

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS  
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS  
CONVÊNIO UFSCar/UNESP**

**AVALIAÇÃO DO PAPEL DOS RECEPTORES 5-HT<sub>3</sub> DA SUBSTÂNCIA CINZENTA  
PERIAQUEDUTAL DE CAMUNDONGOS SUBMETIDOS AO LABIRINTO EM  
CRUZ ELEVADO**

**Luana Tenório da Silva**

**São Carlos, SP  
Março, 2009**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS  
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS  
CONVÊNIO UFSCar/UNESP**

**AVALIAÇÃO DO PAPEL DOS RECEPTORES 5-HT<sub>3</sub> DA SUBSTÂNCIA  
CINZENTA PERIAQUEDUTAL DE CAMUNDONGOS SUBMETIDOS AO  
LABIRINTO EM CRUZ ELEVADO**

**Dissertação apresentada ao Programa  
de Pós-Graduação em Ciências  
Fisiológicas da Universidade Federal  
de São Carlos, como parte dos  
requisitos para obtenção do título de  
Mestre em Ciências Fisiológicas.**

**Orientadora: Profa. Dra. Azair Liane Matos do Canto de Souza**

**São Carlos - SP  
2009**

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

S586ap

Silva, Luana Tenório da.

Avaliação do papel dos receptores 5-HT<sub>3</sub> da substância cinzenta periaquedutal de camundongos submetidos ao labirinto em cruz elevado / Luana Tenório da Silva. -- São Carlos : UFSCar, 2009.

92 f.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal de São Carlos, 2009.

1. Ansiedade. 2. 5-HT<sub>3</sub>. 3. Labirinto em cruz elevado. 4. Camundongos. I. Título.

CDD: 615.78 (20<sup>a</sup>)

Universidade Federal de São Carlos  
Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas  
Convênio UFSCar/UNESP

Defesa de Dissertação de Luana Tenório da Silva

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

*Azair Liane Matos do Canto de Souza*

Prof. Dr. Silvio Morato de Carvalho.....

*Silvio Morato de Carvalho*

Prof. Dr. Paulo José de Campos Nogueira.....

*Paulo José de Campos Nogueira*

*Dedico este trabalho aos meus queridos pais que sempre fizeram tudo por mim, pelos momentos maravilhosos que passamos juntos, pelos valores aprendidos, que se tornaram base para buscar meus objetivos incessantemente.*

## **AGRADECIMENTOS**

À Deus.

Aos meus pais, pelo amor e apoio em todas as etapas da minha vida.

À Azair, pela orientação.

Aos meus irmãos André e Aline, pela nossa amizade e carinho! Mesmo longe, sempre presentes. Ao meu namorado Ronnan pelo incentivo constante, sempre me acompanhando com alegria, companheirismo e cumplicidade.

À banca de qualificação pelas sugestões: Dr. Laurival Antônio de Lucca Jr., Dra. Rosana Mattioli e Dra. Cleópatra da Silva Planeta.

À banca de defesa, Dr. Sílvio Morato, Dr. Paulo José Campos Nogueira e Dra. Azair Liane Matos Canto de Souza pela atenção prestada na leitura deste trabalho.

Aos técnicos do laboratório, Adriana Corsi e José Gaban, pelo auxílio no dia-a-dia.

Aos amigos do laboratório Vanessa e Gabriel pela boa vontade em me ajudar e ensinar sempre. À Luciana, pois através dela conheci o LPA. A todos Ila, Letícia, Ana, Fernando, Daniela, Cacilda, Kelly, Polianna, Hélvia e Cilene pela agradável convivência.

Aos amigos do laboratório de farmacologia-UNESP, pelo apoio sempre que necessário.

Ao Alexandre pela competência profissional na secretaria do Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq, pela bolsa concedida durante a realização deste estudo.

## SUMÁRIO

1. RESUMO.....	7
2. ABSTRACT.....	9
3. INTRODUÇÃO.....	11
3.1 Ansiedade.....	11
3.2 Reações de defesa.....	15
3.3 Substância Cinzenta Periaquedutal (SCP).....	17
3.4 Serotonina e ansiedade.....	19
3.5 Modelo animal de ansiedade: o labirinto em cruz elevado (LCE).....	22
3.6 Evidências clínicas e experimentais.....	24
4. OBJETIVOS.....	28
5. MATERIAL E MÉTODOS.....	29
5.1 Sujeitos.....	29
5.2 Drogas.....	29
5.3 Cirurgia e microinjeção de drogas.....	30
5.4 Aparato e procedimento geral.....	31
5.5 Delineamento experimental.....	32
5.5.1 Exp. 1: Microinjeção intra-SCP de ondansetron.....	32
5.5.2 Exp. 2: Microinjeção intra-SCP de mCPBG.....	32
5.5.3 Exp. 3: Microinjeção combinada intra-SCP de ondansetron e mCPP.....	32
5.6 Análise comportamental.....	33
5.7 Histologia.....	34
5.8 Análise estatística.....	34
5.9 Ética.....	35
6. RESULTADOS.....	36
6.1 Exp. 1: Microinjeção intra-SCP de ondansetron.....	37
6.2 Exp. 2: Microinjeção intra-SCP de mCPBG.....	39
6.3 Exp. 3: Microinjeção combinada intra-SCP de ondansetron e mCPP.....	41
7. DISCUSSÃO.....	46
8. CONCLUSÃO.....	54
9. REFERÊNCIAS.....	55
10. APÊNDICE.....	81

## ABREVIACÕES

**5-HT** – 5 hidroxitriptamina, serotonina  
**%EBA** – percentagem de entradas nos braços abertos  
**%EBF** – percentagem de entradas nos braços fechados  
**%TBA** – percentagem de tempo gasto nos braços abertos  
**%TBF** – percentagem de tempo gasto nos braços fechados  
**%TC** – percentagem de tempo gasto no centro do labirinto  
**BAs** – braços abertos  
**BFs** – braços fechados  
**DPM** – desvio padrão da média  
**EBA** – entradas nos braços abertos  
**EBF** – entradas nos braços fechados  
**EPM** – erro padrão da média  
**LCE** – labirinto em cruz elevado  
**n** - número de sujeitos  
**NDR** – núcleo dorsal da rafe  
**NMR** – núcleo mediano da rafe  
**OND+V** – ondansetron + veículo  
**OND+mCPP** – ondansetron + mCPP  
**SCP** – substância cinzenta periaquedutal  
**SCPd** – substância cinzenta periaquedutal dorsal  
**SCPv** – substância cinzenta periaquedutal ventral  
**TAG** – transtorno de ansiedade generalizada  
**TBA** – tempo gasto nos braços abertos  
**TBF** – tempo gasto nos braços fechados  
**TC** – tempo gasto no centro  
**TE** – total de entradas  
**V+mCPP** – veículo + mCPP  
**V+V** – veículo + veículo

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1:** Representação esquemática das colunas da SCP. 18
- Figura 2:** Receptor 5-HT<sub>3</sub>. 22
- Figura 3:** Representação esquemática dos sítios de microinjeções intra-SCP de camundongos. O número de pontos é inferior ao número total de animais devido à sobreposição. 36
- Figura 4:** Efeito do ondansetron (0, 0,3, 1,0, 3,0 nmol/0,1µl) microinjetado na SCP de camundongos sobre a frequência de entradas nos braços fechados e a porcentagem de entradas e tempo gasto nos braços abertos do LCE. Os dados representam a média + E.P.M. (n=9-12).  
\**P* < 0,05 comparado ao grupo controle (ANOVA de uma via seguido do teste de Duncan). 38
- Figura 5:** Ausência de efeitos do mCPBG (0, 40, 80, 160 nmol/0,1µl) microinjetado na SCP de camundongos sobre a frequência de entradas nos braços fechados e a porcentagem de entradas e tempo gasto nos braços abertos do LCE. Os dados representam a média + E.P.M. (n=9-12). (ANOVA de uma via seguido do teste de Duncan). 40
- Figura 6:** Efeito da microinjeção combinada de ondansetron (0 e 1,0 nmol/0,1 µl) e mCPP (0 e 0,03 nmol/0,1 µl), microinjetados na SCP de camundongos sobre a frequência de entradas nos braços fechados e a porcentagem de entradas e tempo gasto nos braços abertos do LCE. Os dados representam a média + E.P.M. (n = 9-12).  
\**P* < 0,05 comparado ao veículo (V+V)  
#*P* < 0,05 comparado ao grupo V+mCPP 43
- Foto 1:** labirinto em cruz elevado 32

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1:</b> Manifestações psíquicas da ansiedade.	<b>12</b>
<b>Tabela 2:</b> Manifestações somáticas da ansiedade.	<b>13</b>
<b>Tabela 3:</b> Transtornos de ansiedade segundo classificação do DSM-IV.	<b>14</b>
<b>Tabela 4:</b> Efeito da microinjeção de ondansetron (0, 0,3, 1,0 e 3,0 nmol/0,1 µl) na SCP de camundongos avaliados no LCE.	<b>39</b>
<b>Tabela 5:</b> Ausência de efeitos do mCPBG (0, 40, 80, 160 nmol/0,1 µl) microinjetado na SCP de camundongos avaliados no LCE.	<b>41</b>
<b>Tabela 6:</b> Efeito da microinjeção combinada de ondansetron (1,0 nmol/0,1µl) e mCPP (0,03 nmol/0,1 µl) na SCP de camundongos avaliados no LCE.	<b>45</b>

## 1. RESUMO

A exposição de animais a situações aversivas, tais como o labirinto em cruz elevado (LCE), ativa vias serotoninérgicas com projeções para estruturas envolvidas no sistema de defesa tais como, amígdala, septo, hipotálamo, hipocampo e substância cinzenta periaquedutal (SCP), produzindo alterações comportamentais que podem ser caracterizadas como ansiedade. Entretanto, a serotonina (5-HT) apresenta um papel dual nesta modulação. Assim, enquanto a estimulação de receptores do subtipo 5-HT<sub>1A</sub> ou 5-HT<sub>2</sub> em estruturas prosencefálicas como, amígdala e hipocampo resultam na potencialização de respostas de ansiedade em roedores, a ativação dos mesmos receptores na SCP, frequentemente tende a diminuir comportamentos relacionados à ansiedade. Este estudo investigou o papel dos receptores 5-HT<sub>3</sub> da SCP na modulação da ansiedade em camundongos avaliados no LCE. Nos Experimentos 1 e 2, camundongos receberam microinjeções intra-SCP de ondansetron (0, 0,3, 1,0, 3,0 nmol/0,1 µl) e mCPBG (0, 40, 80 e 160 nmol/0,1 µl), antagonista e agonista dos receptores 5-HT<sub>3</sub>, respectivamente. Como o mCPBG não alterou nenhum dos índices convencionais de ansiedade (porcentagem de entrada e tempo gasto nos braços abertos) e de avaliação de risco, verificamos no experimento 3 a possibilidade de interação entre receptores 5-HT<sub>3</sub> e 5-HT<sub>2</sub>. Para isso, realizamos microinjeções combinadas de ondansetron e mCPP, um agonista dos receptores 5-HT<sub>2B/2C</sub>. Os resultados mostraram que microinjeções de ondansetron (3,0 nmol) aumentaram os índices convencionais de ansiedade. Nenhuma das doses de mCPBG intra-SCP, alteraram os índices convencionais e etológicos de ansiedade. O efeito ansiolítico produzido pela administração intra-SCP do mCPP (0,03 nmol), foi bloqueado pela infusão de ondansetron (1,0 nmol) na mesma estrutura mesencefálica. Todos os efeitos foram observados sem alteração da atividade locomotora

(entrada nos braços fechados). Os nossos resultados sugerem uma possível interação entre receptores 5-HT<sub>3</sub> e 5-HT<sub>2B/2C</sub> da SCP na modulação da ansiedade em camundongos.

Palavras-Chave: ansiedade, agonista e antagonista dos receptores 5-HT<sub>3</sub>, labirinto em cruz elevado, substância cinzenta periaquedutal, camundongos, ondansetron, mCPBG, mCPP.

## 2. ABSTRACT

The exposure of animals to aversive situations, such as elevated plus-maze (EPM), activates serotonergic pathways with projections into structures involved in the defense system, such as the amygdala, septum, hypothalamus, hippocampus and periaqueductal grey matter (PAG), producing behavioral changes that can be characterized as anxiety. However the serotonin (5-HT) presents a dual role in this modulation. Thus, while the stimulation of the receptor subtype 5-HT<sub>1A</sub> and 5-HT<sub>2</sub> prosencephalic in structures such as amygdala and hippocampus result in potentiation of responses of anxiety in rodents, the activation of these receptors in the PAG, often tends to reduce behaviors related to anxiety. This study focused the role of 5-HT<sub>3</sub> receptors in the PAG in the anxiety in the mice EPM test. In experiments 1 and 2, mice received infusions intra-PAG of ondansetron (0, 0.3, 1.0, 3.0 nmol/0.1 µL) and mCPBG (0, 40, 80 and 160 nmol/0.1 µL), 5-HT<sub>3</sub> receptors antagonist and agonist, respectively. As the mCPBG not changed any of the conventional indices (% open-arm entries and % open-arm time) and risk assessment, we investigated in experiment 3 the possibility of interaction between 5-HT<sub>3</sub> and 5-HT<sub>2</sub> receptors. For this, we perform combined microinfusions of intra-PAG ondansetron and mCPP, an agonist of 5-HT<sub>2B/2C</sub> receptors, on behavior of maze-naïve mice. The results showed that intra-PAG infusions of ondansetron (3.0 nmol) increased the behavioral indices of anxiety. None of the doses of intra-PAG infusions of mCPBG modified the conventional and ethological indices of anxiety. The anxiolytic-like effect produced by intra-PAG infusions of mCPP (0.03 nmol) was blocked by infusions of ondansetron (1.0 nmol) in the same mesencephalic structure. All effects were observed in the absence of significant changes in locomotor activity

(closed-arm entries). Our results indicate that there is a possible interaction between 5-HT<sub>3</sub> and 5-HT<sub>2B/2C</sub> receptors modulation into the PAG of anxiety in mice.

Keywords: anxiety, agonists and antagonist of 5-HT<sub>3</sub> receptors, elevated plus-maze, periaqueductal grey matter, mice, ondansetron, mCPBG, mCPP.

### **3. INTRODUÇÃO**

#### **3.1 Ansiedade**

A ansiedade é um fenômeno adaptativo com duração e intensidade apropriadas e necessárias ao homem no enfrentamento das situações que lhes são impostas pela vida. Está presente na vida do homem desde seu surgimento e evolução. É considerada uma das respostas inatas mais importantes dos indivíduos, já que a antecipação mental de um possível ataque por predadores possibilitou o surgimento de estratégias eficazes de fuga ou enfrentamento, o que garantiu a integridade física e a continuidade da espécie (Nutt, 1990; Dractu e Lader, 1993). Segundo Pichot (1996), os termos latinos correspondentes à angústia e ansiedade derivam do verbo grego agkhô (eu aperto, eu estreito). Deste verbo, surgem os verbos ango e anxio, que no latim indicam respectivamente aperto, tormento, constrição física. Estas duas raízes deram origem aos termos “angústia” e “ansiedade”, que atualmente, continuam sendo empregados. Com relação a estes termos, a distinção entre ansiedade e angústia é feita por alguns autores, contudo, não há consenso sobre o tema (Graeff, 1999).

Níveis normais de ansiedade são benéficos aos indivíduos, já que promovem uma melhoria no desempenho de atividades motoras e cognitivas (Graeff, 1999). No entanto, quando estes níveis ultrapassam certo limiar - que varia de pessoa para pessoa - e causa prejuízos funcionais, a ansiedade passa a ser considerada patológica, condição denominada “Transtorno de Ansiedade”. A distinção entre a ansiedade normal e a patológica baseia-se na intensidade e duração das manifestações, grau de limitação provocado e na proporcionalidade entre o evento desencadeante e a reação do indivíduo. Portanto, quando a ansiedade é intensa, persistente desproporcional às possíveis causas aparentes e interfere de

maneira considerável no funcionamento do indivíduo, deve ser considerada doença e alvo de intervenção médica (Nutt, 1990; Hetem, 2004). Atualmente, o termo ansiedade é caracterizado como um estado emocional avaliado subjetivamente como desagradável, sendo portanto uma combinação de manifestações psíquicas e somáticas (Tabela 1 e 2). Esta combinação de sintomas faz com que muitos indivíduos procurem primeiro um clínico geral, ou especialista não-psiquiatra. Quando os aspectos subjetivos da ansiedade são as queixas principais, o diagnóstico é realizado corretamente pelos clínicos gerais em 95% dos casos. Entretanto, quando os pacientes enfatizam os sintomas somáticos, o índice de acerto cai pela metade (Hetem, 2004), já que estes estão presentes em diversas outras patologias.

**Tabela 1:** Manifestações psíquicas da ansiedade

Agressividade	Apreensão
Desrealização	Despersonalização
Impulsividade	Ideação suicida
Nervosismo	Medo de morrer/ficar louco
Pânico	Prejuízo da atenção
Sensação de "estar no limite"	Irritabilidade

Adaptada de Hetem e Graeff, 2004

As discrepâncias entre os conceitos e diagnósticos dos transtornos de ansiedade entre os profissionais da psiquiatria foram fatores que dificultaram o avanço das investigações científicas. Assim, para a normatização de desordens mentais e seus critérios diagnósticos, foram adotados manuais tais como o Código Internacional de Doenças, já em sua décima versão (CID-10), pela Organização Mundial de Saúde (OMS) e o Manual de Diagnóstico e Estatística das Doenças Mentais (DSM, *Diagnostic Statistical Manual of Mental Disorders*), adotado pela Associação Psiquiátrica Americana (APA), já em sua quarta revisão (DSM-

IV). A Tabela 3 mostra a classificação dos transtornos de ansiedade segundo o DSM-IV (American Psychiatric Association, 1994).

**Tabela 2:** Manifestações somáticas da ansiedade

Cardiovasculares	Aumento da pressão arterial Dor/desconforto torácico Palpitações
Gastrointestinais	Dificuldade de deglutição Náuseas e vômitos Diarréia Alterações do apetite Desconforto epigástrico
Geniturinários	Aumento no número de micções Hesitação e/ou urgência miccional Amenorréia
Otoneurológicos	Dor de cabeça Tonturas Tremor Reflexo de sobressalto exagerado Zumbido no ouvido
Perturbações do sono	Insônia de conciliação Sono entrecortado Sono pouco repousante
Respiratórios	Sensação de falta de ar Aumento da frequência respiratória Encurtamento movimentos respiratórios
Sexuais	Diminuição da libido Impotência Ejaculação precoce
Tensão motora	Tremor Tensão muscular Inquietação Dor muscular Sensação de fraqueza
Vasomotores	Extremidades frias Calafrios e/ou ondas de calor Rubor Sudorese Palidez

Adaptada de Hetem e Graeff, 2004

Entre essas classificações, o Transtorno de Ansiedade Generalizada (TAG), é uma condição caracterizada por ansiedade e preocupação excessiva, ocorrendo na maioria dos dias por pelo menos seis meses, acompanhada por pelo menos três sintomas adicionais tais como inquietação, dificuldade de concentração, irritabilidade, tensão muscular e distúrbio do sono (DSM IV). É a patologia psíquica mais frequente no mundo após o transtorno afetivo conhecido como Depressão (World Health Organization, 2007).

**Tabela 3:** Transtornos de ansiedade segundo classificação do DSM-IV

---

Transtorno de Pânico com Agorafobia  
Transtorno de Pânico sem Agorafobia  
Agorafobia sem História de Transtorno de Pânico  
Fobia Social  
Fobia Específica  
Transtorno Obsessivo-Compulsivo  
Transtorno de Estresse Pós-Traumático  
Transtorno de Estresse Agudo  
*Transtorno de Ansiedade Generalizada*  
Transtorno de Ansiedade Devido a uma Condição Médica Geral  
Transtorno de Ansiedade Induzido por Substância  
Transtorno de Ansiedade Sem Outra Especificação

---

Adaptada de Hetem e Graeff, 2004

Sob uma perspectiva evolutiva, a investigação dos comportamentos defensivos em mamíferos, como nos roedores por exemplo, é de extrema relevância para o entendimento dos mecanismos neurobiológicos envolvidos nos transtornos de ansiedade, já que estes são considerados patologias do sistema de defesa humano (Gray e McNaughton, 2000; Blanchard et al., 2001; Graeff e Zangrossi, 2002).

### 3.2 Reações de defesa

O estudo da neurobiologia do medo e da ansiedade teve início através dos relatos de Charles Darwin sobre o caráter evolutivo do comportamento emocional no homem. Seus trabalhos, publicados originalmente em 1872 no livro *The Expression of Emotions in Man and Animals*, indicavam que o estudo do comportamento dos animais era a chave para a compreensão das emoções no homem (Rodgers et al., 1997; Brandão et al., 2003). A partir desta abordagem, o homem, tendo outros animais como ancestrais, compartilharia com estes além de semelhanças físicas, suas emoções básicas.

Neste contexto, as raízes do medo e da ansiedade estão nas reações de defesa dos animais frente a estímulos que representam ameaça à sobrevivência, ou à sua integridade física. São várias as fontes de perigo tais como, estímulos ambientais (altura, claridade), alterações nos padrões físico-temporais (tempestades, incêndios, exposição a novos ambientes), estímulos nociceptivos (choques elétricos) ou mesmo por ataques de animais da mesma espécie. A apresentação da resposta dependerá da situação confrontada, da espécie em questão, resultando em respostas diferentes para estímulos distintos (Zangrossi e Graeff, 2004). Em geral, os animais utilizam uma de quatro estratégias defensivas básicas: fuga, congelamento, ataque defensivo ou submissão (Adams, 1979; Blanchard e Blanchard, 1988). A escolha por determinada estratégia leva em conta fatores como características do ambiente (rota de fuga ou não), distância do estímulo ameaçador e experiência prévia com o estímulo ou com o ambiente.

Embora a ansiedade e o medo possuam origens nas reações de defesa quando na presença de situações que envolvam perigo, acredita-se que haja diferença entre essas duas condições. Assim, supõe-se que o medo seja desencadeado por situações claras e evidentes

de perigo e ameaça, enquanto a ansiedade, por situações na qual o perigo é potencial, vago e obscuro (Graeff, 1989; Blanchard et al., 1990).

Além disso, alguns autores sugerem que a distinção entre medo e ansiedade residiria exatamente nas estratégias comportamentais adotadas pelos animais. Assim, quando o estímulo é potencialmente ameaçador, este desencadearia comportamentos de avaliação de risco (posturas e movimentos do corpo que possibilitam a aproximação e a investigação da possível ameaça), caracterizando um estado de ansiedade. Quando o estímulo ou situação ameaçadora é real, os comportamentos apresentados de luta, fuga ou congelamento caracterizariam medo. Outra diferença entre esses dois estados está no fato do medo ser insensível ao tratamento com drogas ansiolíticas, já a ansiedade se mostra sensível à ação dessas drogas (Blanchard et al., 1993). Dessa forma, modelos animais de medo e ansiedade favoreceriam a expressão de comportamentos defensivos frente a situações artificiais ou naturais de perigo, permitindo a compreensão de suas bases neurobiológicas subjacentes (Blanchard et al., 1993).

Evidências obtidas em laboratório a respeito das bases neurais do comportamento emocional apontam para existência de circuitos neurais específicos que respondem de acordo com o estímulo ao qual o indivíduo é exposto. *O Sistema Encefálico Aversivo*, representado pelo hipotálamo medial, pela substância cinzenta periaquedutal dorsal (SCPd) e pela amígdala, está associado à emissão de respostas incondicionadas (inatas e não aprendidas). Neste sistema a amígdala é a responsável pela avaliação do tipo e grau do perigo, e o resultado desta avaliação seria transmitido para o hipotálamo medial e SCP. Esta última teria a função de selecionar e organizar as respostas comportamentais e fisiológicas de defesa mais apropriadas. O hipotálamo medial por sua vez, regula o funcionamento da hipófise, responsável pela secreção de alguns hormônios (Hetem e Graeff, 2004). A

estimulação elétrica de estruturas que compõem este sistema produz um padrão típico de respostas caracterizado por intensa atividade motora (acompanhada de saltos) e alterações autonômicas como elevação da pressão arterial, frequência cardíaca e respiratória, piloereção, micção, defecação, exoftalmia (para revisão ver Brandão et al., 1994; 1999).

A organização das respostas condicionadas, por sua vez, é realizada pelo *Sistema de Inibição Comportamental*, representado pelo sistema septo-hipocampal, núcleo mediano da rafe e substância cinzenta periaquedutal ventral (SCPv) (Gray e McNaughton, 2000). A ativação deste sistema por sinais de punição, frustração, perigo ou situações novas resulta em inibição de qualquer comportamento que o animal esteja realizando, bem como, aumento do nível de vigilância e atenção ou preparo para ação física rigorosa (Hetem e Graeff, 2004). Sabe-se que a amígdala está envolvida na ativação dos dois sistemas, agindo como interface entre o sistema de inibição comportamental e o sistema encefálico aversivo (Brandão et al., 2003; McNaughton e Corr, 2004).

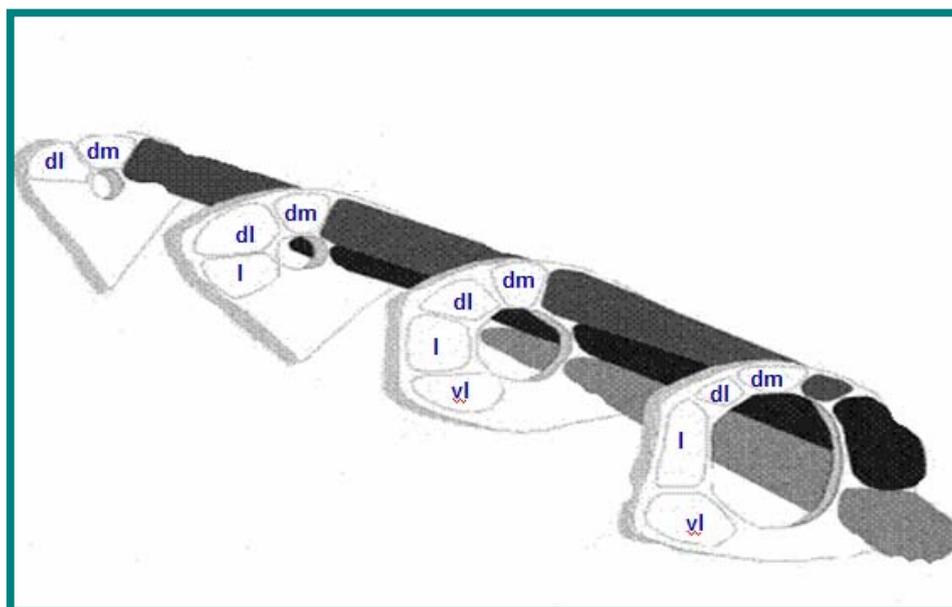
Evidências tem mostrado que estímulos incondicionados ameaçadores e proximais bem como estímulos condicionados potenciais e distais estão representados nos dois sistemas neurais responsáveis pela gênese e elaboração dos comportamentos emocionais. A ativação de um ou de outro sistema resulta na experiência emocional a qual denominamos medo/pânico e ansiedade (Brandão et al., 2003).

### **3.3 Substância Cinzenta Periaquedutal (SCP)**

A SCP refere-se a um grupo celular que circunda a região do aqueduto mesencefálico, também chamado aqueduto de Sylvius. Esta estrutura mesencefálica participa do processamento e modulação da dor, vocalização, lordose, controle

cardiorrespiratório, controle motor, termorregulação e reações de defesa (Beitz, 1990; Behbehani, 1995; Zhang et al., 2007, Nakamura e Morrison, 2007). Os primeiros ensaios experimentais sobre o papel da SCP nas reações emocionais foram realizados no final da década de 60, e demonstraram que durante a estimulação da SCP os pacientes relatavam fortes experiências emocionais, como sensação de morte e perigo iminente, acompanhadas de alterações autonômicas como piloereção, sudorese e aumento da frequência cardíaca (Nashold et al., 1969). Desde Hunsperger (1963), a SCP tem sido considerada como a via final comum de todos os comportamentos defensivos.

**Figura 1:** Representação esquemática das colunas da SCP



Adaptado de Bandler et al., 2000

De maneira geral, a SCP pode ser dividida em quatro colunas longitudinais que variam ao longo do seu eixo rostro-caudal, de acordo às suas posições em relação ao aqueduto (Bandler e Depaulis, 1991). As quatro colunas seriam: dorso-lateral, dorso-medial, lateral e ventro-lateral, as quais se diferem em características imunohistoquímicas,

densidade de receptores, conexões e funções (Bandler e Shipley, 1994; Bandler e Keay, 1996) (olhar Figura 1).

Dependendo da qualidade do estímulo, ocorre ativação de colunas específicas da SCP (Canteras e Goto, 1999; Comoli et al, 2003). A coluna dorsolateral está particularmente envolvida na integração de uma resposta comportamental ativa, caracterizada por comportamentos de luta ou fuga e desencadeada por estresse de origem psicológica, como a exposição de um roedor ao seu predador, na ausência de contato físico (Keay e Bandler, 2001). A coluna ventrolateral integra uma resposta comportamental passiva, caracterizada por imobilidade e hiporeatividade aos estímulos externos, desencadeada por estresse inevitável de origem física, como dor muscular ou visceral (Vianna et al., 2001). A resposta comportamental ativa pode desencadear, através de ativação secundária da SCP ventrolateral, um período de resposta passiva com intuito de restabelecer o organismo (Keay e Bandler, 2001).

Esta região recebe aferências e envia eferências a diferentes áreas motoras, sensoriais, autonômicas e límbicas (Sawchenko et al., 1983; Beitz, 1990; Bandler et al., 1991; Canteras e Swanson, 1992; Sowards e Sowards, 2002), indicando que a SCP esteja conectada a vários circuitos neurais responsáveis por modulações fisiológicas essenciais para a sobrevivência do organismo, o que justifica, portanto, seu envolvimento em diversas funções. Assim, a SCP é considerada uma estrutura heterogênea e de alta complexidade.

### **3.4 Serotonina e Ansiedade**

Desde sua descoberta, há mais de 50 anos atrás, a serotonina, 5-hidroxitriptamina (5-HT) tem sido alvo de intensas pesquisas, o que tem levado à descoberta de uma variedade

de alvos potenciais para drogas como receptores e enzimas (Jones e Blackburn, 2002). A serotonina é uma molécula que desempenha diversos efeitos no sistema nervoso central bem como no sistema periférico, atuando tanto como hormônio e neurotransmissor (Turlejski, 1996). A serotonina desempenha um papel regulador de muitas funções cerebrais como termorregulação (Feldberg e Myers, 1964), sono (Jouvet, 1967), agressão (Sheard, 1969) e ingestão de alimentos (Lucki, 1992). Está envolvida em vários distúrbios, tais como, depressão, fobias, pânico e ansiedade (Graeff, 1989; Zifa e Fillion, 1992; Barnes e Sharp, 1999; Menard e Treit, 1999; Green, 2006).

No cérebro dos mamíferos, os neurônios serotoninérgicos tem seus corpos celulares localizados nos núcleos da rafe (Dahlstrom e Fuxe, 1964). Desses neurônios serotoninérgicos originados nos núcleos da rafe, provém uma grande quantidade de 5-HT às estruturas corticolímbicas envolvidas no controle dos estados de ansiedade. O núcleo dorsal da rafe (NDR) inerva o córtex frontal, hipocampo dorsal e amígdala, enquanto o núcleo mediano da rafe (NMR) projeta suas inervações principalmente ao hipocampo (regiões dorsal e ventral), septo, núcleo accumbens e hipotálamo (Azmitia e Segal, 1978; Gray, 1982; Deakin e Graeff, 1991; McQuade e Sharp, 1997; Kirby et al., 2003).

As vias serotoninérgicas ascendentes que se originam em ambos os núcleos da rafe, se distribuem para a SCP (Hetem e Graeff, 2004). As diferentes projeções formadas pelos núcleos dorsal e mediano da rafe demonstram os diferentes padrões na organização e modulação no controle dos estados de ansiedade (Azmitia e Segal, 1978; Deakin e Graeff, 1991; Netto et al., 2002).

A neurotransmissão serotoninérgica é complexa, já que existem sete famílias de receptores de serotonina, 5-HT<sub>1-7</sub>, perfazendo um total de 14 diferentes subtipos de receptores de 5-HT em mamíferos (Bradley et al., 1986; Hoyer et al., 1994).

Segundo a teoria de Deakin e Graeff (1991), a serotonina apresenta um papel dual no sistema de defesa, podendo atuar como substância ansiolítico ou ansiogênico, dependendo do sítio de ação e do receptor envolvido. Entre os principais sítios pós-sinápticos mesencefálicos pertencentes ao sistema de defesa, a SCP talvez seja um dos que apresente maior inconsistência quanto aos efeitos antiaversivos da serotonina (Graeff et al., 1996).

Dentre os vários subtipos de receptores serotoninérgicos, os mais diretamente envolvidos na ansiedade são os receptores 5-HT<sub>1A</sub> (Dourish, 1987, Nunes-de-Souza et al., 2000; Canto-de-Souza et al., 2002; Nunes-de-Souza et al., 2002), 5-HT<sub>1C</sub> (Kennett et al., 1989), 5-HT<sub>2</sub> (Ceulemans et al., 1985; Nunes-de-Souza et al., 2008) e 5-HT<sub>3</sub> (Jones et al., 1988; Fachini e Canto-de-Souza, 2006 e 2007; Marucci e Canto-de-Souza, 2006, Laine et al., 2008).

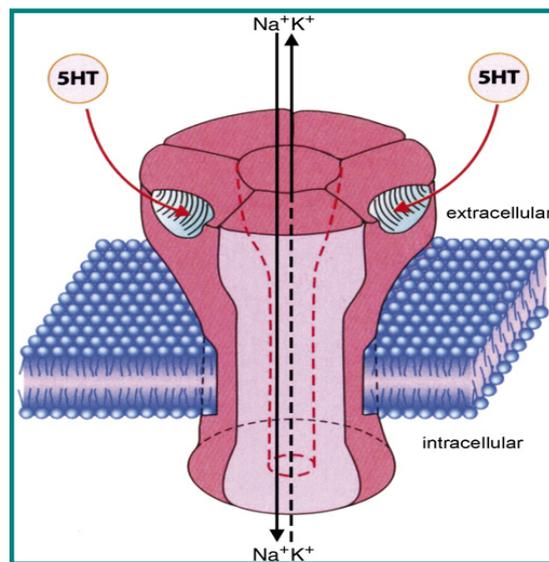
Os receptores 5-HT<sub>3</sub> estão amplamente distribuídos pelo corpo. No sistema nervoso central (SNC), a maior densidade de receptores 5-HT<sub>3</sub> foi identificada na área postrema e no núcleo do trato solitário (Kilpatrick et al., 1989; Pratt e Bowery, 1989) e em menor densidade, mas também significativa, no córtex e na área mesolímbica, como a amígdala, o hipocampo, tubérculo olfatório, núcleo accumbens e SCP (kilpatrick et al., 1987; Barnes et al., 1989; Waeber et al., 1990; Tecott, 1993; Hoyer et al., 1994; Peng et al., 1996). Estes receptores de serotonina são os únicos ionotrópicos, fazendo com que as respostas eliciadas por eles sejam mais rápidas que os demais (Greenshaw e Silverstone, 1997) (olhar Figura 2).

Possuem estrutura semelhante aos receptores GABA<sub>A</sub> e colinérgicos nicotínicos; são constituídos por cinco monômeros unidos a um canal central permeável a pequenos íons, como sódio e potássio (Faerber et al., 2007). Sua ativação mobiliza a fosfolipase C,

aumentando a concentração intracelular de cálcio, reforçando sua atividade excitatória neural (Dubin et al., 1999; Millan, 2003).

O interesse no estudo do receptor 5-HT<sub>3</sub> é crescente, pois tem forte atuação em psicopatologias como, depressão e ansiedade (Greenshaw, 1993; Olivier et al., 2000).

**Figura 2:** Receptor 5-HT<sub>3</sub>



Adaptada de Faerber et al., 2007

Neste sentido, pesquisas utilizando a administração sistêmica e/ou central de agonistas e antagonistas dos receptores 5-HT<sub>3</sub> em roedores tem sido realizadas; e estas tem revelado diversos efeitos em diferentes modelos animais de ansiedade.

### **3.5 Modelo animal de ansiedade: O labirinto em cruz elevado (LCE)**

Tradicionalmente, muitas pesquisas farmacológicas que abordam o tratamento para quadros de ansiedade, são influenciadas pela avaliação de compostos ansiolíticos (Olivier et al., 2000). Assim, modelos animais são ferramentas utilizadas para verificação de novos

agentes terapêuticos e como simuladores para facilitar o entendimento dos mecanismos psicobiológicos envolvidos na gênese e tratamento da ansiedade.

Os modelos animais podem ser organizados em duas categorias: modelos que não envolvem condicionamento (incondicionado) e os que requerem condicionamento. Os modelos condicionados, envolvem o treinamento dos animais através de privação de água/comida, uso de choque elétrico. Já os modelos incondicionados, não envolvem condicionamento e são baseados em comportamentos espontâneos, são menos susceptíveis a fatores de interferência como aprendizado/memória, fome/sede ou mecanismos nociceptivos (Rodgers et al., 1997).

Um dos tipos de modelo incondicionado amplamente utilizado atualmente é o LCE (Carobrez e Bertoglio, 2005). Este modelo foi desenvolvido e validado para ratos por Handley e Mithani (1984), a partir dos estudos de Montgomery (1955), e para camundongos por Lister (1987), sendo posteriormente validado para outras espécies como cobaias (Rex et al., 1994) e hamsters (Yannielli et al., 1996). O modelo tem se mostrado útil para investigações de possíveis agentes ansiolíticos e ansiogênicos (Treit, 1985; Lister, 1990; Green e Hodgers, 1991; Handley, 1991; Treit, 1991; File, 1992; Rodgers e Cole, 1994; Griebel, 1995; Rodgers, 1997; Rodgers et al., 1997, Nunes-de-Souza et al., 2000; Canto-de-Souza et al., 2002; Nunes-de-Souza et al., 2002; Nunes-de-Souza et al., 2008; Reis e Canto-de-Souza, 2008). Além disso, o modelo é baseado no conflito entre duas características inatas dos ratos e camundongos: aversão por espaços abertos e tendência de exploração de novidades (Handley e McBlane, 1993; Treit et al., 1993; Fernandes e File, 1996).

O aparato é composto por dois braços fechados, unidos ortogonalmente a dois braços abertos por uma plataforma central elevados do solo (Lister, 1987). Alguns autores tem demonstrado que o material utilizado na confecção do aparato não interfere na avaliação das

respostas de ansiedade (Rodgers et al., 1997), no entanto, a utilização de braços fechados transparentes permite que a intensidade de luminosidade seja aproximadamente a mesma em ambos os braços (Lister, 1987).

Os índices principais de ansiedade avaliados no LCE compreendem medidas espaço-temporais de esquivas dos braços abertos (porcentagem entrada e tempo gasto nos braços abertos), enquanto a atividade locomotora é avaliada pelo número total de entradas nos braços ou pelo número de entradas nos braços fechados (Lister 1987, File 1992). O aumento da atividade no braço aberto indica redução da ansiedade, enquanto mudanças no número total de entradas e/ou no número de entradas no braço fechado indicam efeitos não específicos da atividade locomotora (Menard e Treit, 1999). Também são utilizados como fonte de medida de ansiedade e de atividade locomotora, outros parâmetros etológicos, como mergulhar, esticar, levantar e tempo de imobilidade (Rodgers e Johnson, 1995). Esses comportamentos informam as estratégias comportamentais utilizadas frente a situações de perigo potencial.

Segundo Pellow e colaboradores (1985), o LCE apresenta diversas vantagens em relação a outros modelos tais como, rapidez do teste (tempo de observação de cinco minutos), validade etológica, economia, simplicidade. Além disso, o procedimento não necessita treinamento, não envolvendo portanto privações de água/alimento ou uso de choque elétrico, fatores esses que poderiam interferir na avaliação do comportamento do animal.

### **3.6 Evidências clínicas e experimentais**

Estudos têm demonstrado que a administração sistêmica de antagonistas dos receptores 5-HT<sub>3</sub> como, BRL 43964, GR 38032F, zacopride resultaram em ausência de efeitos nos testes de interação social e LCE em ratos (File e Johnston, 1989; Eguchi et al., 2001). Enquanto a administração central desses antagonistas como por exemplo, tropisetron intra-amídala, produziu efeito ansiolítico em ratos avaliados no LCE (Tomkins et al., 1990). Outros antagonistas, tais como, ICS 205-930, MDL 72222, GR65630, quando administrados nos núcleos mediano, dorsal da rafe e amídala de ratos e camundongos, também promoveram efeitos ansiolíticos nos testes claro/escuro, interação social e LCE (Costall et al., 1989; Tomkins et al., 1990; Higgins et al., 1991).

Assim como nos modelos animais, estes antagonistas também são empregados na clínica. Neste sentido, o ondansetron, que tem alta afinidade em bloquear os receptores 5-HT<sub>3</sub> (Hoyer e Neijt, 1988; Barnes et al., 1988; Kilpatrick, 1989), é utilizado clinicamente como, antiemético, no tratamento da síndrome de abstinência de drogas de abuso, dor e ansiedade (Costall et al., 1989; Zifa and Fillion, 1992).

Nos modelos animais de ansiedade os efeitos deste antagonista são variáveis. Por exemplo, a administração sistêmica e aguda de ondansetron (Costall et al., 1989; Griebel et al., 1996; Sandman et al., 1996), bem como o tratamento subcrônico (Rodgers, et al., 1997), resultou em ausência de efeitos em ratos e camundongos submetidos ao LCE. Além disso, quando administrado no núcleo mediano da rafe, o ondansetron também não modificou a ansiedade avaliada no teste claro/escuro em camundongos (Costall et al., 1990).

Entretanto, a administração de ondansetron intra-amídala em ratos (Tomkins et al., 1990) e camundongos (Laine et al., 2008) resultou em efeito ansiolítico, enquanto intra-hipocampo ventral causou efeito ansiogênico, ambos avaliados no LCE (Fachini e Canto-de-Souza, 2008, submetido).

O uso de agonistas dos receptores 5-HT<sub>3</sub> em roedores não produz efeito nos modelos de ansiedade. Neste sentido, a administração sistêmica de quipazina e fenilbiguanida não produziram efeitos em ratos expostos ao LCE e teste claro/escuro (Sandman et al., 1996). Outro agonista desses receptores, o 2-Me-5-HT, quando injetado nos núcleos dorsal da rafe e accumbens de ratos e camundongos, também não produziram efeitos nos teste de interação social e teste claro/escuro (Costall et al., 1989; Higgins et al., 1991).

Alguns estudos tem demonstrado que os antagonistas 5-HT<sub>3</sub> são eficazes em bloquear os agonistas 5-HT<sub>3</sub> (Costall e Naylor, 1997). Porém, efeitos contraditórios também já foram observados, como por exemplo, a administração sistêmica de mCPBG (m-clorofenilbiguanida), agonista que possui alta afinidade pelos receptores 5-HT<sub>3</sub> (Kilpatrick, 1990; Rahman et al., 2003), embora não utilizado na clínica (Faerber et al., 2007), foi eficaz em reverter os efeitos ansiolítico e ansiogênico do ondansetron no teste de interação social em ratos (Eguchi et al., 2001) e no LCE em camundongos (Fachini et al., 2008, submetido), respectivamente.

Segundo Canto-de-Souza e colaboradores (2002), a atenuação da ansiedade, pelo bloqueio de receptores 5-HT<sub>1A</sub> intra-NMR em camundongos, se deve ao fato do aumento da disponibilidade de serotonina em sítios pós-sinápticos. Um dos possíveis sítios seria a SCP, onde a ativação serotoninérgica pode resultar em efeitos anti-aversivos em roedores (Deakin e Graeff, 1991; Graeff et al., 1996; Graeff et al., 1997; Nunes-de-Souza et al., 2008). Assim, conforme as evidências descritas acima sobre os agonistas 5-HT<sub>3</sub>, avaliamos o papel desses receptores na SCP.

Alguns autores tem sugerido que os antagonistas de receptores 5-HT<sub>3</sub> podem modular outros tipos de receptores, como por exemplo, dopaminérgicos (Hagan et al., 1987; Costall et al., 1987; Costall, et al., 1988), noradrenérgicos (Mongeau, et al., 1994),

gabaérgicos (Alhaider et al., 1991; Diez-Ariza et al., 2002) e inclusive outros subtipos de receptores serotoninérgicos (Olivier et al., 2000). Estudos apontam também para possíveis interações entre receptores serotoninérgicos 5-HT<sub>3</sub> e 5-HT<sub>2</sub>. Neste sentido, Hu e colaboradores (2004), demonstraram que a administração de  $\alpha$ -methyl-5-HT, agonista seletivo 5-HT<sub>2</sub>, promove efeito modulatório sobre os receptores 5-HT<sub>3</sub> em células do gânglio trigeminal de ratos, realçando sua funcionalidade.

Como a administração de mCPBG na SCP, neste estudo, não alterou os índices de ansiedade avaliados no LCE e as evidências da literatura citadas acima sugerem uma possível interação entre os subtipos de receptores 5-HT<sub>3</sub> e 5-HT<sub>2</sub>, passamos a investigar esta interação. Pesquisas tem demonstrado que agonistas e antagonistas dos receptores 5-HT<sub>2</sub>, podem modular a ansiedade em roedores (Di Escala et al., 1984; Bandler et al., 1985; Setem et al., 1999; Aguiar et al., 2006; Cruz et al., 2005; Carvalho-Neto et al., 2006; Miguel e Nunes-de-Souza, 2006; Cornélio e Nunes-de-Souza, 2007). Corroborando estes achados, foi demonstrado recentemente em nosso laboratório que a administração de mCPP intra-SCP, agonista de receptores 5-HT<sub>2B/2C</sub>, produziu efeito ansiolítico em camundongos expostos ao LCE (Nunes-de-Souza et al, 2008). Portanto, para investigar a interação entre os receptores 5-HT<sub>3</sub> e 5-HT<sub>2</sub> da SCP na modulação da ansiedade em camundongos expostos ao LCE, utilizamos administração combinada de uma dose ineficaz de ondansetron e uma dose ansiolítica de mCPP (Nunes-de-Souza et al., 2008).

#### 4. OBJETIVOS

O presente estudo teve como objetivos investigar o efeito da ativação e bloqueio de receptores 5-HT<sub>3</sub> da SCP de camundongos expostos no LCE e a possível interação entre os receptores 5-HT<sub>3</sub> e 5-HT<sub>2B/2C</sub> da SCP.

Para isso, foram realizados os seguintes experimentos:

**Experimento 1:** administrações intra-SCP de ondansetron (0, 0,3, 1,0, 3,0 nmol/0,1 µl) em camundongos submetidos ao LCE;

**Experimento 2:** administrações intra-SCP de mCPBG (0, 40, 80, 160 nmol/0,1 µl) em camundongos submetidos ao LCE;

**Experimento 3:** administrações combinadas intra-SCP de ondansetron (1,0 nmol/0,1 µl) e mCPP (0,03 nmol/0,1 µl) em camundongos submetidos ao LCE.

## 5. MATERIAL E MÉTODOS

### 5.1 Sujeitos

Foram utilizados aleatoriamente camundongos machos suíço albinos com 5-6 semanas de vida, e pesando entre 25-30 g (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 19:00h) com livre acesso à água e comida, exceto durante as breves sessões do teste. Os experimentos foram realizados durante a fase clara do ciclo de luz (09:00-16:00 h).

### 5.2 Drogas

Ondansetron (1,2,3,9-tetrahidro-9-metil-3[(2-metil-1Himidazol-1-yl)]-metil-4H carbazol-4-um; 0, 0,3, 1,0, 3,0 nmol/0,1  $\mu\text{l}$ ; Sigma), dissolvido em salina (0,9% NaCl). mCPBG (1-(3-clorofenil)biguanida; 0, 40, 80, 160 nmol/0,1  $\mu\text{l}$ ; Sigma), dissolvido em veículo (salina e 2% de Tween-80). mCPP (1-(3-clorofenil) piperazina; 0,03 nmol/0,1  $\mu\text{l}$ ; Tocris Cookson Inc.), dissolvido em veículo (salina e 2% de Tween-80).

As doses utilizadas foram baseadas em estudos piloto realizados no nosso laboratório e estudos descritos na literatura (Menard e Treit, 1999; Ferreira et al., 2004; Nunes-de-Souza et al., 2008). Todo o tratamento foi realizado na forma de códigos e o experimentador somente teve conhecimento dos mesmos ao final da análise comportamental.

### 5.3 Cirurgia e microinjeção de drogas

Os camundongos passaram por implantação unilateral de cânula-guia de 7 mm (25 gauge) sob anestesia de xilazina com cetamina (100 mg/kg, i.p.). As coordenadas estereotáxicas (Franklin e Paxinos, 1997) para a SCP foram 4,1 mm posterior ao bregma, 1,3 mm lateral à sutura sagital e 1,2 mm ventral à superfície craniana, com angulação da cânula-guia de 26°. A cânula guia foi fixada no crânio usando cimento dental acrílico autopolimerizante clássico (JET). Um mandril, o qual foi removido durante o procedimento de injeção, foi inserido dentro da cânula-guia após a cirurgia para evitar problemas com obstrução e para reduzir contaminação. A analgesia para pós-operatório foi providenciada por três dias por acetaminofeno (200 mg/ml) misturado à água em uma proporção de 0,2 ml acetaminofeno: 250 ml água (i.e., concentração final = 0,16 mg/ml).

A agulha de injeção (33-gauge Insight Equipamentos Científicos Ltda, Brasil) foi inserida dentro da cânula-guia para a injeção da solução dentro da SCP, sendo que o comprimento da mesma ultrapassou 2,0 mm a ponta da cânula-guia. A agulha de injeção foi conectada, por meio de um tubo de polietileno (PE-10), à microseringa Hamilton de 5,0 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.

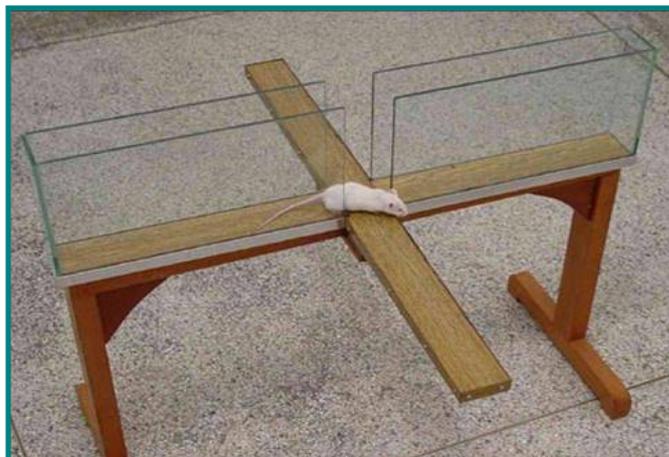
O procedimento de microinjeção consistiu na contenção do animal feita gentilmente pelo pesquisador com a mão, remoção do mandril, inserção da agulha de injeção, injeção da solução por 60 segundos, permanência da agulha de injeção por 90 segundos após o término da injeção e após a retirada da agulha de injeção foi feita a inserção do mandril. 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 a 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, olhar Foto 1). 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).

Cinco dias após a cirurgia, os animais foram transportados à sala de experimentos e lá permaneceram por 30 minutos antes do início dos testes. No experimento 1, os animais receberam injeções intra-SCP de ondansetron (0, 0,3, 1,0, 3,0 nmol/0,1 µl), cinco minutos depois foram colocados individualmente na plataforma central do LCE com a face voltada para o braço aberto. No experimento 2, os animais receberam injeções intra-SCP de mCPBG (0, 40, 80, 160 nmol/0,1 µl) e após cinco minutos foram colocados no LCE conforme descrito acima. No experimento 3, os efeitos do mCPP (0,03 nmol/0,1 µl) intra-SCP foram avaliados 10 minutos após o pré-tratamento intra-SCP de ondansetron (1,0 nmol/0,1 µl).

Em todos os experimentos a exposição ao LCE durou 5 minutos, e no intervalo entre os sujeitos o aparato foi limpo com álcool 20% e algodão. Todas as sessões foram gravadas por uma câmera acoplada a um monitor de vídeo.



**Foto 1:** Labirinto em Cruz Elevado

## **5.5 Delineamento experimental**

### **5.5.1 Experimento 1: administrações intra-SCP de ondansetron (0, 0,3, 1,0, 3,0 nmol/0,1 µl) em camundongos submetidos ao LCE.**

Os animais receberam microinjeção intra-SCP de salina (0,9% NaCl) ou ondansetron (0, 0,3, 1,0, 3,0 nmol/0,1 µl) e após 5 minutos foram submetidos ao LCE conforme descrito acima.

### **5.5.2 Experimento 2: administrações intra-SCP de mCPBG (0, 40, 80, 160 nmol/0,1 µl) em camundongos submetidos ao LCE.**

Os animais receberam microinjeção intra-SCP de veículo (salina + Tween 80) ou mCPBG (0, 40, 80, 160 nmol/0,1 µl) e após 5 minutos foram submetidos ao LCE conforme descrito anteriormente.

### **5.5.3 Experimento 3: administrações combinadas intra-SCP de ondansetron (1,0 nmol/0,1 µl) e mCPP (0,03 nmol/0,1 µl) em camundongos submetidos ao LCE.**

Os animais receberam microinjeção intra-SCP de ondansetron (0 ou 1,0 nmol/0,1µl) e após cinco minutos, microinjeção de mCPP (0 ou 0,03 nmol/0,1µl) na mesma estrutura. Os grupos testados foram: veículo + veículo (V+V), veículo + mCPP (V+mCPP), ondansetron + veículo (OND+V) e ondansetron + mCPP (OND + mCPP). Cinco minutos após a segunda microinjeção, os animais foram submetidos ao LCE conforme descrito anteriormente.

## **5.6 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; Rodgers e Johnson, 1995), quanto os etológicos (Cruz et al., 1994, Rodgers e Johnson, 1995).

As medidas convencionais analisadas foram 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), porcentagem de entradas nos braços abertos e porcentagem de 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: [aberto/ total] x 100; Tempo [tempo no compartimento/300] x 100).

As medidas etológicas analisadas foram, 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 retrai-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 foram 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 foram mostrados no total e como porcentagem ( $[\text{protegido} / \text{total}] \times 100$ ) de cada comportamento.

## **5.7 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 sobredose de anestésico (200 mg/kg, i.p.), foram então decapitados, seus cérebros removidos e os sítios de injeção foram verificados histologicamente de acordo com o atlas de Franklin e Paxinos (Franklin e Paxinos, 1997).

Os animais cujas injeções não atingiram a SCP foram excluídos da análise.

## **5.8 Análise estatística**

Todos os dados foram inicialmente submetidos ao teste de homogeneidade de Levene, e quando apropriado, os dados foram transformados em raiz quadrada, raiz cúbica ou log de 10. Posteriormente, os dados dos experimentos 1 e 2, foram submetidos à análise de variância (ANOVA) de um fator (tratamento), e do experimento 3, foram submetidos à

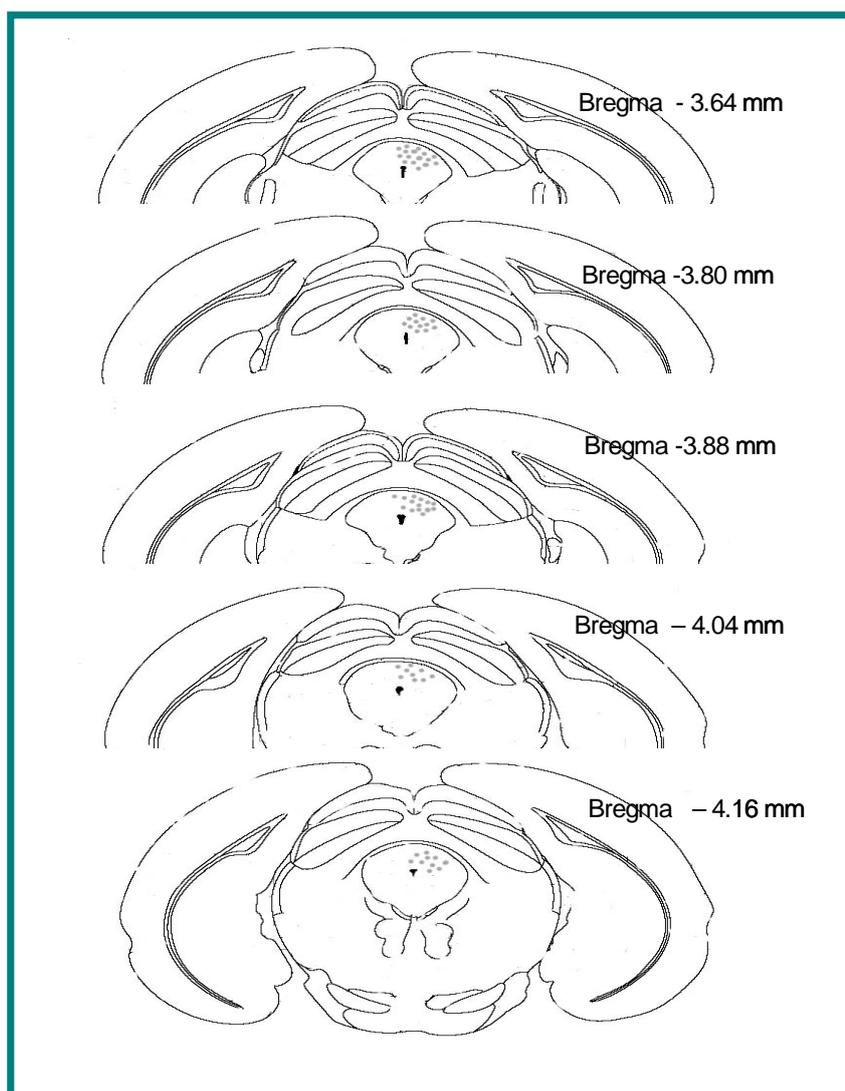
análise de variância de dois fatores (fator 1: pré-tratamento x fator 2: tratamento), seguidos pelo teste de comparações múltiplas de Duncan. Em todos os casos, os valores de  $P$  inferiores a 0,05 foram considerados significativos.

## **5.9 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 (057/2007, cópia em anexo).

## 6. RESULTADOS

A análise histológica confirmou canulação positiva na SCP em um total de 143 animais.



**Figura 3:** Representação esquemática dos sítios de microinjeções intra-SCP de camundongos. O número de pontos é inferior ao número total de animais devido à sobreposição.

Destes, 43 foram usados para investigar o efeito do ondansetron (0, 0,3, 1,0, 3,0 nmol/0,1µl) [Experimento1: veículo (n=12), ondansetron 0,3 nmol (n=9), ondansetron 1,0 nmol (n=12), ondansetron 3,0 nmol (n=10)], 55 foram usados para investigar o efeito do mCPBG (0, 40, 80, 160 nmol/0,1µl) [Experimento 2: veículo (n=13), mCPBG 40 nmol (n=12), mCPBG 80 nmol (n=15), mCPBG 160 nmol (n=15)], enquanto que 45 foram utilizados para avaliar o efeito da microinjeção combinada [Experimento 3: veículo + veículo (n=12), veículo + mCPP 0,03 nmol (n=12), ondansetron 1,0 nmol + veículo (n=12), ondansetron 1,0 nmol + mCPP 0,03 nmol (n=9)].

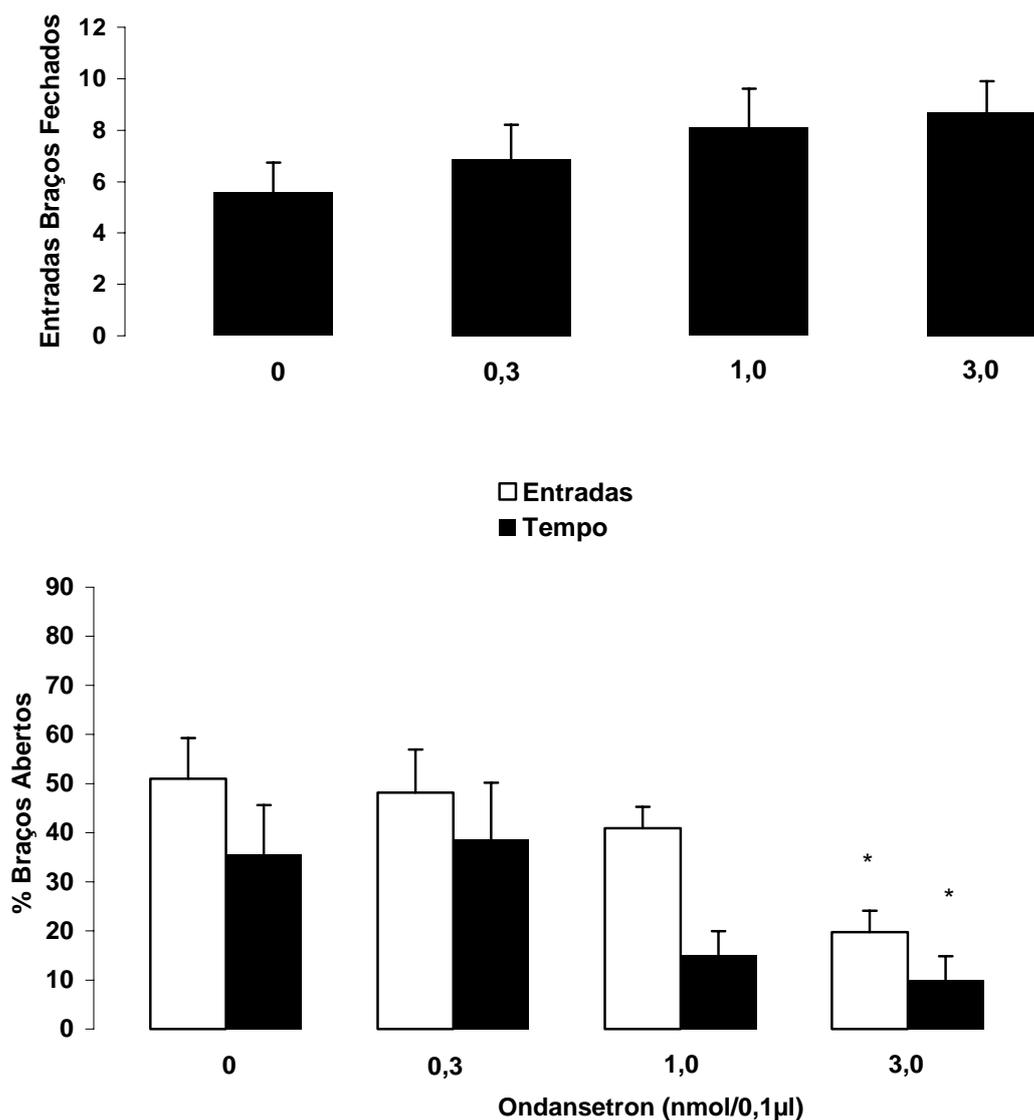
### **6.1 Experimento 1: administrações intra-SCP de ondansetron (0, 0,3, 1,0, 3,0 nmol/0,1 µl) em camundongos submetidos ao LCE.**

Os efeitos das microinjeções de ondansetron (0, 0,3, 1,0, 3,0 nmol/0,1µl) sobre o comportamento de camundongos no labirinto em cruz elevado estão mostrados na Figura 4 e Tabela 4. A ANOVA de uma via, seguida do teste de Duncan revelou que o tratamento com ondansetron (3,0 nmol) diminuiu as porcentagens de entrada ( $F_{(3,39)}=3,89$ ,  $P < 0,05$ ) e de tempo gasto nos braços abertos ( $F_{(3,39)}=3,07$ ,  $P < 0,05$ ) no LCE. Nenhum dos tratamentos alterou a atividade locomotora dos animais ( $F_{(3,39)}=1,12$ ,  $P > 0,05$ ) (Figura 4).

A ANOVA não revelou diferença significativa para os outros comportamentos, total de entradas ( $F_{(3,39)}=0,77$ ,  $P > 0,05$ ), entradas nos braços abertos ( $F_{(3,39)}=1,53$ ,  $P > 0,05$ ), porcentagem de tempo gasto nos braços fechados ( $F_{(3,39)}=1,58$ ,  $P > 0,05$ ) e porcentagem de tempo gasto no centro ( $F_{(3,39)}=2,27$ ,  $P > 0,05$ ).

Em relação às medidas etológicas, ANOVA revelou diferença significativa para a porcentagem de esticadas protegidas ( $F_{(3,39)}=4,06$ ,  $P < 0,05$ ) entretanto, o *post hoc* não confirmou essa diferença em relação ao grupo controle ( $P > 0,05$ ). Ausência de efeitos

foram observados para o total de mergulhos ( $F_{(3,39)}=1,02, P > 0,05$ ), porcentagem de mergulhos protegidos ( $F_{(3,39)}=2,67 P > 0,05$ ), total de esticadas ( $F_{(3,39)}=0,54, P > 0,05$ ), total de levantamentos ( $F_{(3,39)}=0,74, P > 0,05$ ), total de imobilidade ( $F_{(3,39)}=0,82, P > 0,05$ ).



**Figura 4:** Efeito do ondansetron (0, 0,3, 1,0, 3,0 nmol/0,1μl) microinjetado na SCP de camundongos sobre a frequência de entradas nos braços fechados e a porcentagem de entradas e tempo gasto nos braços abertos do LCE. Os dados representam a média + E.P.M. (n=9-12). \*  $P < 0,05$  comparado ao grupo controle (ANOVA de uma via seguido do teste de Duncan).

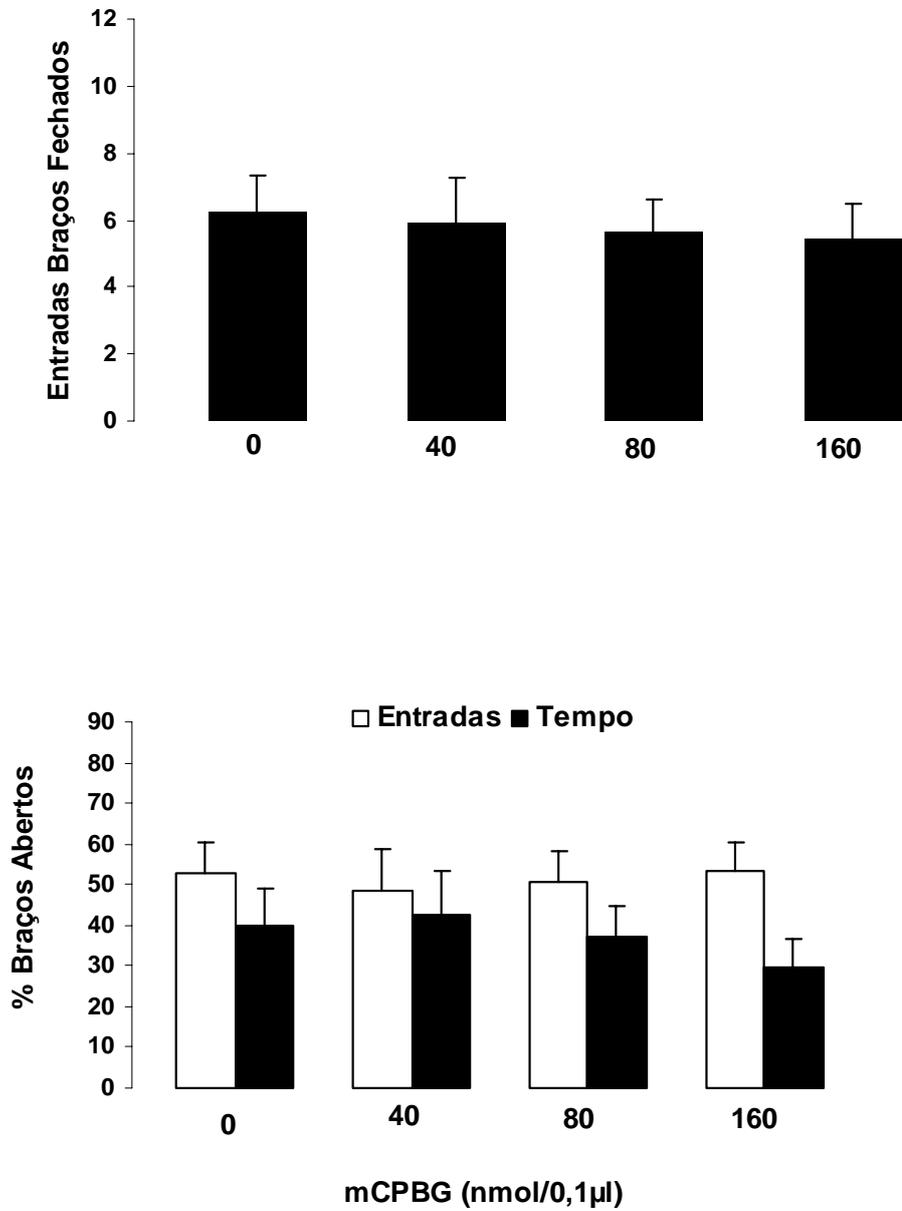
**Tabela 4:** Efeito da microinjeção de ondansetron (0, 0,3, 1,0, 3,0 nmol/0,1 µl) na SCP de camundongos avaliados no LCE.

Comportamentos	Ondansetron (nmol/0,1 ul)				
	0	0,3	1	3,0	F <sub>(3,39)</sub>
Total Entradas	9,7 ± 1,8	12,1 ± 2,2	14,1 ± 2,7	11,2 ± 1,5	0,77, NS
Entradas nos BAs	4,1 ± 0,9	5,2 ± 1,3	6,0 ± 1,6	2,5 ± 0,6	1,53, NS
% Tempo nos BFs	36,5 ± 8,1	40,7 ± 8,0	41,8 ± 6,6	58,6 ± 7,5	1,58, NS
% Tempo no Centro	27,8 ± 6,7	20,6 ± 4,7	42,9 ± 6,9	31,2 ± 4,6	2,27, NS
Total Mergulhos	28,6 ± 5,9	27,2 ± 4,8	37,0 ± 7,8	19,9 ± 3,8	1,02, NS
% Mergulhos Protegidos	40,1 ± 9,5	32,8 ± 9,4	62,6 ± 8,0	59,1 ± 9,2	2,67, NS
Total Esticadas	34,0 ± 5,3	33,5 ± 3,7	40,5 ± 5,5	40,5 ± 5,5	0,54, NS
% Esticadas Protegidas	65,9 ± 8,4	47,3 ± 11,1	78,1 ± 5,9	83,6 ± 4,6	4,06, NS
Total de Levantamentos	10,1 ± 2,7	7,2 ± 1,6	13,0 ± 3,3	9,3 ± 2,4	0,74, NS
Total Imobilidade	54,1 ± 21,9	24,7 ± 8,6	28,6 ± 11,4	31,2 ± 12,6	0,82, NS

Os dados representam a média ± E.P.M. dos demais comportamentos avaliados no LCE. BAs = braços abertos; BFs = braços fechados; NS = Não Significativo; (n = 9-12). Ver Figura 4 para dados complementares.

## 6.2 Experimento 2: administração intra-SCP de mCPBG (0, 40, 80, 160 nmol/0,1 µl) em camundongos submetidos ao LCE.

Os dados encontram-se na Figura 5 e Tabela 5. A ANOVA de uma via, revelou a ausência de efeitos da microinjeção de mCBPG (0, 40, 80, 160 nmol/0,1 µl) na SCP de camundongos avaliados no LCE. Não houve diferença significativa para as porcentagens de entradas ( $F_{(3,51)}=0,06$ ,  $P > 0,05$ ) e tempo ( $F_{(3,51)}=0,06$ ,  $P > 0,05$ ) gasto nos braços abertos do LCE, bem como para as entradas nos braços fechados do aparato ( $F_{(3,51)}=0,09$ ,  $P > 0,05$ ) (Figura 5). Nenhum dos outros comportamentos foi significativamente alterado ( $F_{(3,51)} \leq 0,82$ ,  $P \geq 0,05$ ) (olhar Tabela 5).



**Figura 5:** Efeito do mCPBG (0, 40, 80, 160 nmol/0,1 μl) microinjetado na SCP de camundongos sobre a frequência de entradas nos braços fechados e a porcentagem de entradas e tempo gasto nos braços abertos do LCE. Os dados representam a média + E.P.M. (n=9-12) (ANOVA de uma via seguido do teste de Duncan).

**Tabela 5:** Ausência de efeitos do mCPBG (0, 40, 80, 160 nmol/0,1  $\mu$ l) microinjetado na SCP de camundongos avaliados no LCE.

Comportamentos	mCPBG (nmol/0,1 $\mu$ l)				F <sub>(3,51)</sub>
	0	40	80	160	
Total Entradas	11,9 $\pm$ 1,7	8,6 $\pm$ 1,5	10,8 $\pm$ 1,2	10,6 $\pm$ 1,5	0,70, NS
Entradas nos BAs	5,6 $\pm$ 1,0	2,7 $\pm$ 0,5	5,2 $\pm$ 0,9	5,1 $\pm$ 0,8	2,03, NS
% Tempo nos BFs	35,1 $\pm$ 7,2	40,2 $\pm$ 8,0	30,3 $\pm$ 5,5	37,3 $\pm$ 6,8	0,37, NS
% Tempo no Centro	24,9 $\pm$ 3,8	17,3 $\pm$ 3,6	32,5 $\pm$ 6,1	32,9 $\pm$ 4,1	2,30, NS
Total Mergulhos	31,3 $\pm$ 5,0	19,7 $\pm$ 1,9	27,3 $\pm$ 3,3	28,4 $\pm$ 3,4	0,68, NS
% Mergulhos Protegidos	37,8 $\pm$ 7,9	36,5 $\pm$ 8,5	44,1 $\pm$ 8,3	47,0 $\pm$ 6,7	0,39, NS
Total Esticadas	32,2 $\pm$ 4,1	38,4 $\pm$ 2,8	36,5 $\pm$ 2,3	27,8 $\pm$ 2,8	2,46, NS
% Esticadas Protegidas	53,7 $\pm$ 9,0	48,4 $\pm$ 10,2	55,6 $\pm$ 7,7	64,2 $\pm$ 6,8	0,61, NS
Total de Levantamentos	7,5 $\pm$ 1,4	8,5 $\pm$ 1,7	8,4 $\pm$ 1,4	7,4 $\pm$ 1,9	0,12, NS
Total Imobilidade	12,6 $\pm$ 4,9	56,4 $\pm$ 18,7	22,7 $\pm$ 5,9	32,4 $\pm$ 9,7	1,79, NS

Os dados representam a média  $\pm$  E.P.M. dos demais comportamentos avaliados no LCE. BAs = braços abertos; BFs = braços fechados; NS = Não Significativo; (n = 12-15). Ver Figura 5 para dados complementares.

### 6.3 Experimento 3: administração combinada intra-SCP de ondansetron (1,0 nmol/0,1 $\mu$ l) e mCPP (0,03 nmol/0,1 $\mu$ l) em camundongos submetidos ao LCE.

Os dados encontram-se na Figura 6 e Tabela 6. A análise estatística ANOVA de duas vias, apontou diferenças significativas para porcentagem de entradas nos braços abertos para o pré-tratamento, ( $F_{(3,41)}=13,35$ ,  $P < 0,05$ ), interação entre pré-tratamento e tratamento ( $F_{(3,41)}=7,49$ ,  $P < 0,05$ ) e ausência de efeitos para o tratamento ( $F_{(3,41)}=3,19$ ,  $P > 0,05$ ). O teste de Duncan revelou aumento significativo para o grupo V+mCPP em relação ao grupo V+V ( $P < 0,05$ ), e diminuição do grupo OND+mCPP em relação ao grupo V+mCPP ( $P < 0,05$ ).

Em relação à porcentagem de tempo gasto nos braços abertos, a ANOVA apontou diferenças significativas para o pré-tratamento ( $F_{(3,41)}=8,17$ ,  $P < 0,05$ ), interação entre pré-tratamento e tratamento ( $F_{(3,41)}=7,43$ ,  $P < 0,05$ ) e ausência de efeitos para o tratamento

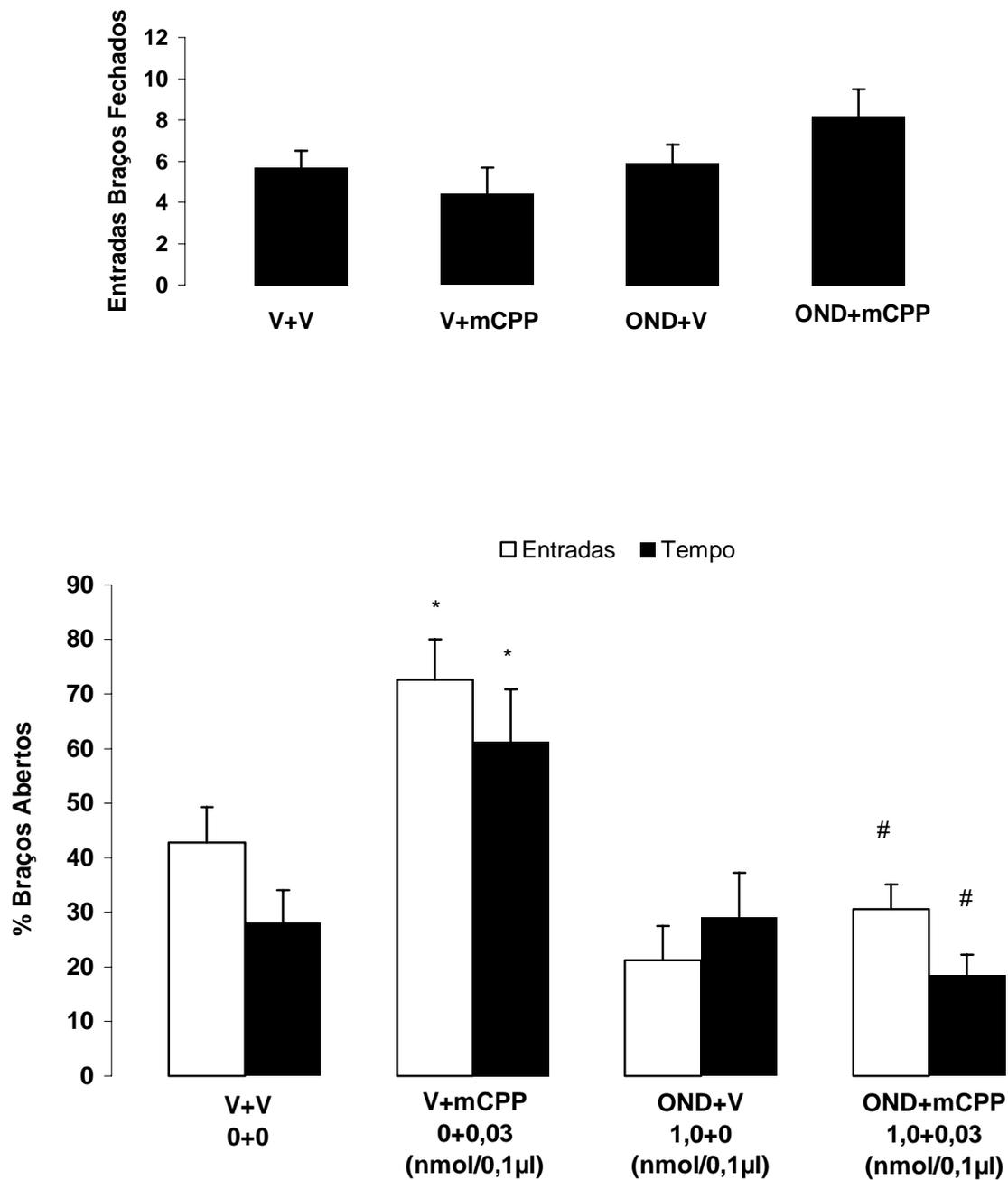
( $F_{(3,41)}=2,54, P > 0,05$ ). O teste de Duncan também revelou aumento significativo para o grupo V+mCPP em relação ao grupo V+V ( $P < 0,05$ ), e diminuição do grupo OND+mCPP em relação ao grupo V+mCPP ( $P < 0,05$ ).

As entradas nos braços fechados não foram alteradas para o pré-tratamento ( $F_{(3,41)}=3,35, P > 0,05$ ), tratamento ( $F_{(3,41)}=0,33, P > 0,05$ ) e interação entre pré-tratamento e tratamento ( $F_{(3,41)}=3,07, P > 0,05$ ).

Não houve diferenças estatisticamente significativas para o total de entradas no pré-tratamento ( $F_{(3,41)}=0,03, P > 0,05$ ), tratamento ( $F_{(3,41)}=0,39, P > 0,05$ ) e interação entre pré-tratamento e tratamento ( $F_{(3,41)}=0,10, P > 0,05$ ). A ANOVA também não indicou diferença significativa para entradas nos braços abertos no pré-tratamento ( $F_{(3,41)}=1,94, P > 0,05$ ), tratamento ( $F_{(3,41)}=0,28, P > 0,05$ ) e interação entre pré-tratamento e tratamento ( $F_{(3,41)}=1,20, P > 0,05$ ).

Para a porcentagem de tempo gasto nos braços fechados, ocorreram diferenças significativas para o pré-tratamento, ( $F_{(3,41)}=22,91, P < 0,05$ ), interação entre pré-tratamento e tratamento ( $F_{(3,41)}=7,59, P < 0,05$ ) e ausência de efeitos para o tratamento ( $F_{(3,41)}=0,20, P > 0,05$ ). O teste de Duncan mostrou diminuição significativa para o grupo V+mCPP em relação ao grupo V+V e aumento para o grupo OND+mCPP em relação ao grupo V+mCPP ( $P < 0,05$ ).

A porcentagem de tempo gasto no centro não foi alterado para o pré-tratamento ( $F_{(3,41)}=0,85, P > 0,05$ ), tratamento ( $F_{(3,41)}=3,56, P > 0,05$ ) e interação entre pré-tratamento e tratamento ( $F_{(3,41)}=1,16, P > 0,05$ ).



**Figura 6:** Efeito da microinjeção combinada de ondansetron (0 e 1,0 nmol/0,1 µl) e mCPP (0 e 0,03 nmol/0,1 µl), microinjetados na SCP de camundongos sobre a frequência de entradas nos braços fechados e a porcentagem de entradas e tempo gasto nos braços abertos do LCE. Os dados representam a média + EPM (n = 9-12).

\*  $P < 0,05$  comparado ao veículo (V+V)

#  $P < 0,05$  comparado ao grupo V+mCPP (ANOVA de duas vias seguido do teste de Duncan).

Em relação aos índices etológicos, A ANOVA mostrou diferença significativa para porcentagem de mergulhos protegidos para o pré-tratamento ( $F_{(3,41)}=6,85$ ,  $P < 0,05$ ) , interação entre pré-tratamento e tratamento ( $F_{(3,41)}=5,11$ ,  $P < 0,05$ ) e ausência de efeitos para o tratamento ( $F_{(3,41)}=2,70$ ,  $P > 0,05$ ). O teste de Duncan revelou aumento nesse índice para o grupo OND+mCPP, em relação ao grupo V+mCPP e diminuição para o grupo V+mCPP, em relação ao grupo V+V ( $P < 0,05$ ).

A ANOVA mostrou que para as porcentagens de esticadas protegidas houve diferença significativa para pré-tratamento ( $F_{(3,41)}=8,00$ ,  $P < 0,05$ ) e para interação entre pré-tratamento e tratamento ( $F_{(3,41)}=5,14$ ,  $P < 0,05$ ), e ausência de efeitos para o tratamento ( $F_{(3,41)}=3,01$ ,  $P > 0,05$ ). O teste de Duncan mostrou aumento para porcentagem de esticadas protegidas para os grupos OND+mCPP em relação ao grupo V+mCPP, e diminuição para o grupo V+mCPP em relação ao grupo V+V ( $P < 0,05$ ).

Em relação ao total de esticadas, a ANOVA não apontou diferença significativa no pré-tratamento ( $F_{(3,41)}=0,07$ ,  $P > 0,05$ ), tratamento ( $F_{(3,41)}=0,13$ ,  $P > 0,05$ ) e interação entre pré-tratamento e tratamento ( $F_{(3,41)}=0,26$ ,  $P > 0,05$ ), assim como para o total de mergulhos no pré-tratamento ( $F_{(3,41)}=0,75$ ,  $P > 0,05$ ), tratamento ( $F_{(3,41)}=1,91$ ,  $P > 0,05$ ) e interação entre pré-tratamento e tratamento ( $F_{(3,41)}=2,77$ ,  $P > 0,05$ ).

ANOVA indicou diferenças significativas para o total de levantamentos no pré-tratamento ( $F_{(3,41)}=4,35$ ,  $P < 0,05$ ) e ausência de efeitos para o tratamento ( $F_{(3,41)}=0,42$ ,  $P > 0,05$ ), interação entre pré-tratamento e tratamento ( $F_{(3,41)}=0,67$ ,  $P > 0,05$ ). O teste de Duncan, porém, não confirmou o efeito para o pré-tratamento ( $P > 0,05$ ).

Para o total de imobilidade não houve diferença significativa para o pré-tratamento ( $F_{(3,41)}=0,41$ ,  $P > 0,05$ ), tratamento ( $F_{(3,41)}=0,62$ ,  $P > 0,05$ ) e interação entre pré-tratamento e tratamento ( $F_{(3,41)}=1,88$ ,  $P > 0,05$ ).

**Tabela 6:** Efeito da microinjeção combinada de ondansetron (1,0 nmol/0,1µl) e mCPP (0,03 nmol/0,1µl) na SCP de camundongos avaliados no LCE.

Comportamentos	Veículo (V)	V + mCPP	OND + V	OND + mCPP
	0 + 0 (n=12)	0 + 0,03 (n=12)	1,0 + 0 (n=12)	1,0 + 0,03 (n=9)
Total Entradas	10,1 ± 1,0	10,7 ± 2,6	9,8 ± 1,8	11,7 ± 1,6
Entradas nos Bas	4,4 ± 0,7	6,3 ± 1,4	4,2 ± 1,3	3,4 ± 0,6
% Tempo nos BFs	35,0 ± 5,4	17,1 ± 5,0*	49,0 ± 6,2	59,2 ± 5,2*#
% Tempo no centro	36,9 ± 5,2	21,6 ± 6,6	27,8 ± 3,9	22,4 ± 3,0
Total Mergulhos	25,7 ± 2,4	41,1 ± 5,8	29,7 ± 6,0	28,3 ± 4,4
% Mergulhos Protegidos	44,8 ± 10,4	14,7 ± 4,7*	44,17 ± 8,7	46,8 ± 8,2#
Total Esticadas	30,9 ± 2,0	30,4 ± 2,9	30,0 ± 4,0	33,1 ± 4,6
% Esticadas Protegidas	62,0 ± 7,5	32,3 ± 7,8*	66,2 ± 7,1	70,1 ± 5,8#
Total de Levantamentos	9,1 ± 1,8	6,3 ± 2,2	11,6 ± 1,9	12,0 ± 1,5
Total Imobilidade	28,3 ± 7,1	61,6 ± 21,4	47,1 ± 15,5	31,9 ± 15,7

Os dados representam a média ± E.P.M. dos demais comportamentos avaliados no LCE. BAs = braços abertos; BFs = braços fechados; (n = 9-12).

\*  $P < 0,05$  comparado ao veículo (V+V)

#  $P < 0,05$  comparado ao grupo V+mCPP

Ver Figura 6 para dados complementares.

## 7. DISCUSSÃO

Os resultados apresentados neste estudo demonstram que a administração intra-SCP de ondansetron, antagonista seletivo dos receptores 5-HT<sub>3</sub> (Butler et al., 1988), aumentou de maneira dose-dependente os comportamentos relacionados à ansiedade em camundongos expostos ao LCE. A administração intra-SCP de mCPBG, agonista seletivo dos receptores 5-HT<sub>3</sub> (Kilpatrick et al., 1990; Andrews e File, 1992), resultou em ausência de efeitos. De maneira interessante, a administração prévia de ondansetron seguida de mCPP, agonista de receptores 5-HT<sub>2B/2C</sub>, reverteu o efeito ansiolítico do mCPP na SCP, descrito anteriormente na literatura (Nunes-de- Souza et al., 2008). Desta forma, podemos sugerir que existe uma modulação dos receptores 5-HT<sub>3</sub> sobre os receptores 5-HT<sub>2B/2C</sub> da SCP na ansiedade de camundongos avaliados no LCE.

A serotonina tem mostrado diferentes ações fisiológicas, em diferentes locais, e isso não é surpresa, dada a variedade de receptores serotoninérgicos existentes (Barnes e Sharp, 1999; Menard e Treit, 1999). Assim, diversos efeitos comportamentais podem ser observados a partir da administração de ligantes serotoninérgicos em sítios cerebrais específicos, tais como amígdala, hipocampo, substância cinzenta periaquedutal entre outras (Goodwin et al., 1985; Menard e Treit, 1999). No entanto, ainda não está claro porque os antagonistas dos receptores 5-HT<sub>3</sub> produzem diferentes efeitos (Olivier et al., 2000). Neste sentido, vários estudos têm demonstrado que a administração sistêmica de antagonistas 5-HT<sub>3</sub> como BRL 43964 e zacopride não produziram efeitos nos testes de interação social e LCE em ratos (File e Johnston, 1989; Eguchi et al., 2001). A administração de tropisetron intra-amígdala produziu efeito ansiolítico em ratos avaliados no LCE (Tomkins et al., 1990). Outros antagonistas, ICS 205-930, MDL 72222, GR65630, quando administrados nos

núcleos mediano, dorsal da rafe e amígdala de ratos e camundongos, também promoveram efeitos ansiolíticos nos testes claro/escuro, interação social e LCE (Costall et al., 1989; Tomkins et al., 1990; Higgins et al., 1991).

No nosso estudo, microinjeções de ondansetron na SCP produziram efeito ansiogênico dose-dependente. Resultados semelhantes aos nossos foram encontrados com a administração de ondansetron intra-hipocampo ventral em camundongos expostos ao LCE (Fachini e Canto-de-Souza, 2008, submetido). Porém, em outros estudos este antagonista apresentou efeitos diferentes. Por exemplo, quando administrado na amígdala, produziu efeito ansiolítico em ratos (Tomkins et al., 1990) e camundongos (Laine et al., 2008) expostos ao LCE, mas quando foi injetado no núcleo mediano da rafe, não modificou a ansiedade avaliada no teste claro/escuro em camundongos (Costall et al., 1990).

Em outros estudos com injeção sistêmica, o ondansetron também promoveu efeitos variáveis na ansiedade. Assim, o tratamento agudo com este antagonista, em ratos e camundongos (Costall et al., 1989; Griebel et al., 1996; Sandman et al., 1996), bem como o tratamento sub-crônico, não produziram efeitos em camundongos submetidos ao LCE (Rodgers, et al., 1997). Além disso, o ondansetron foi ineficaz em reverter os efeitos da estimulação elétrica da SCP em ratos (Jenck et al., 1989).

Alguns autores tem discutido em estudos anteriores que dependendo da dose o ondansetron pode apresentar efeitos ansiolítico ou ansiogênico. Assim o ondansetron nas doses de 0,0001-1,0 mg/kg, produziu diminuição da ansiedade quando administrado sistemicamente em ratos expostos ao teste de interação social (Tyers, 1987; Jones et al., 1988; Tyers et al., 1989) e em camundongos expostos ao teste claro/escuro (Costall et al., 1989d); enquanto as doses de 0,1- 1,0 µg/kg, produziram aumento da ansiedade (Costall et al., 1988a).

No nosso estudo (Experimento 1), as microinjeções intra-SCP de ondansetron em camundongos avaliados no LCE, produziram diminuição nos índices convencionais de ansiedade (porcentagens de entradas e de tempo gasto nos braços abertos do LCE). A atividade locomotora não foi alterada, o que sugere um efeito não-sedativo da droga. Esta ausência de efeito sobre a atividade locomotora também já foi observada em outros estudos sobre ansiedade, envolvendo administração sistêmica e algumas estruturas do SNC (Sandman et al., 1996; Eguchi et al., 2001; Fachini e Canto-de-Souza, 2008, submetido; Laine et al., 2008).

Ao lado das medidas convencionais, as medidas etológicas, tais como, posturas de esticar o corpo e mergulhar a cabeça, têm sido utilizadas para fornecer dados de avaliação de risco no labirinto (Griebel et al., 1997). Porém, neste trabalho, nenhum dos índices etológicos foi alterado, exceto pelo aumento na porcentagem de esticar protegido, sugerindo aumento da ansiedade (Rodgers et al., 1997), entretanto, o *post hoc* não confirmou este efeito.

Já foi demonstrado que microinjeções de WAY 100 635, antagonista seletivo dos receptores 5-HT<sub>1A</sub>, no núcleo mediano da rafe (NMR) resulta em efeitos ansiolíticos em animais ingênuos ao LCE (Canto-de-Souza et al., 2002). Sabe-se que bloqueando os auto-receptores somatodendríticos do tipo 5-HT<sub>1A</sub>, o WAY 100 635 aumenta a taxa de disparos dos neurônios serotoninérgicos do núcleo dorsal da rafe (NDR) em várias espécies (Mundey et al., 1996; Fornal et al., 1996; Bjorvatn et al., 2000; Hajós et al., 2001). Neste sentido, Canto-de-Souza et al (2002), propuseram que microinjeções de WAY 100 635 intra-NMR leva à atenuação da ansiedade por aumentar a liberação de serotonina em sítios pós-sinápticos. Estes autores sugeriram, ainda, que esta resposta pode ser atribuída à SCP mesencefálica, onde a ativação serotoninérgica usualmente resulta em efeitos anti-aversivos

em ratos (Deakin e Graeff, 1991; Graeff et al., 1996; Graeff et al., 1997) e camundongos (Nunes-de-Souza et al., 2008). Desta forma, como a SCP recebe projeções serotoninérgicas do NMR, pelo menos em ratos (Vertes et al., 1999), os efeitos ansiolíticos do WAY 100 635 microinjetado no NMR podem ser consequência do aumento da liberação de serotonina agindo sobre os receptores de 5-HT da SCP.

Desta forma, podemos sugerir que a serotonina estaria atuando como ansiolítica nos receptores 5-HT<sub>3</sub> da SCP de camundongos, e para verificar esta hipótese realizamos o experimento 2. Entretanto, as microinjeções de mCPBG, agonista dos receptores 5-HT<sub>3</sub>, na SCP de camundongos avaliados no LCE, não produziram efeitos.

Resultados semelhantes aos nossos foram encontrados na literatura, porém com administração sistêmica. Assim, foi observada ausência de efeitos com as doses de 1,0 a 10 mg/kg, i.p. em ratos submetidos ao LCE, teste claro/escuro (Sandman et al., 1996 ) e vocalização ultrasônica (Schreiber et al., 1998), bem como em camundongos (10 mg/kg, i.p.) submetidos ao LCE (Fachini e Canto-de-Souza, 2008). Em doses baixas (1,0 mg/kg, i.p.), o mCPBG também promoveu ausência de efeitos no teste de interação social (Eguchi, 2001).

Entretanto a administração sistêmica de mCPBG (1,0 e 3,0 mg/kg, i.p.), em ratos (Andrews e File, 1992) e camundongos (Fachini e Canto-de-Souza, 2008) submetidos ao LCE, produziu efeito ansiogênico.

Outros autores tem demonstrado que diferentes agonistas dos receptores 5-HT<sub>3</sub>, tais como quipazina e fenilbiguanida, administrados de forma sistêmica, não produziram efeitos em ratos expostos ao LCE e teste claro/escuro (Sandman et al., 1996). No mesmo sentido, administração de 2-Me-5-HT, nos núcleos dorsal da rafe e accumbens de ratos e camundongos, também resultou em ausência de efeitos nos teste de interação social e teste

claro/escuro (Costall et al., 1989; Higgins et al., 1991). Porém, nenhum estudo tinha ainda avaliado os efeitos da administração de mCPBG intra-SCP em camundongos expostos ao LCE.

Desta forma, como o ondansetron produziu efeito ansiogênico, era esperado que o mCPBG (agonista) injetado na SCP produzisse efeito ansiolítico ou ausência de efeitos na ansiedade avaliada em camundongos. Os resultados obtidos mostraram que nenhuma das doses testadas alteraram as medidas convencionais (Lister, 1987) e etológicas de ansiedade (Cruz et al., 1994; Rodgers e Johnson, 1995). Algumas hipóteses podem ser levantadas para explicar esta ausência de efeito: a) ausência de seletividade do agonista. Entretanto, trabalhos anteriores têm demonstrado que este fármaco é um agonista seletivo para os receptores 5-HT<sub>3</sub> (Sepúlveda et al., 1991); b) atuação em subtipos específicos nos receptores 5-HT<sub>3</sub> (Niesler et al., 2003; Morales et al., 2001); ou ainda c) ativação dos receptores 5-HT<sub>3</sub> por este agonista na SCP necessite de uma ação conjunta com outros subtipos de receptores serotoninérgicos.

Devido a essa diversidade de resultados no comportamento de ansiedade, tem sido proposto, que a serotonina possui um papel dual, podendo apresentar efeitos ansiogênicos ou ansiolíticos, dependendo do subtipo de receptor e sítio pós-sináptico envolvido (Deakin e Graeff, 1991; Graeff et al., 1997; Graeff, 2004). Além disso, estudos tem mostrado que outros subtipos de receptores de serotonina podem modular a ansiedade na SCP de roedores (Olivier et al., 2000).

Neste sentido, outras evidências da literatura tem apontado para uma possível modulação dos antagonistas dos receptores 5-HT<sub>3</sub> sobre outros sistemas de neurotransmissores, tais como, dopaminérgicos (Hagan et al., 1987; Costall et al., 1987;

Costall, et al., 1988), noradrenérgicos (Mongeau, et al., 1994), gabaérgicos (Alhaider et al., 1991; Diez-Ariza et al., 2002) e serotoninérgicos (Olivier et al., 2000).

Em relação à serotonina, ensaios utilizando ligantes marcados revelaram que a administração crônica de ipsapirona (sistêmica), agonista parcial 5-HT<sub>1A</sub>, produz mudanças adaptativas na neurotransmissão serotoninérgica do SNC em ratos. Assim, houve redução dos sítios de ligação 5-HT<sub>2A/C</sub> e 5-HT<sub>3</sub> no córtex posterior e frontal, enquanto os receptores 5-HT<sub>1A</sub> do hipocampo, septo e núcleo dorsal da rafe, permaneceram inalterados. Estes resultados, de certa forma, apontam para a possibilidade de interação entre receptores 5-HT<sub>3</sub> e 5-HT<sub>2</sub> (Schechter et al., 1990). Neste mesmo caminho, outros autores demonstraram que a ativação dos receptores 5-HT<sub>2</sub> por  $\alpha$ -methyl-5-HT (agonista seletivo), exerceu um efeito modulatório sobre os receptores 5-HT<sub>3</sub> em células do gânglio trigeminal de ratos, realçando sua funcionalidade (Hu et al., 2004). Tomados juntos, estes achados corroboram a hipótese de interação entre receptores 5-HT<sub>3</sub> e 5-HT<sub>2</sub>.

Recentes resultados do nosso laboratório mostraram que o mCPP, agonista dos receptores 5-HT<sub>2B/2C</sub> (Hoyer e Schoeffer, 1991), modula a ansiedade em camundongos expostos ao LCE (Nunes-de-Souza et al., 2008). Diante dessa evidência e dos estudos mencionados acima, avaliamos no Experimento 3, a possibilidade de interação entre os receptores 5-HT<sub>3</sub> e o subtipo 5-HT<sub>2B/2C</sub> da SCP de camundongos. Os resultados mostraram que o pré-tratamento com ondansetron (1,0 nmol), em uma dose que não produziu efeito por si só, bloqueou o efeito ansiolítico do mCPP (0,03 nmol) em camundongos avaliados no LCE. Este resultado foi confirmado pela diminuição significativa das porcentagens de entrada e tempo gasto nos braços abertos, além do aumento das porcentagens de tempo gasto nos braços fechados, esticar e mergulhar protegido do grupo tratado com OND+mCPP, quando comparado ao grupo V+mCPP (olhar Fig. 6, Tab. 6).

As medidas convencionais e etológicas avaliadas neste estudo confirmam o efeito ansiolítico do mCPP na SCP, obtido anteriormente em outro estudo (Nunes-de-Souza et al., 2008). Cabe salientar, que nenhum dos grupos tratado com injeção combinada apresentou alteração da atividade locomotora, corroborando estudos anteriores com uma única injeção de ondansetron (Fachini e Canto-de-Souza, 2008) ou mCPP (Cornélio e Nunes-de-Souza, 2007; Nunes-de-Souza et al., 2008).

Entretanto, efeitos contraditórios dos agonistas 5-HT<sub>2</sub> na modulação da ansiedade são encontrados em estudos anteriores. Assim, efeitos ansiogênicos foram relatados após microinjeções de mCPP no hipocampo dorsal (Whitton e Curzon, 1990) e de TFMPP, agonista 5-HT<sub>2C</sub> não seletivo, ou MK-212, agonista preferencial 5-HT<sub>2C</sub>, no hipocampo ventral (Alves et al., 2004) de ratos. Segundo Cornélio e Nunes-de-Souza, 2007, a administração de mCPP intra-amídala, causou efeito ansiogênico, enquanto que intra-hipocampo produziu ausência de efeitos, em camundongos submetidos ao LCE.

Portanto, neste estudo o bloqueio do efeito ansiolítico produzido pelo mCPP, com o ondansetron, sugere que a serotonina esteja atuando como ansiolítica nos receptores 5-HT<sub>2</sub>, o que foi confirmado pelo efeito ansiolítico do agonista. E que provavelmente os receptores 5-HT<sub>3</sub> estejam modulando os receptores 5-HT<sub>2B/2C</sub> da SCP em camundongos.

Entretanto, o agonista utilizado na injeção combinada, mCPP, é uma droga não seletiva porque pode atuar tanto nos receptores 5-HT<sub>2C</sub> como também nos receptores 5-HT<sub>2B</sub> (Barnes e Sharp, 1999). Desta forma, seria interessante em futuras investigações, utilizar ligantes seletivos para os receptores 5-HT<sub>2C</sub> com o intuito de confirmar qual subtipo de receptor 5-HT<sub>2</sub> está interagindo com os receptores 5-HT<sub>3</sub> da SCP.

Portanto, os nossos resultados mostram que o ondansetron intra-SCP produz efeito ansiogênico em camundongos avaliados no LCE. O tratamento com o mCPBG causa

ausência de efeito, mas o ondansetron é capaz de bloquear o efeito ansiolítico produzido pelo mCPP. Novos estudos serão necessários para esclarecer o mecanismo de ação desta interação entre os receptores 5-HT<sub>3</sub> e 5-HT<sub>2B/2C</sub> da SCP em camundongos.

## 8. CONCLUSÃO

Desta forma, podemos concluir que:

- O bloqueio de receptores 5-HT<sub>3</sub> da SCP resulta em efeitos ansiogênicos em camundongos submetidos ao LCE.
- A ativação de receptores 5-HT<sub>3</sub> da SCP não produz efeitos em camundongos submetidos ao LCE.
- A administração prévia na SCP de uma dose inativa de ondansetron, antagonista dos receptores 5-HT<sub>3</sub>, bloqueia o efeito ansiolítico obtido pelo mCPP microinjetado nesta estrutura em camundongos submetidos ao LCE, mostrando uma possível modulação dos receptores 5-HT<sub>3</sub> sobre os receptores 5-HT<sub>2B/2C</sub>.

## 9. REFERÊNCIAS

AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION. Manual diagnóstico e estatístico de transtornos mentais. Miguel R. Jorge (Coord.). Cláudia Dornelles (Trad.). 4 ed., DSM-IVTR. Porto Alegre: Artmed, 1995.

ADAMS, D.B. Brain mechanisms of offense, defense and submission. *The behavioral and Brain Sciences* 2: 201-241, 1979.

AGUIAR, D.C., MOREIRA, F.A., GUIMARÃES, F.S. Flight reactions induced by injection of glutamate N-methyl-D-aspartate receptor agonist into the rat dorsolateral periaqueductal gray are not dependent on endogenous nitric oxide. *Pharmacology Biochemistry and Behaviour* 83: 296-301, 2006.

ALHAIDER, A.A., LEI, S.Z., WILCOX, G.L. Spinal 5-HT<sub>3</sub> receptor-mediated antinociception: possible release of GABA. *The Journal of Neuroscience* 11: 1881-1888, 1991.

ALVES, S.H., PINHEIRO, G., MOTTA, V., LANDERA-FERNANDES, J., CRUZ, A.P.M. Anxiogenic effects in the rat elevated plus-maze of 5-HT<sub>2C</sub> agonists into ventral, but no dorsal hippocampus. *Behaviour Pharmacology* 15: 37-43, 2004.

ANDREWS, N., FILE, S.E. Handling history of rats modifies behavioural effects of drugs in the elevated plus-maze test of anxiety. *Eur J Pharmacology* 235: 109-112, 1992.

AZMITIA, E.C., SEGAL, M. An autodiographic analysis of the differential ascending projections of the dorsal and median raphe nuclei in the rat. *Journal Comp Neurology* 179: 641-688, 1978.

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

BARNES, J.M., COSTALL, B., IRONSIDE, J.W., NAYLOR, R.J. Identification and characterization of 5-HT<sub>3</sub> recognition sites in human brain tissue. *Journal Neurochemical* 53: 1787-1793, 1989.

BARNES, N.M., COSTALL, B., NAYLOR, R.J. [<sup>3</sup>H] Zacopride, ligand for the identification of 5-HT<sub>3</sub> recognition sites. *Journal Pharmacology* 40: 548-551, 1988A.

BANDLER, R., KEAY, K.A., FLOYD, N., PRICE, J. Central circuits mediating patterned autonomic activity during active vs. passive emotional coping. *Brain Research Bulletin* 53: 95-104, 2000.

BANDLER, R., KEAY, K.A. Columnar organization in the midbrain periaqueductal gray and integration of emotional expression. In: Holstege, G.; Bandler, R.; Saper, C. *Progress in Brain Research* 107: 285-300, 1996.

BANDLER, R., SHIPLEY, M.T. Columnar organization in the midbrain periaqueductal gray: modules for emotional expression? Trends in Neuroscience 17: 379-389,1994.

BANDLER, R., CARRIVE, P., DEPAULIS, A. Emerging principles of the organization of the midbrain periaqueductal grey matter. Em Depaulis, A.; Bandler, R. The midbrain periaqueductal gray matter. New York. Plenum Press 1-8, 1991.

BANDLER, R., DEPAULIS, A. Midbrain periaqueductal gray control of defensive behavior in the cat and the rat. Em: Depaulis, A.; Bandler, R. The midbrain periaqueductal gray matter. New York. Plenum Press 175-198, 1991.

BANDLER R, DEPAULIS A, VERGNES M. Identification of midbrain neurones mediating defensive behaviour in the rat by microinjections of excitatory amino acids. Behavioural Brain Research 15 (2): 107-119, 1985.

BEHBEHANI, M.M. Functional characteristics of the midbrain periaqueductal gray. Progress Neurobiology 46: 575-605, 1995.

BEITZ, A.J. Central Gray. In: PAXINOS G. (ed). The Human Nervous System. 1 ed., San Diego, Academic Press, 307-320, 1990.

BJORVATN, B., FORNAL, C.A., MARTIN F.J., METZLER, C.W., JACOBS, B.L. Venlafaxine and its interaction with WAY 100635: effects on serotonergic units activity and behavior in cats. Eur J of Pharmacology 404: 121-132, 2000.

BLANCHARD R.J., BLANCHARD D.C. Ethoexperimental approaches to the biology of emotion. *Annual Review of Psychology* 39: 43-68, 1988.

BLANCHARD, D.C., BLANCHARD, R.J., RODGERS, R.J. Pharmacological and Neural control of anti-predator defense in the rat. *Aggressive Behavior* 16: 165-176, 1990.

BLANCHARD, R.J., YUDKO, E.B., RODGERS, R.J., BLANCHARD, D.C. Defensive system psychopharmacology: an ethological approach to the pharmacology of fear and anxiety. *Behavioural Brain Research* 58: 155-165, 1993.

BLANCHARD, D.C, GRIEBEL, G., BLANCHARD, R.J. Mouse defensive behaviors: pharmacological and behavioral assays for anxiety and panic. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 25: 205-218, 2001.

BRANDÃO, M.L., CARDOSO, S.H., MELO, L.L., MOTTA, V., COIMBRA, N.C. The neural substrate of defensive behavior in the midbrain tectum. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 18: 339-346, 1994.

BRANDÃO, M.L., ANSELONI, V.Z., PANDÓSSIO, J.E., DE ARAÚJO, J.E., CASTILHO, V.M. Neurochemical mechanisms of defensive behavior in the dorsal midbrain. *Neuroscience and Biobehavioural Reviews* 23: 863-875, 1999.

BRANDÃO, M.L., VIANNA, D.M., MASSON, S., SANTOS, J. Neural organization of different types of fear: implications for the understanding of anxiety. *Revista brasileira de Psiquiatria* 25 (Supl II): 36-41, 2003.

BRADLEY, P.B., ENGEL, G., FENIUK, W. ET AL. Proposals for the classification and nomenclature of functional receptors for 5-hydroxytryptamine. *Neuropharmacology* 25: 563-576. 1986.

BUTLER, A., HILL, J.J., IRELAND, S.J., JORDAN, C.C., TYERS, S.M.B. Pharmacological properties of GR38032F, a novel antagonist at 5-HT<sub>3</sub> receptor. *Br J Pharmacology* 94: 397-412, 1988.

CANTERAS, N.S., GOTO, M. Fos-like immunoreactivity in the periaqueductal grey of rats exposed to a natural predator. *Neuroreport* 10: 413-418, 1999.

CANTERAS, N.S., SWANSON, L.W. The dorsal premammillary nucleus: an unusual component of the mammillary body. *Proc Natl Academy Science*. 10089-10093, 1992.

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* 928: 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* 29: 1193-1205, 2005.

CARVALHO-NETTO, E.F., MARKHAM, C., BLANCHARD, C.D., NUNES-DE-SOUZA, R.L., BLANCHARD, R.J. Physical environment modulates the behavioral responses induced by chemical stimulation of dorsal periaqueductal gray in mice. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 85, 140-147, 2006.

CEULEMANS, D.L.S., HOPPENBROWERS, M., GELDERS, Y.G., REYNTJENS, A.J.M. The influence of ritanserin, a serotonin antagonist, in anxiety disorders: a double blind placebo-controlled study versus lorazepam. *Psychopharmacology* 18: 303-305, 1985.

COMOLI, E., RIBEIRO-BARBOSA, E.R., CANTERAS, N.S. Predatory hunting and exposure to a live predator induce opposite patterns of Fos immunoreactivity in the PAG. *Behavioural Brain Research* 138: 17-28, 2003.

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* 178: 82- 89, 2007.

COSTALL, B., NAYLOR, R.J. Neuropharmacology of 5-HT<sub>3</sub> receptor ligands. In: Baumgarten, H.G.; Gfthert, M. (Eds.). *Serotonergic neurons and 5-HT receptors in the CNS*. Springer, Berlin, 409-438, 1997.

COSTALL, B., JONES, B.J., KELLY, M.E., NAYLOR, R.J., ONAIVI, E.S., TYERS, M.B.  
Sites of action of ondansetron to inhibit withdrawal from drugs of abuse. *Pharmacol  
Biochem Behaviour* 36: 97-104, 1990.

COSTALL, B., KELLY, M.E., NAYLOR, R.J., TOMKINS, D.M. Exploration of mice in  
black and white test box: validation as a model of anxiety. *Pharmacology Biochemical  
Behaviour* 32: 777-785, 1989D.

COSTALL, B., KELLY, M.E., NAYLOR, R.J., ONAIVI, E.S., TYERS, M.B.  
Neuroanatomical sites of action of 5-HT<sub>3</sub> receptor agonists and antagonists for alteration of  
aversive behaviour in the mouse. *Brasilian Journal Pharmacology* 96: 325-332, 1989.

COSTALL, B., DOMENEY, A.M., GERRARD, P.A., KELLY, M.E., NAYLOR, R.J.  
Zacopride: anxiolytic profile in rodent and primate models of anxiety. *Journal Pharmacology*  
40: 302-305, 1988A.

COSTALL, B., DOMENEY, A.M., NAYLOR, R.J., TYERS, M.B. Effects of the 5-HT<sub>3</sub>  
receptor antagonist, GR38032F, on raised dopaminergic activity in the mesolimbic system  
of the rat and marmoset brain. *Brasilian Journal Pharmacology* 92: 881-894, 1987A.

COSTALL, B., DOMENEY, A.M., NAYLOR, R.J., TYERS, M.B. Inhibition by 5-HT<sub>3</sub>  
antagonists of hyperactivity caused by dopamine infusion into the rat accumbens. *Brasilian  
Journal Pharmacology* 93: 194, 1987B.

CRUZ, A.P.M., PINHEIRO, G., ALVES, S.H., FERREIRA, G., MENDES, M., FARIA, L. Behavioral effects of sistemically administered MK-212 are prevented by ritanserin microinfusion into the basolateral amygdala of rats exposed to the elevated plus-maze. *Psychopharmacology* 182: 345-354, 2005.

CRUZ, A.P.M., FREI, F., GRAEFF, F.G. Ethopharmacological analysis of rat behavior on the elevated plus-maze. *Pharmacol Biochem Behaviour* 49: 171-176, 1994.

DAHLSTROM, A., FUXE, K. Localization of monoamines in the lower brain stem. *Experientia* 20: 398-399, 1964.

DEAKIN, J.F.W., GRAEFF, F.G. 5-HT and mechanisms of defence. *Journal Psychopharmacology* 5: 305-315, 1991.

DIEZ-ARIZA, M., ALLOZA, M.G., LASHERAS, B., DEL RÍO, J., RAMIREZ, M.J. GABA receptor antagonists enhance cortical acetylcholine release A induced by 5-HT receptor blockade in freely moving rats 3. *Brain Research* 956: 81-85, 2002.

DI ESCALA, G., SCHMITT, P., KARLI, P. Flight induced by infusion of bicuculline methiodide into periventricular structures. *Brain Research* 309 (2): 199-208, 1984.

DOURISCH, C.T. Brain 5-HT<sub>1A</sub> receptors and anxiety. In: Dourish, C.T.; Hutson, P.H.; Ahlenius, S. *Brain 5-HT<sub>1A</sub> receptors*. Ellis Horwood City 216-278, 1987.

DUBIN, A.E., HUVAR, R., D'ANDREA, M.R., PYATI, J., ZHU, J.Y., JOY, K.C., et al. The pharmacological and functional characteristics of the serotonin 5-HT<sub>3A</sub> receptor are specifically modified by a 5-HT<sub>3B</sub> receptor subunit. *Journal Biologic Chemical* 274: 30799-30810, 1999.

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

EGUCHI, J., INOMATA, Y., SAITO, K. The anxiolytic-like effect of MCI-225, a selective NA reuptake inhibitor with 5-HT<sub>3</sub> receptor antagonism. *Pharmacology Biochemical Behavior* 68: 677-688, 2001.

FACHINI, G., CANTO-DE-SOUZA, A. Efeito ansiogênico do ondasetron 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.L.M. Intra-ventral hippocampus injections of ondansetron increase anxiety in mice exposed in elevated plus-maze (submetido), *Behavior Pharmacology* 2008.

FACHINI, G., CANTO-DE-SOUZA, A. Reversão do efeito ansiogênico do ondasetron 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.

FAERBER, L., DRECHSLER, S., LADENBURGUER, S., GSCHAIDMEIER H., FISCHER W. The neuronal 5-HT<sub>3</sub> receptor network after 20 years of research- Envolving concepts in management of pain and inflammation. *European Journal Pharmacology* 560: 1-8, 2007.

FELDBERG, W., MYERS, R.D. Effects on temperature of amines injected into cerebral ventricles. A new concept of temperature regulation. *Journal Physiology (Lond)*. 173: 226-231, 1964.

FERNANDES, C., FILE, S.E. The influence of open arm ledges and maze experience in the elevated plus-maze. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior* 54: 31-40, 1996.

FERREIRA, H.S., SILVA, E.C., COINTEIRO, C., OLIVEIRA, E., FAUSTINO, T.N., FREGONEZE, J.B. Role of central 5-HT<sub>3</sub> receptors in the control of blood pressure in stressed and non-stressed rats. *Brain Research* 1028: 48-58, 2004.

FILE, S.E. Behavioural detection of ansiolytic action. In: *Experimental Approaches to Anxiety and Depression*, (Eds JM Elliott, DJ Heal and CA Marsden), 25-44. J Wiley, Chichester, 1992.

FILE, S.E., JOHNSTON, A.L. Lack of effects of 5-HT<sub>3</sub> receptor antagonists in the social interaction an elevated plus-maze tests of anxiety in the rat. *Psychopharmacology* 99: 248-251, 1989.

FORNAL, C.A., METZLER, C.W., GALLEGOS, R.A., VEASEY, S.C., MCCREARY, A.C., JACOBS, B.L. WAY 100635, a potent and selective 5-hydroxytryptamine 1A antagonist, increases serotonergic neuronal activity in behaving cats: comparison with (S)-WAY-100135. *J of Pharmacol and Experim Therapy* 27: 752-762, 1996.

FRANKLIN, K.B.J., PAXINOS, G. The mouse brain in stereotaxic coordinates. Academic Press, California, USA, 1997.

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

GOODWIN, G.M., GREEN, A.R. A behavioural and biochemical study in mice and rats of putative selective agonists and antagonists for 5-HT<sub>1</sub> and 5HT<sub>2</sub> receptors. *Br J Pharmacology* 84: 743-753, 1985.

GRAEFF, F.G., ZANGROSSI, H. Animal models of anxiety. In: D'HAENEN; DENBOER, J.A.; WILLER, P. (Eds). *Biological Psychiatry*. John Wiley & Sons Ltd. 1-15, 2002.

GRAEFF, F.G. Ansiedade. In: GRAEFF, F.G., BRANDÃO, M.L. *Neurobiologia das doenças mentais*. (5 ed), Lemos, São Paulo: 135-178, 1999.

GRAEFF, F.G., VIANA, M.B., MORA, P.O. Dual role of 5-HT in defense and anxiety. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 21 (6): 791-799, 1997.

GRAEFF, F.G., GUIMARÃES, F.S., ANDRADE, T.G.C.S., DEAKIN, J.F.W. Role of 5-HT in stress, anxiety and depression. *Pharmacology Biochemical and Behavior* 54: 129-141, 1996.

GRAEFF, F.G. Ansiolíticos. In: *Drogas Psicotrópicas e seu modo de ação*. EPU, São Paulo, 61-83, 1989.

GRAY, J.A., MCNAUGAHTON, N. *The neuropsychology of anxiety: an enquiry into the functions of the septo-hippocampal system*. 2 nd ed. Oxford University Press, London, England, 2000.

GRAY, J.A. *The neuropsychology of Anxiety*. Oxford University Press, New York, 1982.

GREEN, R.A. Neuropharmacology of 5-hydroxytryptamine. *Nature* 147: 145-152, 2006.

GREEN, S., HODGERS, H. Animal models of anxiety. In: *Behavioural Models in Psychopharmacology* (Ed P Willner), 21-29. CUP: Cambridge, 1991.

GREENSHAW, A.J., SILVERSTONE, P.H. The non-antiemetic uses of serotonin 5-HT<sub>3</sub> receptor antagonists: clinical pharmacology and therapeutics applications. *Drugs* 53: 20-39, 1997.

GREENSHAW, A.J. Behavioural pharmacology of 5-HT<sub>3</sub> receptor antagonists: a critical update on therapeutic potential. *Trends Pharmacology Science* 14: 265-270, 1993.

GRIEBEL, G., SANGER, D.J., PERRAULT, G. The use of the rat plus-maze to discriminate non selective and BZ-1 ( $\omega$ 1) selective, benzodiazepine receptor ligands. *Psychopharmacology* 124: 245-254, 1996.

GRIEBEL, G. 5-Hydroxytryptamine-interacting drugs in animal models of anxiety disorders: more than 30 years of research. *Pharmacology and Therapeutics* 65: 319-395, 1995.

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

HANDLEY, S. L., MCBLANE, J. W. An assesment of the elevated X-maze for studying anxiety-modulating drugs. *Journal of Pharmacology Toxicology* 29: 129-138, 1993.

HANDLEY, S.L. Serotonin in animal models of anxiety: the importance of stimulus and response. In: Serotonin, Sleep and Mental Disorder. Eds C Idzikowski and PJ Cowen. Wrightson, London 89-115, 1991.

HAGAN, R.M., BUTLER, A., HILL, J.M., JORDAN, C.C., IRELAND, S.J., TYERS, M.B. Effect of the 5-HT<sub>3</sub> receptor antagonist, GR38032F, on responses to injection of a neurokinin agonist into the ventral tegmental area of the rat brain. *European Journal Pharmacology* 138: 303-305, 1987.

HAJÓS, M., HOFFMANN, W.E., TETKO, I.V., HYLAND, B., SHARP, T., VILLA, A.E.P. Different tonic regulation of neuronal activity in the rat dorsal raphe and medial prefrontal cortex via 5-HT<sub>1A</sub> receptors. *Neurosci Letters* 304: 129-132, 2001.

HETEM, L.A.B. Bases Neurais. In: HETEM, L.A.B., GRAEFF, F.G. Transtornos de ansiedade. São Paulo: Editora Atheneu, 107-132, 2004.

HETEM, L.A.B. Diagnóstico Diferencial. In: HETEM, L.A.B.; GRAEFF, F.G. Transtornos de ansiedade. São Paulo: Editora Atheneu, 191-205, 2004.

HIGGINS, G.A., JONES, B.J., OAKLEY, N.R., TYERS, M.B. Evidence that the amygdala is involved in the disinhibitory effects of 5-HT<sub>3</sub> receptors antagonists. *Psychopharmacology* 104: 545-551, 1991.

HOYER, D., CLARKE, D.E., FOZARD, J.R. ET AL. International union of pharmacological classification of receptors for 5-hydroxytryptamine (serotonin). *Pharmacology Science* 4: 233-236, 1994.

HOYER, D., NEIJT, H.C. Identification of 5-HT<sub>3</sub> recognition sites in membranes of N1E-115 neuroblastoma cells by radioligand binding. *Mol Pharmacology* 33: 303-309, 1988.

HOYER, D., SCHOEFFTER, P. 5-HT<sub>3</sub> receptors: subtypes and second messengers. *J Receptor Research* 11:197-214, 1991.

HUNSPERGER, R.W. Comportements affectifs provoques par la stimulation eletrique du tronc cerebral et du cerveau anterieur. *Journal de Physiology* 55: 45, 1963.

HU, W.P., GUAN, B.C., RU, L.Q., CHEN, J.G., LI, Z.W. Potentiation of 5-HT<sub>3</sub> receptor function by the activation of coexistent 5-HT<sub>2</sub> receptors in trigeminal ganglion neurons of rats. *Neuropharmacology* 47: 833-840, 2004.

JENCK F., BROEKKAMP C.L.E., VAN DELFT A.M.L. Effects of serotonin receptors antagonists on PAG stimulation induced aversion: different contributions of 5-HT<sub>1</sub>, 5-HT<sub>2</sub> and 5-HT<sub>3</sub> receptors. *Psychopharmacology* 97: 489-495, 1989.

JONES, B.J., COSTALL, B., DOMENEY, A.M., KELLY, M.E., NAYLOR, R.J., OAKLEY, N.R., TYERS, M.B. The potential anxiolytic activity of GR38032F, 5-HT<sub>3</sub> receptor antagonist. *Brasiliam Journal Pharmacology* 93: 985-993, 1988.

JONES, B.J., BLACKBURN, T.P. The medical benefit of 5-HT research. *Pharmacology Biochemical Behavior* 71: 555-568, 2002.

JOUVET, M. Neurophysiology of the states of sleep. *Physiology Reviews* 47: 117-177, 1967.

KENNETT, G.A., WHITTON, P., SHAH, K., CURSON, G. Anxiogenic effects of mCPP and TFMPP in animal models are opposed by 5-HT<sub>1C</sub> receptor antagonist. *European Journal Pharmacology* 164: 445-454, 1989.

KEAY, K.A., BANDLER, R. Parallel circuits mediating distinct emotional coping reactions to different types of stress. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 25: 669-678, 2001.

KIRBY, L.G., PERNAR, L., VALENTINO, R.J., BECK, S.G. Distinguishing characteristics of serotonin and non-serotonin-containing cells in the dorsal raphe nucleus: electrophysiological and immunohistochemical studies. *Neuroscience* 116: 669-683, 2003.

KILLPATRICK, G.J., BUTLER, A., BURRIDGE, J., OXFORD, A.W. 1-(m-chlorophenyl)-biguanide, a potent high affinity 5-HT<sub>3</sub> receptor agonist. *European Journal Pharmacology* 182: 193-197, 1990.

KILLPATRICK, G.J., JONES, B.J., TYERS, M.B. Binding of the 5-HT<sub>3</sub> ligand [3H]-GR65630 to rat area postrema, vagus nerve and the brain of several species. *European Journal Pharmacology* 159: 157-164, 1989.

KILLPATRICK, G.J., JONES, B.J., TYERS, M.B. Identification and distribution of 5-HT<sub>3</sub> receptors in rat brain using radioligand binding. *Nature* 330: 745-748, 1987.

LAINE, L.; BAPTISTA, D.; MARUCCI, F. A. F.; CANTO-DE-SOUZA, A. Administração de Ondansetron na amígdala de camundongos produz efeito ansiolítico. In: I CONGRESSO IBRO-LARC DE NEUROCIÊNCIAS DA AMÉRICA LATINA, CARIBE E PENÍNSULA IBÉRICA, 2008, Búzios.

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

LISTER, R.G. Ethologically-based animal models of anxiety disorders. *Pharmacology and Psychopharmacology* 92: 180-185, 1990.

LUCKI, I. 5-HT<sub>1</sub> receptors and behavior. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 16: 83-93, 1992.

MARUCCI, F.A.F., CANTO-DE-SOUZA, A. Microinjeção de antagonista dos receptores 5-HT<sub>3</sub> na amígdala de camundongos produz efeito ansiolítico. In: Federação de Sociedades de Biologia Experimental – FeSBE. XXI Reunião Anual, Águas de Lindóia, SP, 2006.

MARUCCI, F.A.F., FACHINI, G., CANTO-DE-SOUZA, A. Agonista dos receptores 5-HT3 produz efeito ansiogênico em camundongos avaliados no labirinto em cruz elevado. In: XIV CIC - Congresso de Iniciação Científica da Universidade Federal de São Carlos-UFSCar. São Carlos, SP, 2006.

MACNAUGHTON, N., CORR, P.J. A two-dimensional neuropsychology of defense: fear/anxiety and defensive distance. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 28: 285-305, 2004.

MCQUADE, R., SHARP, T. Functional mapping of dorsal and median raphe 5-hydroxytryptamine pathways in forebrain of the rat using microdialysis. *Journal Neurochemical* 69: 791-796, 1997.

MENARD, J., TREIT, D. Effects of centrally administered anxiolytic compounds in animal models of anxiety. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 23: 591-613, 1999.

MIGUEL, T.T., NUNES-DE-SOUZA, R.L. Defensive-like behaviors and antinociception induced by NMDA injection into the periaqueductal gray of mice depend on nitric oxide synthesis. *Brain Research* 1076, 42-48, 2006.

MILLAN, M.J. The neurobiology and control of anxious states. *Prog Neurobiology* 70: 83-244, 2003.

MONGEAU, R., MONTIGNY, C., BLIER, P. Activation of 5-HT<sub>3</sub> receptors enhances the electrically evoked release of [3H] noradrenaline in rat brain limbic structures. *European Journal Pharmacology* 256: 269-279, 1994.

MONTGOMERY, K.C. The relation between fear induced by novel stimulation and exploratory drive. *Journal of Comparative and Physiological Psychology* 48: 154-260, 1955.

MORALES, M., MC COLLUN, N., KIRKNESS, E.E.F. 5-HT<sub>3</sub> subunits A and B are co-expressed in neurons of the dorsal root ganglion. *J Comp Neurology* 438: 163-172, 2001.

MUNDLEY, M.K., FLETCHER, A., MARSDEN, C.A. Effects of 8-OH-DPAT and 5-HT<sub>1A</sub> antagonists WAY 100135 and WAY 100635, on guinea-pig behaviour and dorsal raphe 5-HT neurone firing. *Br J Pharmacology* 117: 750-756, 1996.

NASHOLD, B.S., WILSON, W.P., SLAUGTER, D.G. Sensation evoked by stimulation in the midbrain of man. *Journal of Neurosurgery* 30: 14-24, 1969.

NAKAMURA, K., MORRISON, S.F. Central efferent pathways mediating skin cooling-evoked sympathetic thermogenesis in brown adipose tissue. *American Journal Physiology Regul Integr Comp Physiology* 292: R127-R136, 2007.

NETTO, M.S., SILVEIRA, R., CYSNE-COIMBRA, N., JOCA, S.R.L., SILVEIRA GUIMARAES, F. Anxiogenic effect of median raphe nucleus lesion in stressed rats. *Prog Neuropsychopharmacology & Biology Psychiatry* 26: 1135-1141, 2002.

NIESLER, B., FRANK, B., KAPPELLER, J., RAPPOLD, G.A. Cloning, physical mapping and expression analysis of the human 5-HT<sub>3</sub> serotonin receptor-like genes HTR3C, HTR3D and HTR3E. *Gene* 310: 101-111, 2003.

NUTT, D.J. The pharmacology of human anxiety. *Pharmacology and Therapeutics* 47: 233-266, 1990.

NUNES-DE-SOUZA, V., NUNES-DE-SOUZA, R.L., RODGERS, R.J., CANTO-DE-SOUZA, A.L.M. 5-HT<sub>2</sub> receptor activation in the midbrain periaqueductal grey (PAG) reduces anxiety-like behaviour in mice. *Behavior Brain Research* 187: 72-79, 2008.

NUNES-DE-SOUZA, R.L.; CANTO-DE-SOUZA, A.; RODGERS, R.J. Effects of intrahippocampal infusion of WAY-1000635 on plus-maze behavior in mice. Influence of site of injection and prior test experience. *Brain Research* 927: 87-96, 2002.

NUNES-DE-SOUZA, R.L., CANTO-DE-SOUZA, A., DA-COSTA, M., FORNARI, R.V., GRAEFF, F.G., PELÁ, I.R. Anxiety-induced antinociception in mice: effects of systemic and intra-amygdala administration of 8-OH-DPAT and midazolam. *Psychopharmacology* 150(3): 300-310, 2000.

OLIVIER, B., VANWIJNGAARDEN, I., SOUDIJN, W. 5-HT<sub>3</sub> receptor antagonists and anxiety: a preclinical and clinical review. *European Neuropsychopharmacology* 10: 77-95, 2000.

PENG, Y.B., LIN, Q., WILLIS, W.D. The Role of 5-HT<sub>3</sub> Receptors In Periaqueductal Gray-Induced Inhibition of Nociceptive Dorsal Horn Neurons in Rats. *The Journal of Pharmacology and Exp Therapeutic* 276: 116-124, 1996.

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* 14: 149-167, 1985.

PICHOT, P. Panique attaque et trouble: Historique du mot et des concepts. *L'encephale*. Sp. V, 3-8, 1996.

PRATT, G.D., BOWERLY, N.G. The 5-HT<sub>3</sub> receptor ligand, [3H]-BR43694, binds to presynaptic sites in the nucleus tractus solitarius of the rat. *Neuropharmacology* 28:1367-1376, 1989.

RAHMAN, A.A., DAOUD, M.K., DUKAT, M.G., DAVIS, K.H., PUROHIT, A., TEITLER, M., AMARAL, A.T., MALVEZZI, A., GLENNON, R.A. Conformationally-Restricted analogues and partition coefficients of the 5-HT<sub>3</sub> serotonin receptor ligands meta-Chlorophenylbiguanide (mCPBG) and meta-Chlorophenylguanidine (mCPG). *Bioorganic & Medicinal Chemical Letters* 13: 1119-1123, 2003.

REIS, L.M., CANTO-DE-SOUZA, A.L.M. Intra-periaqueductal gray matter injections of midazolam fail to alter anxiety in plus-maze experienced mice. *Brain Research* 1231: 93-102, 2008.

REX, A., FINK, H., MARSDEN, C. A. Effects of BOC-CCK-4 and L365,260 on cortical 5-HT release in guinea pigs on exposure to the elevated plus maze. *Neuropharmacology* 33: 559-565, 1994.

RODGERS, R.J., COLE, J.C. The elevated plus-maze: pharmacology, methodology and ethology. In: *Ethology and Psychopharmacology*. Eds SJ Cooper and CA Hendrie. J. Wiley: Chichester, 944, 1994.

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* 52(2): 297-303, 1995.

RODGERS, R.J. Animal models of anxiety: where next? *Behav Pharmacology* 8: 477- 496, 1997a.

RODGERS, R.J., CAO, B.J., DALVI, A., HOLMES, A. Animal models of anxiety: an ethological perspective. *Brazilian Journal and Medical Research* 30: 289-304, 1997.

SANDMAN, G., BECKER, P.L., NORMAN, T.R. Activity of 5HT-3 Receptor Active Compounds in Animal Behavioural Models of Anxiety. *European Neuropsychopharmacology* 6:116, 1996.

SAWCHENKO, P.E., SWANSON, L.W., STEINBUSCH, H.W.M., VERHOFSTAD, A.A.J. The distribution and cells of origin of serotonergic inputs to the paraventricular and supraoptic nuclei of the rat. *Brain Research* 277: 355-360, 1983.

SCHECHTER, L.E., BOLANOS, F.J., GOZLAN, H., LANFRANCO, L., HAJ-DAHMANE, S., LAPORTE, A.M., FATTACCINI, C.M., HARNON, M. Alterations of central serotonergic and dopaminergic neurotransmission in rats chronically treated with ipsapirone: biochemical and electrophysiological studies. *J Pharmacol Exp Therapeutics* 255: 1335-1347, 1990.

SCREIBER, R., MELO, C., DE VRY, J. The role of 5-HT receptor subtypes in the anxiolytic effects of selective serotonin reuptake inhibitors in the rat ultrasonic vocalization test. *Psychopharmacology* 135: 383-391, 1998.

SEPÚLVEDA, M.I., LUMMIS, S.C.R., MARTIN, I.L. The agonist properties of m-chlorophenylbiguanide and 2-methyl-5-hydroxytryptamine on 5-HT<sub>3</sub> receptors in NIE-115 neuroblastoma cells. *Br J Pharmacology* 104: 536-540, 1991.

SETEM, J., PINHEIRO, A.P., MOTTA, V.A.; MORATO, S., CRUZ, A.P.M. Ethopharmacological Analysis of 5-HT Ligands on the Rat Elevated Plus-Maze - Their comparative behavioural pharmacology. *Pharmacol Biochem and Behav* 62: 515-521, 1999.

SEWARDS, T.V., SEWARDS, M.A. Fear and power-dominance drive motivation neural representations and pathways mediating sensory and mnemonic inputs, and outputs to premotor structures. *Neuroscience Biobehaviour* 26: 553-579, 2002.

SHEARD, M.H. The effect of pCPA on behavior in rats: relation to brain serotonin and 5-HT<sub>1A</sub>. *Brain Research* 15: 524-528, 1969.

TECOTT, L.H., MARICQ, A.V., JULIUS, D. Nervous system distribution of the serotonin 5-HT<sub>3</sub> receptor mRNA. *Neurobiology* 90: 1430-1434, 1993.

TOMKINS, D.M., ONAIVI, E.S., TYERS, M.B. The effects of ondansetron, a 5-HT<sub>3</sub> receptor antagonist, on cognition in rodents and primates. *Pharmacology Biochemical Behavior* 35: 955-962, 1990.

TOMKINS, D.M., COSTALL, B., KELLY, M.E. Release of suppressed behaviour or rat on the elevated X-maze by 5-HT<sub>3</sub> receptor antagonists injected into the basolateral amygdala. *Journal Psychopharmacology* 4: 262, 1990.

TURLEJSKI, K. Evolutionary ancient roles of serotonin: long lasting regulation of activity and development. *Acta Neurobiology Exp. (Wars)* 56: 619-636, 1996.

TREIT, D. Animal models for the study of anti-anxiety agents: a Review. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 9: 209-222, 1985.

TREIT, D. Anxiolytic effects of benzodiazepines and 5-HT<sub>1A</sub> agonists: a review. In: 5-HT<sub>1A</sub> agonists, 5-HT<sub>3</sub> Agonists and Benzodiazepines: Their Comparative Behavioural Pharmacology. Eds RJ Rodgers and SJ Cooper. J. Wiley: Chichester, 107-131, 1991.

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

TYERS, M.B. A review of the evidence supporting the anxiolytic potential of 5-HT<sub>3</sub> receptor antagonists. In: *Behav Pharmacol of 5-HT*, ed. By Bevan, AR Cools, and T. Archer, pp. 353-358, Laurence Erlbaum Associates Hillsdale, NJ, 1989.

TYERS, M.B., COSTALL, B., DOMENEY, A.M., JONES, B.J., KELLY, M.E., NAYLOR, R.J., OAKLEY, N.R. The anxiolytic activities of 5-HT<sub>3</sub> antagonists in laboratory animals. *Neuroscience* 29: S68, 1987.

VERTES, R.P., FORTIN, W.J., CRANE, A.M. Projections of the median raphe nucleus in the rat. *J Comp Neurol* 407: 555-582, 1999.

VIANNA, D.M.L., LANDEIRA-FERNANDEZ, J., BRANDÃO, M.L. Dorsolateral and ventral regions of the periaqueductal gray matter are involved in distinct types of fear. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 25: 711-719, 2001.

ZANGROSSI, H., GRAEFF, F.G. Modelos animais. In: HETEM, L.A.B., GRAEFF, F.G. *Transtornos de ansiedade*. São Paulo: Editora Atheneu, 55-74, 2004.

ZIFA, E., FILLION, G. 5-Hidroxytryptamine receptors. *Pharmacological Reviews* 44: 401-458, 1992.

ZHANG, W., HAYWARD, L.F., DAVENPORT, P.W. Respiratory responses elicited by rostral versus caudal dorsal periaqueductal gray stimulation in rats. *Auton Neuroscience* 134: 45-54, 2007.

YANNIELI, P.C., KANTEREWICZ, B. I., CARDINALLI, D.P. Daily rhythms in spontaneous and diazepam-induced anxiolysis in Syrian hamsters. *Pharmacology, Biochemistry and Behaviour* 54: 651-656, 1996.

WAEBER, C., PALACIOS, J.M., HOYER, D. ET AL. Distribution of serotonin receptors. *Annals of the New York Academy of Sciences* 600: 36-52, 1990.

WHITTON, P., CURZON, G. Anxiogenic-like effect of infusing 1-(3- chlorophenyl) piperazine) (mCPP) into the hippocampus. *Psychopharmacology* 100: 138-140, 1990.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Disponível em: <  
<http://www.who.int/research/en/>>. Acesso em: 10 março 2007.

## 10. APÊNDICE

**Quadro 1:** Registro das medidas convencionais em camundongos submetidos ao LCE após microinjeção intra-SCP de ondansetron (0, 0,3, 1,0 e 3,0 nmol/0,1µl).

### Controle

SUJEITO	TE	EBA	EBF	TBA	TBF	TC	%EBA	%EBF	%TBA	%TBF	%TC
1	16	5	11	17	102	179	31,25	68,75	5,92	34,14	59,94
2	10	3	7	15	140	144	30,00	70,00	5,12	46,82	48,06
3	16	9	7	90	114	95	56,25	43,75	30,26	38,01	31,73
4	14	8	6	79	183	37	57,14	42,86	26,48	61,08	12,44
5	1	1	0	283	0	16	100,00	0,00	94,34	0,00	5,66
6	4	3	1	60	21	217	75,00	25,00	20,20	7,14	72,66
7	3	1	2	4	289	5	33,33	66,67	1,55	96,60	1,80
8	15	7	8	80	140	79	46,67	53,33	26,74	46,80	26,46
9	18	9	9	106	119	74	50,00	50,00	35,43	39,86	24,71
10	1	1	0	297	0	2	100,00	0,00	99,04	0,00	0,96
11	13	2	11	24	158	116	15,38	84,62	8,15	52,88	38,98
12	6	1	5	223	44	32	16,67	83,33	74,36	14,88	10,76
<b>MÉDIA</b>	<b>9,75</b>	<b>4,17</b>	<b>5,58</b>	<b>106,90</b>	<b>109,56</b>	<b>83,54</b>	<b>50,97</b>	<b>49,03</b>	<b>35,63</b>	<b>36,52</b>	<b>27,85</b>
<b>D.P.M.</b>	<b>6,38</b>	<b>3,27</b>	<b>4,01</b>	<b>103,64</b>	<b>84,45</b>	<b>70,18</b>	<b>28,69</b>	<b>28,69</b>	<b>34,55</b>	<b>28,15</b>	<b>23,39</b>
<b>E.P.M.</b>	<b>1,84</b>	<b>0,94</b>	<b>1,16</b>	<b>29,92</b>	<b>24,38</b>	<b>20,26</b>	<b>8,28</b>	<b>8,28</b>	<b>9,97</b>	<b>8,13</b>	<b>6,75</b>

### Ondansetron 0,3 nmol

SUJEITO	TE	EBA	EBF	TBA	TBF	TC	%EBA	%EBF	%TBA	%TBF	%TC
1	2	2	0	298	0	2	100,00	0,00	99,33	0,00	0,67
2	11	3	8	52	203	43	27,27	72,73	17,54	68,98	14,48
3	19	9	10	118	110	71	47,37	52,63	39,47	36,88	23,65
4	3	2	1	278	13	8	66,67	33,33	92,90	4,36	2,74
5	10	4	6	60	179	60	40,00	60,00	20,05	59,90	20,05
6	21	13	8	78	164	56	61,90	38,10	26,16	54,88	18,96
7	16	5	11	34	139	125	31,25	68,75	11,60	46,60	41,81
8	11	1	10	6	172	121	9,09	90,91	2,00	57,53	40,48
9	16	8	8	115	115	69	50,00	50,00	38,33	38,37	23,30
<b>MÉDIA</b>	<b>12,11</b>	<b>5,22</b>	<b>6,89</b>	<b>115,79</b>	<b>122,17</b>	<b>62,05</b>	<b>48,17</b>	<b>51,83</b>	<b>38,60</b>	<b>40,72</b>	<b>20,68</b>
<b>D.P.M.</b>	<b>6,60</b>	<b>3,99</b>	<b>3,92</b>	<b>104,18</b>	<b>72,16</b>	<b>42,66</b>	<b>26,31</b>	<b>26,31</b>	<b>34,73</b>	<b>24,05</b>	<b>14,22</b>
<b>E.P.M.</b>	<b>2,20</b>	<b>1,33</b>	<b>1,31</b>	<b>34,73</b>	<b>24,05</b>	<b>14,22</b>	<b>8,77</b>	<b>8,77</b>	<b>11,58</b>	<b>8,02</b>	<b>4,74</b>

### Ondansetron 1,0 nmol

SUJEITO	TE	EBA	EBF	TBA	TBF	TC	%EBA	%EBF	%TBA	%TBF	%TC
1	11	7	4	90	35	175	63,64	36,36	29,93	11,65	58,42
2	18	8	10	68	115	117	44,44	55,56	22,58	38,41	39,02
3	4	2	2	10	3	288	50,00	98,00	3,20	0,86	95,93
4	4	1	3	2	267	31	25,00	75,00	0,77	89,01	10,22
5	18	3	15	29	157	115	16,67	83,33	9,66	52,17	38,17
6	28	15	13	124	111	65	53,57	46,43	41,34	36,98	21,67
7	14	10	4	45	81	175	71,43	28,57	14,85	26,84	58,31
8	12	1	11	9	155	136	8,33	91,67	3,10	51,69	45,21
9	2	1	1	12	279	9	50,00	50,00	3,89	34,00	62,11
10	34	18	16	110	133	56	52,94	47,06	36,80	52,00	11,20
11	17	5	12	36	158	106	29,41	70,59	11,86	55,00	33,14
12	8	2	6	12	56	232	25,00	75,00	4,02	54,00	41,98
<b>MÉDIA</b>	<b>14,17</b>	<b>6,08</b>	<b>8,08</b>	<b>45,50</b>	<b>129,10</b>	<b>125,40</b>	<b>40,87</b>	<b>63,13</b>	<b>15,17</b>	<b>41,88</b>	<b>42,95</b>
<b>D.P.M.</b>	<b>9,68</b>	<b>5,74</b>	<b>5,33</b>	<b>42,57</b>	<b>83,65</b>	<b>82,18</b>	<b>19,58</b>	<b>22,27</b>	<b>14,19</b>	<b>22,89</b>	<b>23,97</b>
<b>E.P.M.</b>	<b>2,79</b>	<b>1,66</b>	<b>1,54</b>	<b>12,29</b>	<b>24,15</b>	<b>23,72</b>	<b>5,65</b>	<b>6,43</b>	<b>4,10</b>	<b>6,61</b>	<b>6,92</b>

### Ondansetron 3,0 nmol

SUJEITO	TE	EBA	EBF	TBA	TBF	TC	%EBA	%EBF	%TBA	%TBF	%TC
1	13	3	10	18	157	125	23,08	76,92	5,89	52,42	41,69
2	18	6	12	34	165	102	33,33	66,67	11,19	54,95	33,87
3	1	0	1	0	299	1	0,00	100,00	0,00	99,68	0,32
4	7	2	5	151	47	102	28,57	71,43	50,46	15,51	34,03
5	16	4	12	11	165	124	25,00	75,00	3,76	54,95	41,29
6	10	4	6	46	121	133	40,00	60,00	15,22	40,44	44,34
7	10	1	9	3	260	37	10,00	90,00	0,93	86,65	12,42
8	15	4	11	29	130	141	26,67	73,33	9,65	43,48	46,87
9	13	0	13	0	211	89	0,00	100,00	0,00	70,46	29,54
10	9	1	8	11	204	85	11,11	88,89	3,64	68,06	28,30
<b>MÉDIA</b>	<b>11,20</b>	<b>2,50</b>	<b>8,70</b>	<b>30,22</b>	<b>175,98</b>	<b>93,80</b>	<b>19,78</b>	<b>80,22</b>	<b>10,07</b>	<b>58,66</b>	<b>31,27</b>
<b>D.P.M.</b>	<b>4,94</b>	<b>2,01</b>	<b>3,77</b>	<b>45,22</b>	<b>72,00</b>	<b>44,30</b>	<b>13,78</b>	<b>13,78</b>	<b>15,07</b>	<b>24,00</b>	<b>14,77</b>
<b>E.P.M.</b>	<b>1,56</b>	<b>0,64</b>	<b>1,19</b>	<b>14,30</b>	<b>22,77</b>	<b>14,01</b>	<b>4,36</b>	<b>4,36</b>	<b>4,77</b>	<b>7,59</b>	<b>4,67</b>

**Quadro 2:** Registro das medidas etológicas em camundongos submetidos ao LCE após microinjeção intra-SCP ondansetron (0; 0,3; 1,0 e 3,0 nmol/0,1µl).

### Controle

SUJEITO	% ESTICADAS			% LEVANTAMENTOS			% MERGULHOS			% IMOBILIDADE		
	Total	Prot.	Desp.	Total	Prot.	Desp.	Total	Prot.	Desp.	Total	Prot.	Desp.
1	40	95,0	5,0	3	100,0	0,0	14	85,7	14,2	7	100,0	0,0
2	41	90,2	9,7	25	100,0	0,0	27	81,4	18,5	3	100,0	0,0
3	15	46,6	53,3	7	100,0	0,0	29	13,7	86,2	101	82,8	17,92
4	6	0,0	100,0	0	0,0	0,0	6	0,0	100,0	230	0,0	100,0
5	37	94,5	5,4	8	87,5	12,5	14	85,7	14,2	35	100,0	0,0
6	26	73,0	26,9	0	0,0	0,0	18	27,7	72,2	24	100,0	0,0
7	2	100,0	0,0	5	100,0	0,0	1	0,0	100,0	170	100,0	0,0
8	40	57,5	42,5	19	100,0	0,0	44	34,0	65,9	0	100,0	0,0
9	41	60,9	39,0	27	100,0	0,0	52	50,0	50,0	3	100,0	0,0
10	40	47,5	52,5	16	100,0	0,0	72	22,2	77,7	0	0,0	0,0
11	59	81,3	18,6	12	100,0	0,0	40	70,0	30,0	6	100,0	0,0
12	61	44,2	55,7	0	0,0	0,0	27	11,1	88,8	67	0,0	100,0
<b>MÉDIA</b>	<b>34,0</b>	<b>65,9</b>	<b>34,0</b>	<b>10,1</b>	<b>73,9</b>	<b>1,0</b>	<b>28,6</b>	<b>40,1</b>	<b>59,8</b>	<b>54,1</b>	<b>73,5</b>	<b>18,1</b>
<b>D.P.M.</b>	<b>18,5</b>	<b>29,1</b>	<b>29,1</b>	<b>9,6</b>	<b>44,7</b>	<b>3,6</b>	<b>20,4</b>	<b>33,2</b>	<b>33,2</b>	<b>76,0</b>	<b>44,6</b>	<b>38,5</b>
<b>E.P.M.</b>	<b>5,3</b>	<b>8,4</b>	<b>8,4</b>	<b>2,7</b>	<b>12,9</b>	<b>1,0</b>	<b>5,9</b>	<b>9,5</b>	<b>9,5</b>	<b>21,9</b>	<b>12,8</b>	<b>11,1</b>

### Ondansetron 0,3 nmol

SUJEITO	% ESTICADAS			% LEVANTAMENTOS			% MERGULHOS			% IMOBILIDADE		
	Total	Prot.	Desp.	Total	Prot.	Desp.	Total	Prot.	Desp.	Total	Prot.	Desp.
1	9	0,0	100,0	0	0,0	0,0	7	0,0	100,0	52	0,0	100,0
2	26	46,1	53,8	13	100,0	0,0	17	29,4	70,5	13	72,0	28,0
3	39	33,3	66,6	12	100,0	0,0	46	21,7	78,2	0	100,0	0,0
4	42	4,7	95,2	0	0,0	0,0	44	0,0	100,0	74	0,0	100,0
5	29	65,5	34,4	7	100,0	0,0	22	45,4	54,5	46	100,0	0,0
6	31	35,4	64,5	8	100,0	0,0	37	16,2	83,7	7	100,0	0,0
7	42	88,1	11,9	6	100,0	0,0	27	74,0	25,9	7	100,0	0,0
8	46	97,8	2,1	7	100,0	0,0	9	77,7	22,2	14	70,0	30,0
9	38	55,2	44,7	12	100,0	0,0	36	30,5	69,4	5	0,0	100,0
<b>MÉDIA</b>	<b>33,5</b>	<b>47,3</b>	<b>52,6</b>	<b>7,2</b>	<b>77,7</b>	<b>0,0</b>	<b>27,2</b>	<b>32,8</b>	<b>67,2</b>	<b>24,7</b>	<b>60,2</b>	<b>39,7</b>
<b>D.P.M.</b>	<b>11,3</b>	<b>33,5</b>	<b>33,5</b>	<b>4,8</b>	<b>44,1</b>	<b>0,0</b>	<b>14,4</b>	<b>28,4</b>	<b>28,4</b>	<b>26,0</b>	<b>46,6</b>	<b>46,6</b>
<b>E.P.M.</b>	<b>3,7</b>	<b>11,1</b>	<b>11,1</b>	<b>1,6</b>	<b>14,7</b>	<b>0,0</b>	<b>4,8</b>	<b>9,4</b>	<b>9,4</b>	<b>8,6</b>	<b>15,5</b>	<b>15,5</b>

### Ondansetron 1,0 nmol

SUJEITO	% ESTICADAS			% LEVANTAMENTOS			% MERGULHOS			% IMOBILIDADE		
	Total	Prot.	Desp.	Total	Prot.	Desp.	Total	Prot.	Desp.	Total	Prot.	Desp.
1	42	97,6	2,3	13	100,0	0,0	13	84,6	15,3	0,0	0,0	100,0
2	35	68,5	31,4	25	96,0	4,0	43	51,1	48,8	0,0	0,0	100,0
3	26	100,0	0,0	0	0,0	0,0	21	85,7	14,2	47,1	100,0	0,0
4	12	100,0	0,0	1	100,0	0,0	4	100,0	0,0	127,7	100,0	0,0
5	56	89,2	10,7	14	100,0	0,0	28	64,2	35,7	1,1	100,0	0,0
6	68	50,0	50,0	19	100,0	0,0	53	32,0	67,9	0,0	0,0	100,0
7	25	72,0	28,0	19	84,2	15,7	69	69,5	30,4	0,20	0,0	100,0
8	49	95,9	4,0	18	100,0	0,0	34	79,4	20,5	0,0	0,0	100,0
9	9	66,6	33,3	2	100,0	0,0	5	20,0	80,0	67,4	100,0	0,0
10	60	38,3	61,6	37	100,0	0,0	97	18,5	81,4	6,3	100,0	0,0
11	51	84,3	15,6	8	100,0	0,0	33	78,7	21,2	19,7	100,0	0,0
12	54	94,4	5,5	0	0,0	0,0	20	90,0	10,0	45,2	100,0	0,0
<b>MÉDIA</b>	<b>40,5</b>	<b>78,1</b>	<b>21,8</b>	<b>13,0</b>	<b>80,0</b>	<b>1,8</b>	<b>37,0</b>	<b>62,6</b>	<b>37,3</b>	<b>28,6</b>	<b>63,6</b>	<b>36,3</b>
<b>D.P.M.</b>	<b>19,1</b>	<b>20,8</b>	<b>20,8</b>	<b>12,0</b>	<b>39,8</b>	<b>4,7</b>	<b>27,7</b>	<b>28,4</b>	<b>28,4</b>	<b>40,6</b>	<b>50,4</b>	<b>50,4</b>
<b>E.P.M.</b>	<b>5,5</b>	<b>5,9</b>	<b>5,9</b>	<b>3,3</b>	<b>11,0</b>	<b>1,3</b>	<b>7,8</b>	<b>8,0</b>	<b>8,0</b>	<b>11,4</b>	<b>14,8</b>	<b>14,8</b>

### Ondansetron 3,0 nmol

SUJEITO	% ESTICADAS			% LEVANTAMENTOS			% MERGULHOS			% IMOBILIDADE		
	Total	Prot.	Desp.	Total	Prot.	Desp.	Total	Prot.	Desp.	Total	Prot.	Desp.
1	37	62,1	37,8	3	100,0	0,0	17	52,9	47,0	58	83,7	16,2
2	53	83,0	16,9	18	100,0	0,0	28	3,5	46,4	0	0,0	0,0
3	8	100,0	0,0	7	100,0	0,0	0	0,0	0,0	36	100,0	0,0
4	41	60,9	39,0	1	100,0	0,0	25	28,0	72,0	23	6,1	93,8
5	38	86,8	13,1	19	100,0	0,0	23	56,5	43,4	0	0,0	100,0
6	39	69,2	30,7	4	100,0	0,0	41	63,4	36,5	6	100,0	0,0
7	22	100,0	0,0	6	100,0	0,0	4	100,0	0,0	131	100,0	0,0
8	73	86,3	13,7	6	100,0	0,0	30	66,6	33,3	2	99,6	0,4
9	41	97,5	2,4	23	100,0	0,0	18	77,7	22,2	19	100,0	0,0
10	53	90,5	9,4	6	100,0	0,0	13	92,3	7,6	34	100,0	0,0
<b>MÉDIA</b>	<b>40,5</b>	<b>83,6</b>	<b>16,3</b>	<b>9,3</b>	<b>100,0</b>	<b>0,0</b>	<b>19,9</b>	<b>59,1</b>	<b>30,8</b>	<b>31,2</b>	<b>68,9</b>	<b>21,0</b>
<b>D.P.M.</b>	<b>17,6</b>	<b>14,8</b>	<b>14,8</b>	<b>7,6</b>	<b>0,0</b>	<b>0,0</b>	<b>12,2</b>	<b>29,3</b>	<b>23,3</b>	<b>39,9</b>	<b>46,4</b>	<b>40,3</b>
<b>E.P.M.</b>	<b>5,5</b>	<b>4,6</b>	<b>4,6</b>	<b>2,4</b>	<b>0,0</b>	<b>0,0</b>	<b>3,8</b>	<b>9,2</b>	<b>7,3</b>	<b>12,6</b>	<b>14,6</b>	<b>12,7</b>

**Quadro 3:** Registro das medidas convencionais em camundongos submetidos ao LCE após microinjeção intra-SCP de mCPBG (0, 40, 80 e 160 nmol/0,1µl).

**Controle**

SUJEITO	TE	EBA	EBF	TBA	TBF	TC	%EBA	%EBF	%TBA	%TBF	%TC
1	1	1	0	283	0	16	100,00	0,00	94,60	0,00	5,40
2	15	11	4	187	34	77	73,33	26,67	62,63	11,62	25,76
3	5	1	4	12	258	29	20,00	80,00	4,01	86,20	9,79
4	2	2	0	280	0	19	100,00	0,00	93,42	0,00	6,58
5	9	6	3	216	46	37	66,67	33,33	72,01	15,48	12,51
6	18	9	9	102	98	99	50,00	50,00	34,13	32,81	33,06
7	19	12	7	137	91	70	63,16	36,84	45,83	30,61	23,56
8	19	9	10	72	125	101	47,37	52,63	24,25	41,90	33,85
9	17	7	10	41	106	152	41,18	58,82	13,70	35,34	50,96
10	12	4	8	28	142	129	33,33	66,67	9,55	47,39	43,06
11	18	5	13	21	200	78	27,78	72,22	6,98	66,81	26,20
12	9	1	8	5	193	101	11,11	88,89	1,79	64,35	33,86
13	11	6	5	167	73	59	54,55	45,45	55,77	24,37	19,87
<b>MÉDIA</b>	<b>11,92</b>	<b>5,69</b>	<b>6,23</b>	<b>119,69</b>	<b>105,43</b>	<b>74,87</b>	<b>52,96</b>	<b>47,04</b>	<b>39,90</b>	<b>35,14</b>	<b>24,96</b>
<b>D.P.M.</b>	<b>6,41</b>	<b>3,82</b>	<b>3,96</b>	<b>100,26</b>	<b>78,47</b>	<b>42,10</b>	<b>27,64</b>	<b>27,64</b>	<b>33,42</b>	<b>26,16</b>	<b>14,03</b>
<b>E.P.M.</b>	<b>1,78</b>	<b>1,06</b>	<b>1,10</b>	<b>27,81</b>	<b>21,76</b>	<b>11,68</b>	<b>7,67</b>	<b>7,67</b>	<b>9,27</b>	<b>7,25</b>	<b>3,89</b>

**mCPBG 40 nmol**

SUJEITO	TE	EBA	EBF	TBA	TBF	TC	%EBA	%EBF	%TBA	%TBF	%TC
1	9	1	8	58	178	63	11,11	88,89	19,22	59,63	21,15
2	9	4	5	114	140	45	44,44	55,56	37,95	46,88	15,17
3	13	6	7	76	141	82	46,15	53,85	25,33	47,29	27,37
4	1	1	0	299	0	1	100,00	0,00	99,62	0,00	0,38
5	1	1	0	299	0	1	100,00	0,00	99,66	0,00	0,34
6	12	4	8	59	145	94	33,33	66,67	19,82	48,54	31,63
7	13	2	11	15	199	85	15,38	84,62	5,01	66,35	28,64
8	7	5	2	213	71	16	71,43	28,57	70,89	23,77	5,34
9	12	4	8	67	155	77	33,33	66,67	22,21	51,90	25,89
10	1	1	0	298	0	1	100,00	0,00	99,43	0,00	0,57
11	18	3	15	26	172	101	16,67	83,33	8,68	57,40	33,92
12	8	1	7	2	245	53	12,50	87,50	0,51	81,76	17,73
<b>MÉDIA</b>	<b>8,67</b>	<b>2,75</b>	<b>5,92</b>	<b>127,09</b>	<b>120,88</b>	<b>52,03</b>	<b>48,70</b>	<b>51,30</b>	<b>42,36</b>	<b>40,29</b>	<b>17,34</b>
<b>D.P.M.</b>	<b>5,45</b>	<b>1,82</b>	<b>4,72</b>	<b>116,79</b>	<b>83,41</b>	<b>38,39</b>	<b>35,38</b>	<b>35,38</b>	<b>38,93</b>	<b>27,80</b>	<b>12,80</b>
<b>E.P.M.</b>	<b>1,57</b>	<b>0,52</b>	<b>1,36</b>	<b>33,72</b>	<b>24,08</b>	<b>11,08</b>	<b>10,21</b>	<b>10,21</b>	<b>11,24</b>	<b>8,03</b>	<b>3,69</b>

**mCPBG 80 nmol**

SUJEITO	TE	EBA	EBF	TBA	TBF	TC	%EBA	%EBF	%TBA	%TBF	%TC
1	15	11	4	174	88	37	73,33	26,67	58,10	29,50	12,40
2	1	1	0	298	0	1	100,00	0,00	99,57	0,00	0,43
3	6	2	4	6	61	232	33,33	66,67	2,08	20,54	77,38
4	12	1	11	3	206	90	8,33	91,67	1,14	68,87	29,99
5	8	6	2	230	9	60	75,00	25,00	76,77	3,06	20,17
6	13	1	12	6	197	95	7,69	92,31	2,21	65,81	31,98
7	9	2	7	154	92	52	22,22	77,78	51,62	30,88	17,50
8	14	6	8	64	142	93	42,86	57,14	21,48	47,42	31,11
9	13	9	4	224	43	31	69,23	30,77	74,78	14,60	10,62
10	21	11	10	88	98	112	52,38	47,62	29,56	32,93	37,50
11	13	7	6	64	107	128	53,85	46,15	21,37	35,94	42,69
12	7	7	0	49	0	250	100,00	0,00	16,64	0,00	83,36
13	7	1	6	112	147	40	14,29	85,71	37,39	49,26	13,35
14	13	8	5	149	79	70	61,54	38,46	49,93	26,57	23,50
15	11	5	6	43	88	168	45,45	54,55	14,39	29,45	56,17
<b>MÉDIA</b>	<b>10,87</b>	<b>5,20</b>	<b>5,67</b>	<b>111,40</b>	<b>90,97</b>	<b>97,63</b>	<b>50,63</b>	<b>49,37</b>	<b>37,13</b>	<b>30,32</b>	<b>32,54</b>
<b>D.P.M.</b>	<b>4,72</b>	<b>3,67</b>	<b>3,60</b>	<b>91,18</b>	<b>64,02</b>	<b>71,87</b>	<b>30,01</b>	<b>30,01</b>	<b>30,39</b>	<b>21,34</b>	<b>23,96</b>
<b>E.P.M.</b>	<b>1,22</b>	<b>0,95</b>	<b>0,93</b>	<b>223,54</b>	<b>16,53</b>	<b>18,56</b>	<b>7,75</b>	<b>7,75</b>	<b>7,85</b>	<b>5,51</b>	<b>6,19</b>

**mCPBG 160 nmol**

SUJEITO	TE	EBA	EBF	TBA	TBF	TC	%EBA	%EBF	%TBA	%TBF	%TC
1	20	13	7	142	90	67	65,00	35,00	47,40	30,01	22,60
2	3	3	0	86	0	213	100,00	0,00	28,89	0,00	71,11
3	3	1	2	2	273	23	33,33	66,67	0,73	91,29	7,97
4	14	5	9	49	142	108	35,71	64,29	16,46	47,48	36,06
5	4	1	3	4	184	111	25,00	75,00	1,39	61,32	37,29
6	12	2	10	13	191	95	16,67	83,33	4,41	63,69	31,90
7	5	2	3	52	153	94	40,00	60,00	17,43	51,24	31,33
8	5	5	0	266	0	33	100,00	0,00	88,95	0,00	11,05
9	12	7	5	68	89	141	58,33	41,67	22,94	29,97	47,09
10	18	7	11	57	93	149	38,89	61,11	19,24	31,00	49,76
11	11	6	5	137	76	86	54,55	45,45	45,87	25,46	28,68
12	4	4	0	245	0	54	100,00	0,00	81,94	0,00	18,06
13	15	6	9	89	101	109	40,00	60,00	29,68	33,89	36,43
14	17	8	9	84	86	128	47,06	52,94	28,18	28,84	42,98
15	16	7	9	37	197	65	43,75	56,25	12,41	65,67	21,92
<b>MÉDIA</b>	<b>10,60</b>	<b>5,13</b>	<b>5,47</b>	<b>89,19</b>	<b>111,97</b>	<b>98,85</b>	<b>53,22</b>	<b>46,78</b>	<b>29,73</b>	<b>37,32</b>	<b>32,95</b>
<b>D.P.M.</b>	<b>6,06</b>	<b>3,18</b>	<b>3,94</b>	<b>79,68</b>	<b>79,51</b>	<b>48,48</b>	<b>27,06</b>	<b>27,06</b>	<b>26,56</b>	<b>26,50</b>	<b>16,16</b>
<b>E.P.M.</b>	<b>1,56</b>	<b>0,82</b>	<b>1,02</b>	<b>20,57</b>	<b>20,53</b>	<b>12,52</b>	<b>6,99</b>	<b>6,99</b>	<b>6,86</b>	<b>6,84</b>	<b>4,17</b>

**Quadro 4:** Registro das medidas etológicas em camundongos submetidos ao LCE após microinjeção intra-SCP de mCPBG (0, 40, 80 e 160 nmol/0,1µl).

**Controle**

SUJEITO	% ESTICADAS			% LEVANTAMENTOS			% MERGULHOS			% IMOBILIDADE		
	Total	Prot.	Desp.	Total	Prot.	Desp.	Total	Prot.	Desp.	Total	Prot.	Desp.
1	33	0,0	100,0	0	0,0	100,0	25	0,0	100,0	6	0,0	100,0
2	17	23,5	76,4	10	70,0	30,0	63	15,8	84,1	0	100,0	0,0
3	12	75,0	25,0	9	100,0	0,0	9	55,5	44,4	10	100,0	0,0
4	20	10,0	90,0	0	0,0	0,0	15	0,0	100,0	0	0,0	100,0
5	46	30,4	69,5	5	100,0	0,0	47	23,4	76,6	53	0,0	100,0
6	38	55,2	44,7	7	100,0	0,0	47	36,1	63,8	0	0,0	100,0
7	49	42,8	57,1	5	100,0	0,0	52	23,0	76,9	0	0,0	100,0
8	46	71,7	28,2	17	100,0	0,0	21	28,5	71,4	0	0,0	100,0
9	56	85,7	14,2	8	100,0	0,0	22	72,7	27,2	0	0,0	100,0
10	21	80,9	19,0	7	100,0	0,0	18	55,5	44,4	17	100,0	0,0
11	39	89,7	10,2	12	100,0	0,0	21	66,6	33,3	20	100,0	0,0
12	30	100,0	0,0	16	100,0	0,0	15	93,3	6,6	9	100,0	0,0
13	12	33,3	66,6	2	100,0	0,0	52	21,1	78,8	45	28,4	71,6
<b>MÉDIA</b>	<b>32,2</b>	<b>53,7</b>	<b>46,2</b>	<b>7,5</b>	<b>82,3</b>	<b>17,6</b>	<b>31,3</b>	<b>37,8</b>	<b>62,1</b>	<b>12,6</b>	<b>40,6</b>	<b>59,3</b>
<b>D.P.M.</b>	<b>14,8</b>	<b>32,6</b>	<b>32,6</b>	<b>5,3</b>	<b>37,4</b>	<b>37,4</b>	<b>18,0</b>	<b>28,7</b>	<b>28,7</b>	<b>17,8</b>	<b>49,4</b>	<b>49,4</b>
<b>E.P.M.</b>	<b>4,1</b>	<b>9,0</b>	<b>9,0</b>	<b>1,4</b>	<b>10,3</b>	<b>10,3</b>	<b>5,0</b>	<b>7,9</b>	<b>7,9</b>	<b>4,9</b>	<b>13,7</b>	<b>13,7</b>

**mCPBG 40 nmol**

SUJEITO	% ESTICADAS			% LEVANTAMENTOS			% MERGULHOS			% IMOBILIDADE		
	Total	Prot.	Desp.	Total	Prot.	Desp.	Total	Prot.	Desp.	Total	Prot.	Desp.
1	34	61,7	38,2	13	100,0	0,0	25	52,0	48,0	18	100,0	0,0
2	42	50,0	50,0	13	100,0	0,0	14	28,5	71,4	36	0,0	100,0
3	47	72,3	27,6	4	100,0	0,0	22	45,4	54,5	13	100,0	0,0
4	32	0,0	100,0	0	0,0	100,0	17	0,0	100,0	151	100,0	0,0
5	30	0,0	100,0	0	0,0	100,0	19	0,0	100,0	154	0,0	100,0
6	42	52,3	47,6	13	100,0	0,0	29	44,8	55,1	0	100,0	0,0
7	38	84,2	15,	8	100,0	0,0	15	66,6	33,3	16	0,0	100,0
8	51	17,6	82,3	10	100,0	0,0	35	11,4	88,5	52	0,0	100,0
9	51	62,7	37,2	14	100,0	0,0	16	43,7	56,2	10	0,0	100,0
10	19	0,0	100,0	0	0,0	100,0	13	0,0	100,0	174	0,0	100,0
11	45	80,0	20,0	11	100,0	0,0	17	52,9	47,0	1	100,0	0,0
12	30	100,0	0,0	16	100,0	0,0	15	93,3	6,6	46	91,1	8,8
<b>MÉDIA</b>	<b>38,4</b>	<b>48,4</b>	<b>51,5</b>	<b>8,5</b>	<b>75,0</b>	<b>25,0</b>	<b>19,7</b>	<b>36,5</b>	<b>63,4</b>	<b>56,4</b>	<b>49,2</b>	<b>50,7</b>
<b>D.P.M.</b>	<b>9,7</b>	<b>35,5</b>	<b>35,5</b>	<b>5,9</b>	<b>45,2</b>	<b>45,2</b>	<b>6,7</b>	<b>29,4</b>	<b>29,4</b>	<b>64,8</b>	<b>51,5</b>	<b>51,5</b>
<b>E.P.M.</b>	<b>2,8</b>	<b>10,2</b>	<b>10,2</b>	<b>1,7</b>	<b>13,0</b>	<b>13,0</b>	<b>1,9</b>	<b>8,5</b>	<b>8,5</b>	<b>18,7</b>	<b>14,8</b>	<b>14,8</b>

### mCPBG 80 nmol

SUJEITO	% ESTICADAS			% LEVANTAMENTOS			% MERGULHOS			% IMOBILIDADE		
	Total	Prot.	Desp.	Total	Prot.	Desp.	Total	Prot.	Desp.	Total	Prot.	Desp.
1	35	28,5	71,4	9	88,8	11,1	56	12,5	87,5	1	100,0	0,0
2	55	0,0	100,0	0	0,0	100,0	17	0,0	100,0	45	0,0	100,0
3	29	93,1	6,9	4	100,0	0,0	16	87,5	12,5	40	100,0	0,0
4	35	97,1	2,8	16	100,0	0,0	15	100,0	0,0	26	100,0	0,0
5	30	23,3	76,6	2	100,0	0,0	43	23,2	76,7	70	0,0	100,00
6	30	90,0	10,0	12	100,0	0,0	13	92,3	7,6	1	100,0	0,0
7	34	44,1	55,8	9	100,0	0,0	33	33,3	66,6	25	0,0	100,0
8	40	57,5	42,5	15	100,0	0,0	30	46,6	53,3	0	0,0	100,0
9	34	11,7	88,2	3	100,0	0,0	27	0,0	100,0	51	0,0	100,0
10	52	59,6	40,3	15	93,3	6,6	24	41,6	58,3	0	0,0	100,0
11	45	68,8	31,1	10	100,0	0,0	21	57,1	42,8	3	100,0	0,0
12	28	82,1	17,8	0	0,0	100,0	18	61,1	38,8	44	91,1	8,8
13	45	55,5	44,4	15	100,0	0,0	29	27,5	72,4	30	15,9	84,0
14	25	48,0	52,0	9	100,0	0,0	49	16,3	83,6	3	0,0	100,0
15	31	74,1	25,8	8	100,0	0,0	19	63,1	36,8	3	100,0	0,0
<b>MÉDIA</b>	<b>36,5</b>	<b>55,6</b>	<b>44,4</b>	<b>8,4</b>	<b>85,4</b>	<b>14,5</b>	<b>27,3</b>	<b>44,1</b>	<b>55,8</b>	<b>22,7</b>	<b>47,1</b>	<b>52,8</b>
<b>D.P.M.</b>	<b>8,9</b>	<b>29,9</b>	<b>29,9</b>	<b>5,5</b>	<b>34,8</b>	<b>34,8</b>	<b>13,0</b>	<b>32,3</b>	<b>32,3</b>	<b>23,1</b>	<b>50,1</b>	<b>50,1</b>
<b>E.P.M.</b>	<b>2,3</b>	<b>7,7</b>	<b>7,7</b>	<b>1,4</b>	<b>9,0</b>	<b>9,0</b>	<b>3,3</b>	<b>8,3</b>	<b>8,3</b>	<b>5,9</b>	<b>12,9</b>	<b>12,9</b>

### mCPBG 160 nmol

SUJEITO	% ESTICADAS			% LEVANTAMENTOS			% MERGULHOS			% IMOBILIDADE		
	Total	Prot.	Desp.	Total	Prot.	Desp.	Total	Prot.	Desp.	Total	Prot.	Desp.
1	14	28,5	71,4	26	88,4	11,5	37	24,3	75,6	0	0,0	100,0
2	24	54,1	45,8	0	0,0	100,0	23	21,7	78,2	87	86,6	13,3
3	13	100,0	0,0	2	100,0	0,0	1	100,0	0,0	26	100,0	0,0
4	21	71,4	28,5	20	100,0	0,0	21	42,8	57,1	0	0,0	100,0
5	37	97,3	2,7	2	100,0	0,0	13	92,3	7,6	28	100,0	0,0
6	41	85,3	14,6	7	100,0	0,0	20	80,0	20,0	0	0,0	100,0
7	31	83,8	16,1	3	100,0	0,0	25	52,0	48,0	102	88,3	11,6
8	37	16,2	83,7	0	0,0	100,0	45	15,5	84,4	23	0,0	100,0
9	24	83,3	16,6	7	57,1	42,8	29	51,7	48,2	44	100,0	0,0
10	46	71,7	28,2	7	100,0	0,0	39	51,2	48,7	1	100,0	0,0
11	32	50,0	50,0	5	100,0	0,0	32	31,2	68,7	11	0,0	100,0
12	12	16,6	83,3	1	0,0	100,0	28	14,2	85,7	69	0,0	100,0
13	38	68,4	31,5	13	100,0	0,0	44	47,3	52,2	2	100,0	0,0
14	30	66,6	33,3	8	100,0	0,0	51	47,0	52,9	0	0,0	100,0
15	17	70,5	29,4	10	100,0	0,0	18	33,3	66,6	94	100,0	0,0
<b>MÉDIA</b>	<b>27,8</b>	<b>64,2</b>	<b>35,7</b>	<b>7,4</b>	<b>76,3</b>	<b>23,6</b>	<b>28,4</b>	<b>47,0</b>	<b>52,9</b>	<b>32,4</b>	<b>51,6</b>	<b>48,3</b>
<b>D.P.M.</b>	<b>10,9</b>	<b>26,5</b>	<b>26,5</b>	<b>7,4</b>	<b>41,0</b>	<b>41,0</b>	<b>13,3</b>	<b>26,3</b>	<b>26,3</b>	<b>37,6</b>	<b>50,1</b>	<b>50,1</b>
<b>E.P.M.</b>	<b>2,8</b>	<b>6,8</b>	<b>6,8</b>	<b>1,9</b>	<b>10,6</b>	<b>10,6</b>	<b>3,4</b>	<b>6,7</b>	<b>6,7</b>	<b>9,7</b>	<b>12,9</b>	<b>12,9</b>

**Quadro 5:** Registro das medidas convencionais em camundongos submetidos ao LCE após injeção combinada de ondansetron (1,0 nmol/0,1µl) e mCPP (0,03 nmol/0,1µl) na SCP.

**Controle (V+V)**

SUJEITO	TE	EBA	EBF	TBA	TBF	TC	%EBA	%EBF	%TBA	%TBF	%TC
1	9	7	2	179	13	107	77,78	22,22	59,88	4,42	35,69
2	10	4	6	57	77	165	40,00	60,00	19,12	25,88	55,01
3	10	5	5	110	114	74	50,00	50,00	36,89	38,26	24,85
4	5	3	2	43	19	237	60,00	40,00	14,38	6,61	79,01
5	13	5	8	51	113	135	38,46	61,54	17,16	37,72	45,12
6	9	5	4	140	76	83	55,56	44,44	46,96	25,32	27,72
7	11	6	5	177	70	52	54,55	45,45	59,25	23,38	17,37
8	17	7	10	92	113	94	41,18	58,82	30,97	37,67	31,36
9	5	0	5	0	148	151	0,00	100,00	0,00	49,48	50,52
10	15	7	8	111	148	39	46,67	53,33	37,28	49,45	13,27
11	8	4	4	47	167	85	50,00	50,00	15,72	55,66	28,62
12	9	0	9	0	198	102	0,00	100,00	0,00	66,02	33,98
<b>MÉDIA</b>	<b>10,08</b>	<b>4,42</b>	<b>5,67</b>	<b>84,40</b>	<b>104,96</b>	<b>110,63</b>	<b>42,85</b>	<b>57,15</b>	<b>28,13</b>	<b>34,99</b>	<b>36,88</b>
<b>D.P.M.</b>	<b>3,58</b>	<b>2,43</b>	<b>2,60</b>	<b>61,53</b>	<b>56,38</b>	<b>54,52</b>	<b>22,63</b>	<b>22,63</b>	<b>20,51</b>	<b>18,79</b>	<b>18,17</b>
<b>E.P.M.</b>	<b>1,03</b>	<b>0,70</b>	<b>0,75</b>	<b>17,76</b>	<b>16,27</b>	<b>15,73</b>	<b>6,53</b>	<b>6,53</b>	<b>5,92</b>	<b>5,43</b>	<b>5,25</b>

**Veículo + mCPP (V+mCPP)**

SUJEITO	TE	EBA	EBF	TBA	TBF	TC	%EBA	%EBF	%TBA	%TBF	%TC
1	1	1	0	298	0	1	100,00	0,00	99,59	0,00	0,41
2	6	2	4	29	30	240	33,33	66,67	9,76	10,02	80,22
3	22	14	8	153	66	79	63,64	36,36	51,16	22,21	26,64
4	15	7	8	128	153	55	46,67	53,33	42,77	38,62	18,61
5	5	5	0	257	0	42	100,00	0,00	85,78	0,00	14,22
6	19	9	10	55	132	112	47,37	52,63	18,43	44,20	37,36
7	1	1	0	299	0	1	100,00	0,00	99,67	0,00	0,33
8	3	3	0	294	0	5	100,00	0,00	98,23	0,00	1,77
9	1	1	0	298	0	1	100,00	0,00	99,64	0,00	0,36
10	21	12	9	129	73	97	57,14	42,86	42,99	24,40	32,61
11	9	6	3	123	92	84	66,67	33,33	41,02	30,75	28,23
12	25	14	11	140	103	55	56,00	44,00	46,77	34,63	18,60
<b>MÉDIA</b>	<b>10,67</b>	<b>6,25</b>	<b>4,42</b>	<b>183,95</b>	<b>51,21</b>	<b>64,84</b>	<b>72,57</b>	<b>27,43</b>	<b>61,32</b>	<b>17,07</b>	<b>21,61</b>
<b>D.P.M.</b>	<b>9,17</b>	<b>4,99</b>	<b>4,48</b>	<b>100,19</b>	<b>51,82</b>	<b>68,25</b>	<b>25,65</b>	<b>25,65</b>	<b>33,40</b>	<b>17,27</b>	<b>22,75</b>
<b>E.P.M.</b>	<b>2,65</b>	<b>1,44</b>	<b>1,29</b>	<b>28,92</b>	<b>14,96</b>	<b>19,70</b>	<b>7,40</b>	<b>7,40</b>	<b>9,64</b>	<b>4,99</b>	<b>6,57</b>

### Ondansetron + Veículo (OND+V)

SUJEITO	TE	EBA	EBF	TBA	TBF	TC	%EBA	%EBF	%TBA	%TBF	%TC
1	7	3	4	210	51	38	42,86	57,14	70,08	17,24	12,68
2	15	4	11	34	153	112	26,67	73,33	11,46	51,16	37,39
3	11	2	9	78	107	114	18,18	81,82	26,07	35,93	38,00
4	3	1	2	24	249	25	33,33	66,67	8,31	83,15	8,54
5	8	1	7	11	202	86	12,50	87,50	3,75	67,34	28,91
6	15	9	6	98	108	92	60,00	40,00	32,80	36,29	30,92
7	11	4	7	64	139	96	36,36	63,64	21,36	46,54	32,10
8	4	3	1	266	26	7	75,00	25,00	88,81	8,73	2,46
9	7	2	5	1	181	116	28,57	71,43	0,63	60,57	38,80
10	3	0	3	0	158	141	0,00	100,00	0,00	52,78	47,22
11	9	4	5	45	192	62	44,44	55,56	15,06	64,22	20,72
12	25	16	9	140	95	63	64,00	36,00	46,97	31,93	21,09
<b>MÉDIA</b>	<b>9,83</b>	<b>4,18</b>	<b>5,91</b>	<b>69,60</b>	<b>146,90</b>	<b>83,50</b>	<b>36,28</b>	<b>63,72</b>	<b>23,20</b>	<b>48,97</b>	<b>27,83</b>
<b>D.P.M.</b>	<b>4,27</b>	<b>2,41</b>	<b>2,98</b>	<b>87,00</b>	<b>65,97</b>	<b>42,52</b>	<b>21,22</b>	<b>21,22</b>	<b>29,00</b>	<b>21,99</b>	<b>14,17</b>
<b>E.P.M.</b>	<b>1,81</b>	<b>1,27</b>	<b>0,87</b>	<b>24,55</b>	<b>18,58</b>	<b>11,80</b>	<b>6,34</b>	<b>6,34</b>	<b>8,18</b>	<b>6,19</b>	<b>3,93</b>

### Ondansetron + mCPP (OND+mCPP)

SUJEITO	TE	EBA	EBF	TBA	TBF	TC	%EBA	%EBF	%TBA	%TBF	%TC
1	4	1	3	14	242	42	25,00	75,00	4,93	80,86	14,21
2	18	5	13	27	180	91	27,78	72,22	9,17	60,22	30,61
3	16	4	12	63	149	87	25,00	75,00	21,15	49,66	29,19
4	7	4	3	87	191	21	57,14	42,86	29,10	63,72	7,18
5	14	6	8	95	102	101	42,9	57,14	31,98	34,29	33,73
6	11	1	10	4	240	55	9,09	90,91	1,41	80,28	18,32
7	9	3	6	92	152	55	33,33	66,67	30,83	50,80	18,37
8	16	4	12	67	140	92	25,00	75,00	22,43	46,80	30,77
9	10	3	7	44	197	57	30,00	70,00	14,78	65,91	19,31
<b>MÉDIA</b>	<b>11,67</b>	<b>3,41</b>	<b>8,22</b>	<b>55,25</b>	<b>177,51</b>	<b>67,24</b>	<b>30,58</b>	<b>69,42</b>	<b>18,42</b>	<b>59,17</b>	<b>22,41</b>
<b>D.P.M.</b>	<b>4,66</b>	<b>1,67</b>	<b>3,80</b>	<b>34,30</b>	<b>46,42</b>	<b>27,11</b>	<b>13,36</b>	<b>13,36</b>	<b>11,43</b>	<b>15,47</b>	<b>9,04</b>
<b>E.P.M.</b>	<b>1,55</b>	<b>0,56</b>	<b>1,27</b>	<b>11,43</b>	<b>15,47</b>	<b>9,04</b>	<b>4,45</b>	<b>4,45</b>	<b>3,81</b>	<b>5,16</b>	<b>3,01</b>

**Quadro 6:** Registro das medidas etológicas em camundongos submetidos ao LCE após injeção combinada de ondansetron (1,0 nmol/0,1µl) e mCPP (0,03 nmol/0,1µl) na SCP.

**Controle (V+V)**

SUJEITO	% ESTICADAS			% LEVANTAMENTOS			% MERGULHOS			% IMOBILIDADE		
	Total	Prot.	Desp.	Total	Prot.	Desp.	Total	Prot.	Desp.	Total	Prot.	Desp.
1	26	38,4	61,5	6	50,0	50,0	37	16,2	83,7	54	3,8	96,1
2	29	72,4	27,5	4	100,0	0,0	30	43,3	56,6	32	100,0	0,0
3	44	50,0	50,0	9	100,0	0,0	100	22,2	77,7	25	82,3	17,6
4	32	90,6	9,3	5	100,0	0,0	17	94,1	5,8	85	77,9	22,0
5	30	73,3	26,6	20	100,0	0,0	25	56,0	44,0	5	100,0	0,0
6	24	25,0	75,0	6	83,3	16,6	23	0,0	100,0	39	59,2	40,7
7	29	44,8	55,1	5	100,0	0,0	24	16,6	83,3	39	1,0	98,9
8	45	64,4	35,5	16	100,0	0,0	16	18,7	81,2	0	0,0	100,0
9	27	100,0	0,0	3	100,0	0,0	16	100,0	0,0	11	100,0	0,0
10	23	26,0	73,9	13	100,0	0,0	40	15,0	85,0	0	0,0	100,0
11	32	59,3	40,6	3	100,0	0,0	18	55,5	44,4	24	100,0	0,0
12	30	100,0	0,0	20	100,0	0,0	27	100,0	0,0	22	100,0	0,0
<b>MÉDIA</b>	<b>30,9</b>	<b>62,0</b>	<b>37,9</b>	<b>9,1</b>	<b>94,4</b>	<b>5,5</b>	<b>31,0</b>	<b>44,8</b>	<b>55,1</b>	<b>28,3</b>	<b>60,3</b>	<b>39,6</b>
<b>D.P.M.</b>	<b>6,9</b>	<b>26,3</b>	<b>26,3</b>	<b>6,4</b>	<b>14,7</b>	<b>14,7</b>	<b>23,0</b>	<b>36,2</b>	<b>36,2</b>	<b>24,7</b>	<b>45,3</b>	<b>45,3</b>
<b>E.P.M.</b>	<b>2,0</b>	<b>7,5</b>	<b>7,5</b>	<b>1,8</b>	<b>4,2</b>	<b>4,2</b>	<b>6,6</b>	<b>10,4</b>	<b>10,4</b>	<b>7,1</b>	<b>13,1</b>	<b>13,1</b>

**Veículo + mCPP (V+mCPP)**

SUJEITO	% ESTICADAS			% LEVANTAMENTOS			% MERGULHOS			% IMOBILIDADE		
	Total	Prot.	Desp.	Total	Prot.	Desp.	Total	Prot.	Desp.	Total	Prot.	Desp.
1	21	0,0	100,0	0	100,0	0,0	19	0,0	100,0	212	0,4	99,5
2	41	75,6	24,3	0	100,0	0,0	27	55,5	44,4	95	0,0	99,9
3	36	36,1	63,8	11	100,0	0,0	54	5,5	94,4	0	0,0	100,0
4	34	29,4	70,5	22	100,0	0,0	41	19,5	80,5	0	0,0	100,0
5	30	36,6	63,3	0	100,0	0,0	15	13,3	86,6	69	1,3	98,6
6	24	79,1	20,8	16	100,0	0,0	28	25,0	75,0	10	9,1	90,8
7	19	0,0	100,0	0	100,0	0,0	23	0,0	100,0	176	0,5	99,4
8	25	8,0	92,0	0	100,0	0,0	36	2,7	97,2	56	1,7	98,2
9	24	0,0	100,0	0	100,0	0,0	45	0,0	100,0	115	0,8	99,1
10	30	46,6	53,3	10	100,0	0,0	79	25,3	74,7	2	61,5	38,4
11	55	41,8	58,1	3	100,0	0,0	61	22,9	77,0	3	27,7	72,3
12	26	34,6	65,3	13	100,0	0,0	65	6,1	93,8	1	100,0	0,0
<b>MÉDIA</b>	<b>30,4</b>	<b>32,3</b>	<b>67,6</b>	<b>6,2</b>	<b>100,0</b>	<b>0,0</b>	<b>41,0</b>	<b>14,6</b>	<b>85,3</b>	<b>61,5</b>	<b>16,9</b>	<b>82,0</b>
<b>D.P.M.</b>	<b>10,0</b>	<b>27,2</b>	<b>27,2</b>	<b>7,8</b>	<b>0,0</b>	<b>0,0</b>	<b>20,1</b>	<b>16,3</b>	<b>16,3</b>	<b>74,2</b>	<b>31,9</b>	<b>31,9</b>
<b>E.P.M.</b>	<b>2,9</b>	<b>7,8</b>	<b>7,8</b>	<b>2,2</b>	<b>0,0</b>	<b>0,0</b>	<b>5,8</b>	<b>4,7</b>	<b>4,7</b>	<b>21,4</b>	<b>9,2</b>	<b>9,2</b>

### Ondansetron + Veículo (OND+V)

SUJEITO	% ESTICADAS			% LEVANTAMENTOS			% MERGULHOS			% IMOBILIDADE		
	Total	Prot.	Desp.	Total	Prot.	Desp.	Total	Prot.	Desp.	Total	Prot.	Desp.
1	41	41,4	58,5	6	100,0	0,0	41	24,4	75,6	120	100,0	0,0
2	51	74,5	25,5	24	100,0	0,0	17	29,4	70,6	22	100,0	0,0
3	13	69,2	30,7	11	100,0	0,0	12	25,0	75,0	4	18,09	81,9
4	36	36,1	63,8	11	100,0	0,0	54	5,5	94,5	120	100,0	0,0
5	20	95,0	5,0	14	100,0	0,0	7	57,1	42,9	22	100,0	0,0
6	30	46,6	53,3	12	100,0	0,0	31	35,5	54,5	0	0,0	100,0
7	31	54,8	45,1	22	100,0	0,0	33	33,3	66,7	17	100,0	0,0
8	11	27,3	72,7	3	100,0	0,0	14	14,3	85,7	157	1,6	98,4
9	48	97,9	2,1	3	100,0	0,0	22	95,4	4,5	25	100,0	0,0
10	43	100,0	0,0	8	100,0	0,0	13	100,0	0,0	34	100,0	0,0
11	18	77,7	22,2	17	100,0	0,0	33	57,6	42,4	40	100,0	0,0
12	19	73,7	26,3	9	100,0	0,0	80	23,7	76,2	0	100,0	0,0
<b>MÉDIA</b>	<b>30,0</b>	<b>66,2</b>	<b>33,7</b>	<b>11,6</b>	<b>100,0</b>	<b>0,0</b>	<b>29,7</b>	<b>41,7</b>	<b>58,2</b>	<b>47,1</b>	<b>76,6</b>	<b>23,3</b>
<b>D.P.M.</b>	<b>13,8</b>	<b>24,8</b>	<b>24,8</b>	<b>6,7</b>	<b>0,0</b>	<b>0,0</b>	<b>20,9</b>	<b>30,1</b>	<b>30,1</b>	<b>53,7</b>	<b>42,4</b>	<b>42,4</b>
<b>E.P.M.</b>	<b>4,0</b>	<b>7,1</b>	<b>7,1</b>	<b>1,9</b>	<b>0,0</b>	<b>0,0</b>	<b>6,0</b>	<b>8,7</b>	<b>8,7</b>	<b>15,5</b>	<b>12,2</b>	<b>12,2</b>

### Ondansetron + mCPP (OND+mCPP)

SUJEITO	% ESTICADAS			% LEVANTAMENTOS			% MERGULHOS			% IMOBILIDADE		
	Total	Prot.	Desp.	Total	Prot.	Desp.	Total	Prot.	Desp.	Total	Prot.	Desp.
1	14	71,4	28,6	12	100,0	0,0	13	53,8	46,2	93	100,0	0,0
2	32	78,1	21,9	14	100,0	0,0	17	52,9	47,1	0	0,0	100,0
3	40	62,5	37,5	10	100,0	0,0	29	51,7	48,3	0	0,0	100,0
4	36	33,3	66,7	7	100,0	0,0	22	9,1	90,9	124	86,0	13,9
5	32	68,7	31,2	12	100,0	0,0	33	30,3	69,7	0	0,0	100,0
6	30	100,0	0,0	21	100,0	0,0	15	93,3	6,7	0	0,0	100,0
7	33	72,7	27,3	6	100,0	0,0	51	35,3	64,7	46	69,6	30,3
8	63	66,7	33,3	13	100,0	0,0	44	65,9	34,1	0	0,0	100,0
9	18	77,8	22,2	13	100,0	0,0	31	29,1	70,9	23	100,0	0,0
<b>MÉDIA</b>	<b>33,1</b>	<b>70,1</b>	<b>29,8</b>	<b>12,0</b>	<b>100,0</b>	<b>0,0</b>	<b>88,3</b>	<b>46,8</b>	<b>53,1</b>	<b>31,8</b>	<b>39,5</b>	<b>60,4</b>
<b>D.P.M.</b>	<b>13,9</b>	<b>17,5</b>	<b>17,5</b>	<b>4,3</b>	<b>0,0</b>	<b>0,0</b>	<b>13,1</b>	<b>24,4</b>	<b>24,4</b>	<b>47,0</b>	<b>47,6</b>	<b>47,6</b>
<b>E.P.M.</b>	<b>4,6</b>	<b>5,8</b>	<b>5,8</b>	<b>1,4</b>	<b>0,0</b>	<b>0,0</b>	<b>4,4</b>	<b>8,1</b>	<b>8,1</b>	<b>15,7</b>	<b>15,9</b>	<b>15,9</b>