBF	%TBA	%TBF	%TC
1	10	9	1	244,1	20,9	35,0	90,0	10,0	81,4	7,0	11,7
2	28	1	17	72,8	144,6	82,6	39,3	60,7	24,3	48,2	27,5
3	17	4	13	17,4	256,6	26,0	23,5	76,5	5,8	85,5	8,7
4	12	2	0	285,7	0,0	14,3	100,0	0,0	95,2	0,0	4,8
5	17	7	10	109,7	167,7	22,6	41,2	58,8	36,6	55,9	7,5
6	28	5	13	24514,0	201,4	74,1	27,8	72,2	24,7	67,1	8,2
7	16	8	8	61,7	208,6	29,7	50,0	50,0	20,6	69,5	9,9
8	27	17	10	191,4	74,4	34,2	63,0	37,0	63,8	24,8	11,4
9	19	4	5	192,2	93,1	14,7	44,4	55,6	64,1	31,0	4,9
10	29	7	12	121,0	129,6	49,4	58,6	41,4	40,3	43,2	16,5
11	18	3	15	14,7	261,5	23,8	16,7	83,3	4,9	87,2	7,9
MÉDIA	16,3	4,1	10	92	169	39	42	58	33	68,1	21,1
D.P.M.	9,2	2,8	5,3	85,2	81,8	25,1	22,5	22,4	26,9	27,3	6,9
E.P.M.	2,1	1,1	1,9	30,1	28,9	8,8	7,9	7,9	9,5	6,9	4,9

8-OH-DPAT (5,6 nmol/0,1µl)

SUJEITO	TE	EBA	EBF	TBA	TBF	TC	%EBA	%EBF	%TBA	%TBF	%TC
1	19	9	10	92	134	73	47,	53	31	45	24
2	22	4	18	17	258	24	18	82	6	86	8
3	18	10	8	90	141	69	56	44	30	47	23
4	35	26	19	170	97	33	58	42	57	32	11
5	24	11	13	125	87	88	46	54	42	29	29
6	25	8	17	64	196	39	32	68	21	65	14
7	33	15	18	101	162	36	45	55	34	54	12
8	31	12	19	57	217	26	39	61	19	72	9
9	22	11	11	95	120	38	50	50	45	25	30
10	16	9	17	112	99	26	42	58	42	37	21
11	18	10	18	59	152	25	36	64	25	47	28
12	28	11	17	98	125	48	25	75	42	45	13
13	29	9	20	85	169	37	12	88	36	59	5
14	31	12	19	105	112	45	46	54	46	49	5
MÉDIA	16,0	6,0	16,0	90,7	147,8	43,4	39,4	60,6	34,0	57,0	17,8
D.P.M.	9,2	2,3	5,3	85,2	81,8	25,1	22,5	22,4	26,9	27,3	6,9
E.P.M.	1,5	0,7	1,9	30,4	28,9	8,8	7,9	7,9	9,5	6,3	4,5

8-OH-DPAT (10 nmol/0,1µl)

SUJEITO	TE	EBA	EBF	TBA	TBF	TC	%EBA	%EBF	%TBA	%TBF	%TC
1	25	8	17	58	200	42	32	68	19,	67	14
2	9	1	8	4	279	17	11	89	1	93	6
3	17	6	11	93	120	88	35	65	31	40	29
4	18	2	16	6	258	32	11	89	2	86	12
5	14	3	11	33	256	11	21	79	11	85	4
6	19	9	10	35	210	55	49	51	30	67	3
7	15	7	8	39	205	56	47	53	10	49	41
8	19	9	10	85	235	20	45	55	11	85	4
9	17	6	11	75	198	27	35	65	8	89	3
10	20	9	11	10	175	115	42	58	21	75	4
11	18	8	10	45	210	45	33	67	15	82	3
MÉDIA	21,0	9,5	11,1	43,9	213,2	16,9	32,8	67,1	16,0	45,4	11,1
D.P.M.	9,2	2,8	5,3	85,2	81,8	25,1	22,5	22,4	26,9	27,3	6,9
E.P.M.	3,9	2,1	1,9	30,1	28,9	2,5	7,9	7,9	9,5	6,2	2,4

Quadro 2 : Registro das medidas convencionais em camundongos submetidos ao LCE após microinjeção intra-septo de WAY-100635 (0 e 5,57 nmol/0,1µl).

Controle

SUJEITO	TE	EBA	EBF	TBA	TBF	TC	%EBA	%EBF	%TBA	%TBF	%TC
1	19	5	14	26	221	53	26	74	9	74	18
2	28	12	16	116	153	31	43	57	39	51	10
3	23	8	15	100	173	27	35	65	33	58	9
4	22	8	14	72	200	28	36	64	24	67	9
5	15	7	8	138	127	35	47	53	46	42	12
6	15	6	9	64	180	56	40	60	21	60	19
7	17	8	9	92	150	57	47	53	31	50	19
8	28	18	10	165	106	29	64	36	55	35	10
9	17	12	5	153	94	53	71	29	51	31	18
10	8	4	4	23	102	175	50	50	8	34	58
MÉDIA	19,2	8,8	10,4	94,9	150,7	54,4	45,9	54,1	31,7	50,3	18,1
D.P.M.	6,2	4,1	4,2	49,4	43,2	44,3	13,4	13,4	16,4	14,5	14,7
E.P.M.	1,9	1,3	1,3	15,6	13,6	14,0	4,2	4,2	5,2	4,6	4,6

WAY-100635 (5,57 nmol/0,1µl)

SUJEITO	TE	EBA	EBF	TBA	TBF	TC	%EBA	%EBF	%TBA	%TBF	%TC
1	12	0	12	0	291	9	0	100	0	97	3
2	15	5	10	109	146	45	33	67	36	49	15
3	17	10	7	125	134	41	59	41	42	45	14
4	21	10	11	112	158	30	48	52	37	53	10
5	19	8	11	39	232	26	42	58	13	78	11
6	14	8	6	68	185	47	57	43	23	62	16
7	16	8	8	94	191	15	50	50	31	64	5
8	7	4	3	101	179	21	57	43	34	60	7
MÉDIA	15,1	6,6	1,2	27,0	133	31,6	43,3	7,2	2,0	63,4	10,0
D.P.M.	0,6	0,4	0,4	2,0	9,8	10,5	2,4	2,4	0,6	3,2	3,5
E.P.M.	1,5	1,2	1,2	5,0	29,5	31,6	6,9	7,2	2,0	6,0	1,6

Quadro 3 : Registro das medidas convencionais em camundongos submetidos ao LCE após microinjeção combinada intra-septo de 8-OH-DPAT (10 nmol) e WAY-100635 (5,57 nmol/0,1µl).

Controle

SUJEITO	TE	EBA	EBF	TBA	TBF	TC	%EBA	%EBF	%TBA	%TBF	%TC
1	23	8	15	115,0	177,0	8,0	34,7	65,2	3,0	59,0	38,0
2	21	4	17	123,0	171,0	6,0	19,0	80,9	41,0	56,0	3,0
3	14	5	9	93,0	200,0	7,0	35,7	64,2	31,0	66,6	2,3
4	20	6	14	126,6	144,3	29,0	30,0	70,0	42,2	48,1	9,6
5	23	7	16	123,5	145,0	31,4	30,4	69,5	41,1	48,3	10,4
6	22	7	15	95,0	195,0	10,0	31,8	68,1	31,6	65,0	3,3
7	22	14	8	115,0	114,8	70,2	63,6	36,3	38,3	38,2	23,4
8	8	1	7	7,8	279,0	13,1	12,5	87,5	2,6	93,0	4,3
MÉDIA	19,1	6,5	12,6	99,8	178,2	21,8	32,2	67,7	28,8	59,3	11,8
D.P.M.	5,3	3,7	3,9	39,3	49,6	21,9	15,0	15,0	16,6	16,5	12,6
E.P.M.	1,9	1,3	1,40	13,9	17,5	7,7	5,	5,3	5,8	5,8	4,4

Veículo + DPAT (5,6)

SUJEITO	TE	EBA	EBF	TBA	TBF	TC	%EBA	%EBF	%TBA	%TBF	%TC
1	32	19	13	127,7	77,3	94,9	59,3	40,6	42,5	25,7	31,6
2	34	17	17	121,8	115,3	62,8	50,0	50,0	40,6	38,4	20,9
3	37	22	15	139,7	86,6	73,5	51,1	48,8	46,5	28,8	24,5
4	29	20	9	173,9	81,0	44,9	64,5	35,4	57,9	27,0	15,0
5	41	35	6	198,2	45,5	56,2	85,3	14,6	66,0	15,1	18,7
MÉDIA	34,6	22,6	12,0	152,3	81,1	66,5	62,0	37,9	50,7	27,1	22,6
D.P.M.	4,6	7,1	4,4	32,6	24,9	18,9	14,3	14,3	10,8	8,3	6,3
E.P.M.	2,1	3,2	2,0	14,6	11,1	8,4	6,4	6,4	4,8	3,7	5,

Veículo + DPAT (10)

SUJEITO	TE	EBA	EBF	TBA	TBF	TC	%EBA	%EBF	%TBA	%TBF	%TC
1	19	10	9	186,0	92,0	22,0	52,6	47,3	57,0	41,0	2,0
2	18	8	10	125,0	159,0	16,0	44,4	55,5	41,6	53,0	5,3
3	19	8	11	112,0	160,0	28,0	42,1	57,8	37,3	53,3	9,3
4	25	16	9	182,0	51,0	67,0	64,0	36,0	60,6	17,0	22,3
5	16	9	7	110,0	154,0	36,0	56,2	43,7	36,6	51,3	12,0
6	16	8	8	146,0	125,0	29,0	50,0	50,0	48,6	41,6	9,6
7	23	14	9	187,0	92,0	21,0	60,8	39,1	54,0	42,0	4,0
MÉDIA	19,4	10,4	9,0	149,7	119,0	31,2	52,9	47,1	48,0	42,8	9,2
D.P.M.	3,4	3,2	1,2	35,0	42,0	17,0	8,1	8,1	9,6	12,6	6,7
E.P.M.	1,3	1,2	0,4	13,2	15,9	6,4	3,0	3,0	3,6	4,8	2,6

WAY + Veículo

SUJEITO	TE	EBA	EBF	TBA	TBF	TC	%EBA	%EBF	%TBA	%TBF	%TC
1	TENTR	EBA	EBF	TBA	TBF	TC	%EBA	%EBF	%TBA	%TBF	%TC
2	12	3	9	52,0	72,0	176,0	25,0	75,0	17,3	24,0	58,6
3	11	4	7	61,0	109,4	129,6	36,3	63,6	20,3	36,4	43,2
4	19	8	11	67,0	183,3	49,6	30,7	69,2	22,3	61,1	16,5
5	21	9	12	95,6	163,8	40,4	33,3	66,6	31,9	54,6	13,4
6	22	13	9	74,8	161,0	64,1	48,1	51,8	24,9	53,6	21,3
7	16	9	7	74,1	221,6	4,1	28,1	71,8	24,7	73,8	1,3
MÉDIA	16,8	7,7	9,1	70,8	151,8	77,3	33,6	66,3	23,6	50,6	25,8
D.P.M.	4,6	3,6	2,0	14,9	53,4	63,4	8,1	8,1	4,9	17,8	21,1
E.P.M.	1,9	1,5	0,8	6,0	21,8	25,9	3,32	3,32	2,03	7,3	8,6

WAY + DPAT (5,6)

SUJEITO	TE	EBA	EBF	TBA	TBF	TC	%EBA	%EBF	%TBA	%TBF	%TC
1	23	8	15	21,7	213,5	64,6	34,7	65,2	7,2	71,1	21,5
2	21	10	11	18,5	208,8	72,6	34,4	65,5	6,1	69,6	24,2
3	20	10	10	29,3	191,9	78,8	38,4	61,5	9,7	63,9	26,2
4	10	1	9	1,4	234,1	64,4	10,0	90,0	0,4	78,0	21,4
5	18	1	17	2,5	242,7	54,7	5,5	94,5	0,8	80,9	18,2
6	22	11	11	29,6	115,2	155,1	50,0	50,0	9,8	38,4	51,7
MÉDIA	19,0	6,8	12,1	17,2	201,0	81,7	28,8	71,1	5,7	67,0	27,2
D.P.M.	4,7	4,6	3,1	12,5	45,8	36,8	17,3	17,3	4,1	15,2	12,3
E.P.M.	1,9	1,9	1,2	5,1	18,7	15,0	7,0	7,0	1,7	6,2	5,0

WAY + DPAT (10)

SUJEITO	TE	EBA	EBF	TBA	TBF	TC	%EBA	%EBF	%TBA	%TBF	%TC
1	15	8	7	31,0	262,7	6,3	53,3	46,6	10,3	87,7	2,1
2	17	9	8	32,3	165,0	102,7	27,2	72,7	10,7	55,0	34,2
3	14	8	6	58,0	128,3	113,7	57,1	42,8	19,3	42,7	37,9
4	14	8	6	53,0	132,0	115,0	57,1	42,8	17,6	44,0	38,3
5	15	9	6	25,0	150,2	124,8	60,0	40,0	8,3	50,0	41,6
MÉDIA	15,0	8,4	6,6	39,8	167,6	92,5	50,9	49,0	13,2	55,9	30,8
D.P.M.	1,2	0,5	0,8	14,6	55,1	48,8	13,4	13,4	4,8	18,3	16,2
E.P.M.	0,6	0,2	0,4	6,5	24,6	21,8	6,0	6,0	2,1	8,2	7,3

Quadro 4: Registro das medidas etológicas em camundongos submetidos ao LCE após microinjeção intra-septo de 8-OH-DPAT (0, 5,6 e 10,0 nmol/0,1µl).

Controle						
SUJEITO	Tot. mergulho	% mergulhoBF	Total esticar	% esticar BF	Total Levantar	Total Imobilidade
1	1	100,0	39	89,6	17	0
2	26	15,3	20	45,0	27	0
3	16	66,2	49	62,4	12	6
4	24	64,1	77	38,9	24	0
5	22	0,0	70	51,4	15	0
6	24	65,0	98	5,1	39	0
7	25	55,0	72	71,3	19	0
8	13	63,3	64	76,5	17	0
9	26	72,8	49	51,0	7	0
10	22	50,0	52	48,0	32	0
11	17	42,8	32	75,6	21	0
MÉDIA	21,6	74,8	57,1	77,4	20,7	0,1
D.P.M.	12,2	31,1	23,3	29,1	10,8	1,8
E.P.M.	2,6	9,7	5,2	7,6	2,8	0,9

8-OH-DPAT 5,6						
SUJEITO	Tot. mergulho	% mergulhoBF	Total esticar	% esticar BF	Total Levantar	Total Imobilidade
1	12	16,6	41	85,3	18	2
2	37	12,7	35	61,9	9	2
3	21	66,6	30	86,6	24	6
4	0	26,0	41	83,3	10	0
5	1	100,0	29	89,6	18	6
6	26	15,3	30	45,0	27	0
7	16	6,2	49	35,0	12	6
8	24	44,1	77	38,9	24	3
9	22	25,0	70	71,4	15	0
10	24	29,0	41	65,1	39	4
11	40	56,0	62	71,3	19	0
12	3	43,3	64	76,5	7	6
13	7	62,8	49	51,0	17	4
14	6	50,0	52	48,0	32	0
MÉDIA	20,9	55,9	44,3	72,9	19,2	4,5
D.P.M.	12,8	30,4	24,6	31,5	11,3	1,6
E.P.M.	3,6	10,6	7,1	9,0	4,1	2,0

8-OH-DPAT 10

SUJEITO	Tot. mergulho	% mergulhoBF	Total esticar	% esticar BF	Total Levantar	Total Imobilidade
1	12	52,8	49	51,0	7	0
2	16	50,0	52	68,0	22	2
3	7	42,8	45	65,6	21	0
4	35	72,0	75	42,0	25	4
5	16	31,2	27	88,8	14	0
6	27	50,0	38	50,0	33	0
7	39	53,0	35	72,0	21	2
8	7	42,8	32	65,6	21	0
9	35	75,6	75	42,0	25	6
10	16	61,2	27	88,8	14	0
11	27	12,0	38	50,0	23	0
MÉDIA	24,4	55,5	44,6	69,5	19,1	8,1
D.P.M.	11,6	21,3	18,1	25,7	8,3	0,0
E.P.M.	2,8	10,9	6,0	9,4	3,9	4,

Quadro 5 : Registro das medidas etológicas em camundongos submetidos ao LCE após microinjeção intra-septo de WAY-100635 (0 e 5,6 nmol/0,1µl).

Controle

SUJEITO	Tot. mergulho	% mergulhoBF	Total esticar	% esticar BF	Total Levantar	Total Imobilidade
1	8	0	52	1,3	32	0
2	41	100,0	14	76,5	21	0
3	24	15,3	29	51,0	25	0
4	13	16,5	52	48,0	34	6
5	11	4,1	32	65,6	33	0
6	28	0,0	45	12,0	29	0
7	21	0,0	27	88,8	21	5
8	25	21,0	38	50,0	25	0
9	20	43,3	25	72,0	34	4
10	15	42,8	32	65,6	33	0
MÉDIA	19,0	17,9	33,1	54,0	22,8	1,5
D.P.M.	14,7	31,9	18,6	27,7	5,8	0,0
E.P.M.	2,9	1,2	3,9	3,7	4,3	0,0

WAY100635

SUJEITO	Tot. mergulho	% mergulhoBF	Total esticar	% esticar BF	Total Levantar	Total Imobilidade
1	16	31,2	26	68,8	23	0
2	27	0,0	38	30,0	13	0
3	33	3,0	25	62,0	21	0
4	11	40,0	44	18,1	26	0
5	44	100,0	71	100,0	11	0
6	9	32,2	55	87,2	26	0
7	25	20,0	52	86,5	09	0
8	23	0,0	64	17,1	21	0
MÉDIA	23,2	29,0	44,0	60,4	16,9	0,0
D.P.M.	10,6	33,7	18,8	32,7	6,6	0,0
E.P.M.	2,8	2,1	4,8	6,3	2,1	0,0

Quadro 6 : Registro das medidas etológicas em camundongos submetidos ao LCE após microinjeção combinada intra-septo de WAY-100635 (5,6 nmol/0,1µl) e 8-OH-DPAT(5,6 e 10 nmol/0,1µl).

Controle

SUJEITO	Tot. mergulho	% mergulhoBF	Total esticar	% esticar BF	Total Levantar	Total Imobilidade
1	14	10	32	25,0	21	0
2	16	16,6	41	85,3	14	0
3	37	22,7	21	61,9	9	2
4	21	16,6	30	86,6	4	0
5	12	0,0	12	55,3	0	0
6	11	100,0	29	89,6	7	0
7	26	15,3	20	45,0	27	0
8	16	6,2	49	22,4	12	6
MÉDIA	15,1	26,0	29,3	62,4	11,8	1,0
D.P.M.	12,8	37,1	11,9	28,3	8,9	2,1
E.P.M.	4,5	13,1	4,2	10,0	3,1	0,8

Salina e DPAT 5,6

SUJEITO	Tot. mergulho	% mergulhoBF	Total esticar	% esticar BF	Total Levantar	Total Imobilidade
1	39	4,16	77	38,9	24	0
2	42	0,0	70	11,4	15	0
3	29	0,0	98	5,1	39	0
4	40	0,0	72	1,3	19	0
5	13	33,3	64	76,5	7	0
MÉDIA	22,6	7,5	76,2	26,7	20,8	0
D.P.M.	13,1	14,6	13,0	31,5	11,9	0,0
E.P.M.	5,9	6,5	5,8	14,1	5,3	0,0

Salina e DPAT 10

SUJEITO	Tot. mergulho	% mergulhoBF	Total esticar	% esticar BF	Total Levantar	Total Imobilidade
1	7	42,8	49	51,0	7	0
2	6	50,0	52	48,0	32	0
3	7	42,8	32	65,6	21	0
4	35	0,0	75	12,0	25	0
5	16	31,2	27	88,8	34	0
6	27	0,0	38	50,0	33	0
7	33	3,0	25	72,0	21	0
MÉDIA	18,7	24,3	42,6	55,4	24,7	0,0
D.P.M.	12,8	22,5	17,6	24,1	9,6	0,0
E.P.M.	4,8	8,5	6,7	9,1	3,6	0,0

WAY e Salina

SUJEITO	Tot. mergulho	% mergulhoBF	Total esticar	% esticar BF	Total Levantar	Total Imobilidade
1	7	42,8	32	65,6	21	0
2	35	0,0	75	12,0	25	0
3	16	31,2	27	88,8	34	0
4	27	0,0	38	50,0	33	0
5	33	3,0	25	72,0	21	0
6	11	0,0	44	18,1	26	1
MÉDIA	21,5	12,9	40,2	51,1	26,7	0,2
D.P.M.	11,8	19,1	18,5	30,6	5,7	0,4
E.P.M.	4,8	7,8	7,5	12,5	2,3	0,2

WAY e DPAT 5,6

SUJEITO	Tot. mergulho	% mergulhoBF	Total esticar	% esticar BF	Total Levantar	Total Imobilidade
1	4	100,0	81	100,0	21	0
2	9	22,2	55	87,2	26	2
3	5	20,0	52	86,5	29	2
4	23	0,0	64	17,1	40	0
5	10	30,0	44	75,0	22	0
MÉDIA	10,2	34,4	59,2	73	27,6	0,8
D.P.M.	7,6	38,3	14,1	32,5	7,6	1,1
E.P.M.	3,4	17,1	6,3	14,6	3,4	0,5

WAY e DPAT 10

SUJEITO	Tot. mergulho	% mergulhoBF	Total esticar	% esticar BF	Total Levantar	Total Imobilidade
1	2	50,0	24	16,6	8	0
2	6	66,6	78	61,5	15	0
3	8	62,5	47	70,2	26	0
4	11	0,0	28	53,5	9	6
5	5	80,0	63	53,9	15	0
MÉDIA	6,4	51,8	48,0	51,2	14,6	1,2
D.P.M.	3,4	30,9	22,9	20,5	7,2	2,7
E.P.M.	1,5	13,8	10,3	9,2	3,2	1,2