

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

**AVALIAÇÃO DO PAPEL DOS RECEPTORES 5-HT<sub>2</sub> DA SUBSTÂNCIA  
CINZENTA PERIAQUEDUTAL DE CAMUNDONGOS SUBMETIDOS AO  
LABIRINTO EM CRUZ ELEVADO**

**Vanessa Nunes de Souza**

**São Carlos, SP  
2008**

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

**AVALIAÇÃO DO PAPEL DOS RECEPTORES 5-HT<sub>2</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  
2008**

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

S729ap

Souza, Vanessa Nunes de.

Avaliação do papel dos receptores 5-ht<sub>2</sub> da substância cinzenta periaquedutal de camundongos submetidos ao labirinto em cruz elevado / Vanessa Nunes de Souza. -- São Carlos : UFSCar, 2008.  
72 f.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal de São Carlos, 2008.

1. Psicofarmacologia. 2. Ansiedade. 3. Labirinto em cruz elevado. 4. Camundongo. 5. Receptores 5-ht<sub>2</sub>. 6. Substância cinzenta periaquedutal. I. Título.

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

Universidade Federal de São Carlos  
Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas

Defesa de Dissertação de Vanessa Nunes de Souza

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*

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

*Cleopatra da Silva Planeta*

*Dedico este trabalho aos meus pais  
Aparecido e Marilena pelo apoio e  
incentivo em todos os momentos da  
minha vida, alegres ou difíceis. A  
vocês, minha gratidão por tudo que  
fizeram e fazem por mim.*

## AGRADECIMENTOS

À Deus;

À professora Azair, pela orientação, pelo acolhimento, confiança, incentivo e crença em mim e na realização do trabalho;

Ao professor Ricardo, pela colaboração neste trabalho, sempre presente e com valiosas sugestões;

À banca examinadora, 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 Cilene, Ila, Letícia, Fernando, Gabriel, Daniela, Luana, Kelly, Marcos, Polianna, Paula, Luciana, sempre presentes nos momentos bons ou difíceis;

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

Aos meus pais, pelo apoio *incondicional* em todas as escolhas da minha vida;

À Selma e Alexandre pela competência profissional na secretaria do Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas;

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas;

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior-CAPES, pela bolsa concedida durante a realização deste estudo.

## SUMÁRIO

<b>1. RESUMO</b>	<b>10</b>
<b>2. ABSTRACT</b>	<b>12</b>
<b>3. INTRODUÇÃO</b>	<b>13</b>
<b>3.1 Ansiedade</b>	<b>13</b>
<b>3.2 Reações de Defesa</b>	<b>17</b>
<b>3.3 Substância Cinzenta Periaquedutal</b>	<b>20</b>
<b>3.4 Serotonina e Ansiedade</b>	<b>21</b>
<b>3.5 Modelo Animal de Ansiedade: Labirinto em Cruz Elevado</b>	<b>22</b>
<b>3.6 Evidências Clínicas e Experimentais</b>	<b>23</b>
<b>4. OBJETIVO</b>	<b>26</b>
<b>5. MATERIAL E MÉTODOS</b>	<b>27</b>
<b>5.1 Sujeitos</b>	<b>27</b>
<b>5.2 Drogas</b>	<b>27</b>
<b>5.3 Cirurgia e injeção de drogas</b>	<b>27</b>
<b>5.4 Equipamentos e Procedimento</b>	<b>28</b>
<b>5.4.1 Experimento 1: Injeção intra-SCP de mCPP</b>	<b>29</b>
<b>5.4.2 Experimento 2: Injeção intra-SCP de cetanserina</b>	<b>29</b>
<b>5.4.3 Experimento 3: Injeção combinada de cetanserina e mCPP</b>	<b>29</b>
<b>5.5 Análise Comportamental</b>	<b>30</b>
<b>5.6 Histologia</b>	<b>31</b>
<b>5.7 Análise Estatística</b>	<b>31</b>
<b>5.8 Ética</b>	<b>31</b>
<b>6. RESULTADOS</b>	<b>32</b>
<b>6.1 Experimento 1: Injeção intra-SCP de mCPP</b>	<b>33</b>
<b>6.2 Experimento 2: Injeção intra-SCP de cetanserina</b>	<b>35</b>
<b>6.3 Experimento 3: Injeção combinada de cetanserina e mCPP</b>	<b>37</b>
<b>7. DISCUSSÃO</b>	<b>42</b>
<b>8. CONCLUSÃO</b>	<b>48</b>
<b>9. REFERÊNCIAS</b>	<b>49</b>
<b>10. APÊNCICE</b>	<b>63</b>

## ABREVIACOES

**5-HT** – 5 hidroxitriptamina, serotonina  
**%EBA** – porcentagem de entradas nos braços abertos  
**%EBF** – porcentagem de entradas nos braços fechados  
**%TBA** – porcentagem de tempo gasto nos braços abertos  
**%TBF** – porcentagem de tempo gasto nos braços fechados  
**%TC** – porcentagem de tempo gasto no centro do labirinto  
**BAs** – braços Abertos  
**BFs** – braços fechados  
**C+mCPP** – cetanserina + mCPP  
**C+V** – cetanserina + veículo  
**Des.** - desprotegido  
**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  
**Prot** – protegido  
**SCP** – substância cinzenta periaquedutal  
**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:** Labirinto em cruz elevado 29
- Figura 2:** Representação esquemática dos sítios de microinjeção na SCP de camundongos. O número de pontos é inferior ao número total de animais devido à sobreposição. 32
- Figura 3:** Efeito do mCPP (0, 0,03, 0,1 e 0,3 nmol/0,1µl) injetado 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= 9-13) 34  
\* $P < 0,05$ , comparado ao grupo controle. (ANOVA de uma via seguida do teste de Duncan).
- Figura 4:** Ausência de efeitos da cetanserina (0 e 10 nmol/0,1µl) injetada 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= 9-10). 36
- Figura 5:** Efeito da injeção combinada de cetanserina (0 e 10 nmol/0,1µl) e mCPP (0 e 0,03 nmol/0,1µl) 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= 11-13) 39  
\*  $P < 0,05$  , comparado ao grupo controle (V+V) (ANOVA de duas vias seguida do teste de Duncan).  
#  $P < 0,05$  , comparado ao grupo (V+mCPP) (ANOVA de duas vias seguida do teste de Duncan).

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1:</b> Manifestações psíquicas da ansiedade	<b>14</b>
<b>Tabela 2:</b> Manifestações somáticas da ansiedade	<b>15</b>
<b>Tabela 3:</b> Transtornos de ansiedade segundo classificação do DSM-IV	<b>16</b>
<b>Tabela 4:</b> Efeito do mCPP (0, 0,03, 0,1 e 0,3 nmol/0,1µl) injetado na SCP de camundongos avaliados no LCE.	<b>35</b>
<b>Tabela 5:</b> Ausência de efeitos da cetanserina (0 e 10 nmol/0,1µl) injetada na SCP de camundongos expostos ao LCE.	<b>37</b>
<b>Tabela 6:</b> Efeito da injeção combinada de cetanserina (0 e 10 nmol/0,1µl) e mCPP (0 e 0,03 nmol/0,1µl) na SCP de camundongos avaliados no LCE.	<b>41</b>

## 1. RESUMO

Tem sido amplamente reconhecido que a serotonina (5-HT) desempenha um papel dual na regulação da ansiedade, papel este que depende, em parte, do sítio neuroanatômico de ação. 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 substância cinzenta periaquedutal (SCP) mesencefálica freqüentemente tende a diminuir comportamentos relacionados à ansiedade. O presente estudo enfoca especificamente a influência dos receptores 5-HT<sub>2</sub> da substância cinzenta periaquedutal na modulação da ansiedade em camundongos. O experimento 1 avaliou os efeitos de injeções intra-SCP de mCPP (0, 0,03, 0,01 e 0,3 nmol/0,1 µl), um agonista dos receptores 5-HT<sub>2B/2C</sub>, sobre o comportamento de camundongos expostos ao Labirinto em Cruz Elevado (LCE). O experimento 2 avaliou os efeitos de injeções intra-SCP do antagonista dos receptores 5-HT<sub>2A/2C</sub>, cetanserina (0 e 10 nmol/0,1 µl), sobre o comportamento de camundongos submetidos ao LCE. Como o mCPP atua preferencialmente sobre os receptores 5-HT<sub>2B</sub> e 5-HT<sub>2C</sub>, o experimento 3 investigou seu efeito em animais pré-tratados com cetanserina. Os testes foram gravados e subseqüentemente registrados para análise dos índices de ansiedade (porcentagem de entradas e porcentagem de tempo gasto nos braços abertos) assim como de atividade locomotora (entradas nos braços fechados). Os resultados do experimento 1 mostram que micromicroinjeções de mCPP (0,03 e 0,1 nmol) na SCP de camundongos diminuíram índices comportamentais de ansiedade sem alterar significativamente medidas de atividade locomotora geral. Dados do experimento 2 mostram que a cetanserina (10 nmol) não alterou os índices convencionais de ansiedade, nem a atividade locomotora dos animais. O experimento 3 demonstra que o perfil ansiolítico do mCPP (0,03 nmol) injetado na SCP foi substancialmente atenuado pelo pré-tratamento intra-SCP de uma dose intrinsecamente inativa do antagonista preferencial dos receptores 5-

HT<sub>2A/2C</sub>, cetanserina (10 nmol). Juntos estes dados sugerem que os receptores 5-HT<sub>2C</sub> da SCP desempenham um papel inibitório na ansiedade de camundongos submetidos ao LCE.

## 2.ABSTRACT

It is widely acknowledged that the indoleamine neurotransmitter serotonin (5-HT) plays a dual role in the regulation of anxiety, a role that in part depends upon neuroanatomical locus of action. Thus, whereas stimulation of 5-HT<sub>1A</sub> or 5-HT<sub>2</sub> receptors in the limbic forebrain (amygdala, hippocampus) enhances anxiety-like responding in rodents, activation of corresponding receptor populations in the midbrain periaqueductal grey (PAG) more often than not reduces anxiety-like behavior. The present study specifically concerns the anxiety-modulating influence of 5-HT<sub>2</sub> receptors within the mouse PAG. Experiment 1 assessed the effects of intra-PAG infusions of the 5-HT<sub>2B/2C</sub> receptor agonist mCPP (0, 0.03, 0.1 or 0.3 nmol/0.1 µl) on the behavior of mice exposed to the elevated plus-maze. Experiment 2 assessed the effects of intra-PAG infusions of the preferential 5-HT<sub>2A/2C</sub> receptor antagonist ketanserin (0 or 10 nmol/0.1 µl), on the behaviour of mice exposed to the elevated plus-maze. As mCPP acts preferentially at 5-HT<sub>2B</sub> and 5-HT<sub>2C</sub> receptors, Experiment 3 investigated its effects in animals pretreated with ketanserin. The test sessions were videotaped and subsequently scored for anxiety-like behaviour (e.g. percentage of open arm entries and percentage of open arm time) as well as general locomotor activity (closed arm entries). The results of Experiment 1 showed that mCPP microinfusions (0.03 and 0.1 nmol) into the PAG of mice decreased behavioural indices of anxiety without significantly altering general activity measures. Results of experiment 2 showed that intra-PAG infusions of ketanserin (10 nmol) did not alter conventional indices of anxiety, nor locomotor activity. In Experiment 3, the anxiolytic-like profile of intra-PAG mCPP (0.03 nmol) was substantially attenuated by intra-PAG pretreatment with an intrinsically-inactive dose of the preferential 5-HT<sub>2A/2C</sub> receptor antagonist, ketanserin (10 nmol). Together, these data suggest that 5HT<sub>2C</sub> receptor populations within the midbrain PAG play an inhibitory role in plus-maze anxiety in mice.

### **3. INTRODUÇÃO**

#### **3.1 Ansiedade**

A ansiedade ou angústia, como condição afetiva, é assunto de antigo interesse do pensamento ocidental, com origens tanto na medicina, quanto na filosofia (Pereira, 2004). 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 significam 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).

Ao contrário do que acredita o senso popular, a ansiedade é um fenômeno presente na vida do homem, desde, talvez, seu próprio surgimento e evolução, e não consequência da vida moderna. Assim, constitui uma das mais importantes respostas inatas, 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 continuidade da espécie (Nutt, 1990; Dractu e Lader, 1993). O valor adaptativo da ansiedade também se mostra importante no que diz respeito à promoção de um melhor desempenho em determinadas situações, como por exemplo, no desenvolvimento de atividades intelectuais (Graeff, 1999).

Entretanto, quando o nível de ansiedade ultrapassa determinado limiar, que varia de pessoa para pessoa, instaura-se um quadro patológico denominado Transtorno de Ansiedade. A distinção entre a ansiedade normal e a patológica baseia-se na intensidade e duração das manifestações, no 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). Normalmente, a ansiedade é caracterizada como um estado emocional avaliado como subjetivamente desagradável, acompanhado por sentimento de apreensão, insegurança e um conjunto de alterações fisiológicas e comportamentais (Nutt, 1990). Lader (1981) atribui como causa principal deste estado emocional a antecipação de um perigo, porém com ausência de reconhecimento de uma ameaça real ou, quando existente, a reação à ameaça torna-se desproporcional à intensidade da emoção.

A ansiedade está associada a uma combinação de manifestações psíquicas e somáticas (tabela 1 e 2). Justamente por este motivo, muitos pacientes com ansiedade consultam-se inicialmente com 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).

**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.

**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.



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, uma vez que os estados de ansiedade eram reconhecidos por diferentes nomes conforme a prevalência do quadro sintomatológico e o suposto mecanismo subjacente, sem a existência de um consenso geral sobre o assunto (Hetem, 2004).

Na tentativa de normatizar os quadros das 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, do inglês *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 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

O Transtorno de Ansiedade generalizada, de acordo com o DSM-IV, 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.

O diagnóstico exclui aspectos característicos de outros distúrbios de ansiedade, como por exemplo, preocupação com possíveis ataques de pânico (Transtorno de Pânico), de estar contaminado (Transtorno Obsessivo-Compulsivo), de ganhar peso (Anorexia) e de sentir-se embaraçado diante de situações de evidência (Fobia Social). O DSM-IV enfatiza que o quadro não pode ser consequência direta dos efeitos fisiológicos de uma droga ou medicamento, de uma doença somática (hipertireoidismo) ou de um distúrbio psiquiátrico (como depressão ou esquizofrenia).

Do ponto de vista evolutivo, os transtornos de ansiedade são vistos como patologias do sistema de defesa humano. Assim, torna-se de extrema relevância a compreensão de seus mecanismos neurobiológicos através da investigação das reações de defesa em ensaios que utilizam vários mamíferos, como por exemplo, os roedores (Gray e McNaughton, 2000; Blanchard et al, 2001; Graeff e Zangrossi, 2002).

### **3.2 Reações de Defesa**

Do ponto de vista histórico, o estudo da neurobiologia do medo e da ansiedade se inicia nos relatos de Charles Darwin sobre o caráter evolutivo do comportamento emocional no homem. Seus trabalhos, publicados no livro *The Expression of Emotions in Man and Animals*, na segunda metade do século XIX, indicavam que o estudo do comportamento dos animais era o caminho 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 suas emoções básicas. Assim, estaria embutida na mente humana a herança de seu passado primitivo, possibilitando que comparações entre seu comportamento e o de outros animais pudessem ser traçadas (Zangrossi e Graeff, 2004).

Neste contexto, as raízes do medo e da ansiedade estão nas reações de defesa dos animais frente a estímulos que representam perigo ou ameaça à sobrevivência, ao bem estar ou à integridade física das diferentes espécies. Levando-se em consideração variações intra e interespecíficas, o perigo ou ameaça para os animais pode ser representado por predadores ou estímulos associados a estes, como por exemplo, 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, resultando em respostas diferentes para estímulos distintos (Zangrossi e Graeff, 2004).

Embora a ansiedade e o medo possuam origens nas reações de defesa quando na presença de situações que envolvem perigo, acredita-se que a diferença entre medo e ansiedade esteja relacionada às diferentes situações que desencadeiam estes sentimentos. Assim, supõe-se que o medo seja desencadeado por situações claras e evidentes de perigo e ameaça, enquanto a ansiedade, por situações nas quais o perigo é potencial, vago e obscuro (Graeff, 1989; Blanchard et al, 1990).

As estratégias comportamentais exibidas por roedores (ratos e camundongos) em situações de ameaça foram classificadas de acordo com o nível de ameaça: potencial ou real; se real, distal ou proximal. No nível de ameaça potencial, as estratégias observadas incluem comportamentos de avaliação de risco, caracterizadas por movimentos exploratórios cautelosos e hesitantes, com posturas e movimentos do corpo que possibilitem a aproximação e a investigação da possível ameaça. Quando a ameaça é real, são observados comportamentos de fuga ou imobilidade no caso de um estímulo distal e no caso de um estímulo proximal (predador muito próximo ou em contato direto com o animal), comportamentos de fuga ou luta defensiva (Blanchard e Blanchard, 1988; Blanchard et al, 1997).

Alguns autores sugerem que a distinção entre medo e ansiedade reside exatamente nestas estratégias comportamentais citadas acima. Assim, quando o estímulo é potencialmente ameaçador, são desencadeados comportamentos de avaliação de risco, caracterizando um estado de ansiedade. Quando o estímulo ou situação ameaçadora é real, os comportamentos apresentados (luta ou fuga) caracterizam medo. Dessa forma, modelos animais de medo e ansiedade favorecem 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 indicam a existência de circuitos neurais específicos que respondem em conformidade com a natureza do estímulo a que o indivíduo é exposto. *O Sistema Cerebral Aversivo*, constituído pelo hipotálamo medial, pela substância cinzenta periaquedutal dorsal e pela amígdala, está associado à emissão de respostas incondicionadas (inatas e não aprendidas). 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 (Brandão et al, 1994; Brandão et al, 1999).

A organização das respostas condicionadas, por sua vez, é efetuada pelo *Sistema de Inibição Comportamental*, representado pelo sistema septo-hipocampal, núcleo mediano da rafe e substância cinzenta periaquedutal ventral (Gray e McNaughton, 2000). Sabe-se que a amígdala está envolvida na ativação dos dois sistemas, agindo como interface entre o sistema de inibição comportamental e o sistema cerebral aversivo (Brandão et al, 2003; McNaughton e Corr, 2004).

Evidências têm mostrado que estímulos incondicionados ameaçadores e proximais e 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**

Do ponto de vista anatômico, a substância cinzenta periaquedutal (SCP) é uma estrutura mesencefálica, localizada ao redor do aqueduto de Sylvius. É subdividida anatômica e funcionalmente em quatro colunas longitudinais ao redor de seu eixo rostro-caudal. Estas colunas são denominadas: dorsomedial, dorsolateral, lateral e ventrolateral, devido às suas posições em relação ao aqueduto (Bandler e Depaulis, 1991). A SCP é considerada uma estrutura cerebral complexa, cuja ativação está relacionada à integração de muitas funções importantes para a sobrevivência do organismo, como processamento e modulação da dor, controle motor e cardiovascular, e reações de defesa (Beitz, 1990; Behbehani, 1995).

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 a seu predador, na ausência de contato físico (Keay e Bandler, 2001), enquanto 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).

### 3.4 Serotonina e Ansiedade

A serotonina (5-hidroxitriptamina ou 5-HT) é uma molécula sinalizadora que desempenha grande número de funções em muitas espécies e em vários tecidos (Turlejski, 1996). No sistema nervoso central, este neurotransmissor 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). Uma disfunção na sinalização serotoninérgica é um dado importante presente em estados psicopatológicos como depressão (Pinder e Wieringa, 1993), distúrbios alimentares (Leibowitz e Shor-Posner, 1986) e ansiedade (Chopin e Briley, 1987).

O papel da serotonina na modulação dos estados de ansiedade pode estar relacionado ao tipo de estímulo aversivo (condicionado ou incondicionado), além do sítio de ação no sistema nervoso central, como por exemplo, amígdala e substância cinzenta periaquedutal (Deakin e Graeff, 1991; Handley, 1995; Graeff et al, 1996). Em 1991, Deakin e Graeff propuseram a teoria do papel dual da serotonina na ansiedade. Segundo estes autores, a serotonina pode atuar facilitando o comportamento defensivo, ou inibindo-o, dependendo dos sítios e dos subtipos de receptores serotoninérgicos que atuam no sistema nervoso central.

Os receptores de serotonina são divididos em 7 famílias (5-HT<sub>1</sub> a 5-HT<sub>7</sub>), sendo ainda subdivididos em 14 subtipos (5-HT<sub>1A</sub>, 5-HT<sub>1B</sub>, 5-HT<sub>1D</sub>, 5-HT<sub>1E</sub>, 5-HT<sub>1F</sub>, 5-HT<sub>2A</sub>, 5-HT<sub>2B</sub>, 5-HT<sub>2C</sub>, 5-HT<sub>3</sub>, 5-HT<sub>4</sub>, 5-HT<sub>5A</sub>, 5-HT<sub>5B</sub>, 5-HT<sub>6</sub> e 5-HT<sub>7</sub>) (Barnes e Sharp, 1999). Muitos estudos têm focado o envolvimento desses receptores nos mecanismos da ansiedade, com particular ênfase para os do subtipo 5-HT<sub>1A</sub> (Goldberg e Finnerty, 1979; File et al, 1996; Menard e Treit, 1998; Nunes-de-Souza et al, 2000; Canto-de-Souza et al, 2002), 5-HT<sub>2</sub> (Kennett et al, 1994; Cornélio e Nunes-de-Souza, 2007), 5-HT<sub>3</sub> (Costall e Naylor, 1991; Fachini e Canto-de-Souza, 2006 e 2007; Marucci e Canto-de-Souza, 2006; Marucci et al, 2006) e 5-HT<sub>4</sub> (Kennett, 1997). Devido ao seu envolvimento com prováveis sítios de drogas utilizadas no tratamento de

distúrbios como enxaqueca, esquizofrenia, depressão e ansiedade, particular interesse tem sido dedicado aos receptores do subtipo 5-HT<sub>2</sub> centrais (Baxter et al, 1995).

A família dos receptores 5-HT<sub>2</sub> é composta por 3 subtipos de receptores pós-sinápticos acoplados à proteína G, conhecidos como 5-HT<sub>2A</sub>, 5-HT<sub>2B</sub>, 5-HT<sub>2C</sub> (Barnes e Sharp, 1999). Embora existam diferenças regionais na distribuição dos receptores 5-HT<sub>2</sub>, todos estão presentes no sistema nervoso central (Nic Dhonnchadha et al, 2003). Foram identificadas elevadas quantidades de receptores 5-HT<sub>2A</sub> no córtex frontal, gânglios da base e menores níveis em algumas estruturas do sistema límbico como hipocampo, septo e amígdala (Zifa e Fillion, 1992; Hoyer et al, 1994; Pompeiano et al, 1994). Os receptores 5-HT<sub>2B</sub> estão concentrados no hipocampo, córtex, mesencéfalo e hipotálamo (Bonhaus et al, 1995), embora proteínas receptoras deste subtipo de receptor também tenham sido encontradas na amígdala lateral e septo lateral de ratos (Duxon et al, 1995, 1997). A maior expressão de receptores 5-HT<sub>2C</sub> está presente no plexo coróide, núcleo septal lateral, núcleo subtalâmico, amígdala, hipocampo, substância negra, cerebelo e substância cinzenta periaquedutal (Pazos et al, 1985; Zifa e Fillion, 1992; Hoyer et al, 1994; Abramowski et al, 1995; Wright et al, 1995; Sharma et al, 1997).

### **3.5 Modelo Animal de Ansiedade: Labirinto em Cruz Elevado**

Dentre os principais testes de ansiedade em animais, o labirinto em cruz elevado (LCE) tem sido o mais amplamente utilizado. O teste, inicialmente proposto por Montgomery (1955), foi modificado e validado para ratos (Handley e Mithani, 1984; Pelow et al, 1985) e camundongos (Stephens et al, 1986; Lister, 1987) e é baseado na aversão natural de roedores a espaços abertos (Treit et al, 1993; Fernandes e File, 1996). O aparato é composto por dois braços fechados (com paredes) unidos ortogonalmente a dois braços abertos por uma plataforma central. Os índices principais de ansiedade compreendem medidas espaço-

temporais de esquiva dos braços abertos, enquanto a atividade locomotora é avaliada pelo número de entradas nos braços fechados (Lister, 1987; File, 1992). O aumento da atividade nos braços abertos (porcentagem de entradas e porcentagem de tempo gasto nestes locais) indica redução da ansiedade, enquanto mudanças no número de entradas nos braços fechados indicam efeitos não específicos na atividade locomotora (Lister, 1987; File, 1992; Cruz et al, 1994; Rodgers e Johnson, 1995).

A principal vantagem de modelos como o LCE, os quais não envolvem aprendizagem, em relação aos modelos condicionados que empregam punição, é a não utilização de estímulos nocivos como choque elétrico e privação de água ou comida. Tais estímulos poderiam interferir no comportamento do animal, e assim dificultar as análises de ansiedade (Pelow et al, 1985; Lister, 1990).

Trabalhos têm demonstrado uma sensibilidade aumentada em certos comportamentos e posturas relacionadas ao padrão defensivo de avaliação de risco (Rodgers et al, 1992; Adamec et al, 1993; Cruz et al, 1994; Shepherd et al, 1994; Griebel et al, 1996, 1997). Estas medidas etológicas têm como função informar as estratégias comportamentais utilizadas frente a situações de perigo potencial, sendo frequentemente mais sensíveis às ações de drogas como os agonistas parciais de receptores 5-HT<sub>1A</sub>, que falham em alterar a esquiva dos braços abertos ou o fazem em doses que afetam a atividade locomotora (Rodgers et al, 1997, Carobrez e Bertoglio, 2005).

### **3.6 Evidências Clínicas e Experimentais**

Dentre as 7 famílias de receptores de 5-HT conhecidas, os subtipos 5-HT<sub>1A</sub> e 5-HT<sub>2</sub> têm provavelmente sido os mais intensivamente estudados em investigações pré-clínicas e clínicas (Hoyer et al, 1994; Menard e Treit, 1999). Recentemente, Nic Dhonnchadha (2003)



propôs que devido ao padrão de distribuição dos receptores 5-HT<sub>2</sub> (particularmente os subtipos 5-HT<sub>2B</sub> e 5-HT<sub>2C</sub>), sua ativação pode estar relacionada à regulação dos transtornos de humor e ansiedade. Esta concepção é consistente com estudos pré-clínicos que mostram que a administração de agonistas de receptores 5-HT<sub>2</sub> aumenta, enquanto a administração de antagonistas de receptores 5-HT<sub>2</sub> diminui a ansiedade em diversos modelos animais (Connell et al, 1995; Griebel, 1995; Zangrossi et al, 2001; Millan, 2003; Millan et al, 2005), e com estudos clínicos que mostram a eficácia de antagonistas 5-HT<sub>2</sub> no tratamento de fobias e outros distúrbios de ansiedade (Griebel, 1995; Blier e de Montigny, 1999).

A administração intracerebral de ligantes seletivos têm sido utilizada para investigar mais precisamente o papel dos receptores 5-HT<sub>2</sub> centrais na ansiedade. Por exemplo, injeções intra-amígdala de mCPP, um agonista dos receptores 5-HT<sub>2B/2C</sub> (Barnes e Sharp, 1999) resulta em efeito ansiogênico em camundongos submetidos ao labirinto em cruz elevado (LCE), efeito que foi completamente bloqueado pela administração de SDZ SER 082 (Cornélio e Nunes-de-Souza, 2007), antagonista preferencial dos receptores 5-HT<sub>2C</sub> (Dave et al, 2002). Similarmente, os efeitos ansiogênicos do agonista de receptores 5-HT<sub>2C</sub>, MK 212 administrado de forma sistêmica, foram bloqueados pela injeção intra-amígdala de ritanserina, antagonista preferencial de receptores 5-HT<sub>2A/2C</sub> (Cruz et al, 2005).

Entretanto, a ativação de receptores 5-HT<sub>2</sub> em outras regiões encefálicas resulta em efeitos ansiolíticos, como por exemplo, em experimentos que utilizam estimulação elétrica ou química da porção dorsal da substância cinzenta periaquedutal (SCP) em ratos (Di Scala et al, 1984; Bandler et al, 1985; Aguiar et al, 2006) e camundongos (Carvalho-Neto et al, 2006; Miguel e Nunes-de-Souza, 2006). A estimulação desta porção da SCP resulta na emissão de comportamentos de fuga e saltos que se alternam com posturas de imobilidade. Estes comportamentos aversivos, que são muito similares às reações de fuga eliciadas por predadores naturais (Blanchard e Blanchard, 1988), são atenuados pela ativação de receptores

do subtipo 5-HT<sub>1A</sub> ou 5-HT<sub>2</sub> da SCP em ratos (Deakin e Graeff, 1991; Graeff et al, 1997; Castilho et al, 2002; Graeff, 2004; Oliveira et al, 2007).

Canto-de-Souza et al (2002) relataram que injeções de WAY 100635, antagonista seletivo dos receptores 5-HT<sub>1A</sub> no núcleo mediano da rafe (NMR) diminuíram os índices de ansiedade em camundongos expostos ao LCE. Sabe-se que o WAY 100635 aumenta a taxa de disparos de neurônios serotoninérgicos ao bloquear os auto-receptores somatodendríticos do tipo 5-HT<sub>1A</sub> (Fornal et al, 1996; Munday et al, 1996; Hajós et al, 2001). Assim, este efeito ansiolítico obtido no NMR pode ser devido a uma desinibição na liberação de serotonina em sítios pós-sinápticos. Com o intuito de avaliar o potencial envolvimento dos receptores 5-HT<sub>2</sub> da SCP neste processo, o presente estudo avaliou o efeito de microinjeções intra-SCP de mCPP no comportamento de camundongos submetidos ao LCE. Além disso, como o mCPP atua preferencialmente sobre os receptores do subtipo 5-HT<sub>2B</sub> e 5-HT<sub>2C</sub>, nós avaliamos, ainda, seus efeitos em animais pré-tratados com cetanserina, antagonista preferencial dos receptores 5-HT<sub>2A/2C</sub>.

#### 4. OBJETIVO

O presente estudo teve como objetivo investigar o efeito da ativação e bloqueio de receptores 5-HT<sub>2</sub> da SCP de camundongos expostos no LCE. A participação dos receptores 5-HT<sub>2</sub> foi avaliada pelos experimentos:

**Experimento 1:** Injeção intra-SCP de mCPP, agonista de receptores 5-HT<sub>2B/2C</sub>, em camundongos avaliados no LCE;

**Experimento 2:** Injeção intra-SCP de cetanserina, antagonista de receptores 5-HT<sub>2A/2C</sub>, em camundongos submetidos ao LCE;

**Experimento 3:** Injeção intra-SCP de mCPP, agonista de receptores 5-HT<sub>2B/2C</sub> em animais pré-tratados com cetanserina, antagonista de receptores 5-HT<sub>2A/2C</sub>, microinjetado na SCP de camundongos avaliados no LCE.

## 5. MATERIAL E MÉTODOS

### 5.1 Sujeitos

Foram utilizados camundongos da cepa *Suíço-albino*, machos pesando entre 25-30g provenientes do biotério central da Universidade Federal de São Carlos – UFSCar. Os animais foram agrupados em grupos de 10 em gaiolas coletivas (41 x 34 x 16 cm), mantidos em condições controladas de temperatura ( $24 \pm 1^\circ\text{C}$ ), umidade ( $55 \pm 5\%$ ), luz (ciclo claro/escuro de 12 horas, luzes acesas as 7:00 horas) e livre acesso a alimento e água, exceto durante as breves sessões de teste.

### 5.2 Drogas

mCPP (1-(3- Clorofenil) piperazina e cetanserina (3-[2-[4-(4-fluorobenzoil)-1-piperidinil] etil]-2,4 [1H,3H]- quinazolinediona tartrato) (Tocris Cookson Inc., Ballwin, USA) foram dissolvidas em salina (0,9% de NaCl) e em veículo (salina 0,9% e Tween 80).

As doses de mCPP (0, 0,03, 0,1 e 0,3 nmol) e cetanserina (0 e 10 nmol) foram baseadas em estudos piloto e em estudos prévios (Nogueira e Graeff, 1991; Soares e Zangrossi, 2004; Cornélio e Nunes-de-Souza, 2007).

### 5.3 Cirurgia e injeção de drogas

Os animais receberam implantação craniana de cânula-guia (25gauge) de 7 mm de comprimento, após anestesia com pentobarbital sódico (90 mg/kg, i.p.), sob ângulo de  $26^\circ$  na substância cinzenta periaquedutal. A cânula foi fixada com cimento acrílico com base nas coordenadas estereotáxicas definidas pelo Atlas de Franklin e Paxinos (1997): 4,1 mm posterior ao bregma, +1,3 mm lateral à linha média e -1,2 mm ventral à superfície craniana. A ponta da cânula-guia foi posicionada  $\pm 2,0$  mm dorsal à estrutura alvo. Um mandril, o qual foi removido durante o procedimento de injeção, foi inserido no interior da cânula-guia para

evitar problemas de obstrução e para reduzir contaminação. A agulha de injeção, cujo comprimento ultrapassa 2,0 mm a ponta da cânula-guia, foi inserida dentro da mesma para a injeção das soluções na SCP. A agulha de injeção foi conectada, por meio de tubo de polietileno (PE-10), à uma microseringa Hamilton de 5 µl. Uma bomba de infusão (Insight BI 2000 – Equipamentos Científicos Ltda, Brasil) foi programada para injetar 0,1 µl de solução durante 60 segundos.

O procedimento de injeção consistiu na remoção do mandril, inserção da agulha de injeção, injeção da solução por 60 segundos, permanência da agulha de injeção por 90 segundos após o término da injeção e inserção do mandril enquanto o animal era contido manualmente pelo experimentador. O movimento de uma pequena bolha de ar no tubo de polietileno antes, durante e depois da injeção confirmou o fluxo da solução.

#### **5.4 Equipamentos e Procedimento**

O Labirinto em Cruz Elevado (LCE) (Fig.1) consiste de dois braços abertos (30 x 5 x 0,25 cm) unidos por uma plataforma central (5 x 5 cm) a dois braços fechados constituídos de vidro transparente (30 x 5 x 15 cm). O aparato fica elevado do solo a 38,5 cm (modificado de Lister, 1987).

Após um período de recuperação de 5 a 6 dias depois da cirurgia, os animais receberam injeção das soluções na SCP e foram colocados individualmente sobre a plataforma central do LCE com a cabeça voltada para um dos braços abertos. Foi permitido aos animais explorar o aparato durante 5 minutos. Após este período, o labirinto era limpo com algodão umedecido em solução de álcool a 20% (v/v) e seco com papel toalha. Os testes foram conduzidos durante a fase clara do ciclo de luz. Todas as sessões foram gravadas por uma câmera (Panasonic-X12) posicionada em um ângulo de aproximadamente 45°, para posterior análise dos resultados.



**Figura 1-Labirinto em Cruz Elevado**

#### **5.4.1 Experimento 1: Injeção intra-SCP de mCPP (0, 0,03, 0,1 e 0,3 nmol/0,1µl)**

Os animais receberam injeção intra-SCP de salina (0,9% NaCl) ou mCPP (0,03, 0,1 e 0,3 nmol/0,1µl) e após 5 minutos foram submetidos ao LCE conforme descrito acima.

#### **5.4.2 Experimento 2: Injeção intra-SCP de cetanserina (0 ou 10 nmol/0,1µl)**

Os animais receberam injeção intra-SCP de veículo (salina + Tween 80) ou cetanserina (10 nmol/0,1µl) e após 5 minutos foram avaliados no LCE conforme descrito anteriormente.

#### **5.4.3 Experimento 3: Injeção combinada de cetanserina (0 ou 10 nmol/0,1µl) e mCPP (0 ou 0,03 nmol/0,1µl)**

Os animais receberam injeção intra-SCP de cetanserina (0 ou 10 nmol/0,1µl) e após 10 minutos, injeção de mCPP (0 ou 0,03 nmol/0,1µl) na mesma estrutura. Os grupos testados foram, portanto: veículo + veículo (V+V), veículo + mCPP (V+mCPP), cetanserina + veículo

(C+V) e cetanserina + mCPP (C+mCPP). Cinco minutos após a segunda injeção, os animais eram submetidos ao LCE conforme descrito anteriormente.

### 5.5 Análise Comportamental

Os comportamentos foram avaliados através da análise das fitas gravadas, por um observador treinado, utilizando o programa de análise etológica X-Plo-Rat, (Becerra-Garcia et al, 2005). Os comportamentos analisados envolveram tanto os parâmetros convencionais (Lister, 1987), quanto os etológicos (Rodgers et al, 1997).

*Medidas Convencionais:* Freqüência de entradas nos braços abertos e fechados (a entrada em um braço definida pelo cruzamento das quatro patas no interior do braço) e duração do tempo gasto nestes compartimentos e na plataforma central. Estes dados foram usados para o cálculo das porcentagens de entrada e tempo de permanência dos animais nos braços abertos:  $[(\text{Freqüência entradas}/\text{total}) \times 100]$  e  $[(\text{Tempo no compartimento}/300) \times 100]$ .

*Medidas Etológicas:* Freqüência de levantamentos (*Rearing*- elevação do corpo sobre as patas traseiras), mergulhos (*head-dipping*- movimentos exploratórios da cabeça/ombros em direção ao solo), posturas de esticar o corpo (*stretched attend postures (SAP)*- movimentos que consistem em esticar o corpo e retrá-lo à posição original, sem ocorrência de locomoção) e duração de imobilidade. Como os sinais de tigmotaxia são importantes para a exploração no LCE (Treit et al, 1993), os comportamentos de mergulho e esticar o corpo foram diferenciados quanto ao local de sua ocorrência no labirinto. Os braços fechados e a plataforma central foram designadas áreas “protegidas” do labirinto, enquanto os braços abertos foram designados como áreas “desprotegidas” (Rodgers e Johnson, 1995). Os dados coletados nestes compartimentos são mostrados na forma de total e porcentagem  $[(\text{freqüência protegido}/\text{total}) \times 100]$  de cada comportamento.

## 5.6 Histologia

Após o término dos experimentos os animais receberam injeção de 0,1 µl de uma solução de 1% de azul de metileno na SCP de acordo com o procedimento descrito para a injeção de drogas. Os animais receberam uma dose de anestésico (180 mg/kg i.p.), foram decapitados, seus cérebros foram removidos e acomodados em recipientes contendo solução de formol a 10% para, posteriormente, sofrerem secções coronais de 80 micrômetros (µm) ao longo do trajeto da cânula. As secções foram inspecionadas através de um microscópio (Olympus B202) e a visualização da dispersão do azul de metileno indicou o local da injeção. Os animais cujas injeções não atingiram a SCP foram excluídos do estudo.

## 5.7 Análise Estatística

Todos os dados foram inicialmente submetidos ao teste de homogeneidade das variâncias de Levene. Quando necessário, os dados foram transformados em log 10 (variável +1), raiz quadrada ou raiz cúbica antes de serem submetidos à análise de variância (ANOVA). Os dados do experimento 1 foram submetidos à análise de variância (ANOVA) de um fator (tratamento), enquanto os dados do experimento 2 foram submetidos ao Teste *t* de Student para amostras independentes. Os dados do experimento 3 foram submetidos à análise de variância (ANOVA) de dois fatores (pré-tratamento e tratamento). Quando apropriado, os resultados foram submetidos ao teste de comparações múltiplas de Duncan. Os valores de  $P \leq 0,05$  foram considerados significativos.

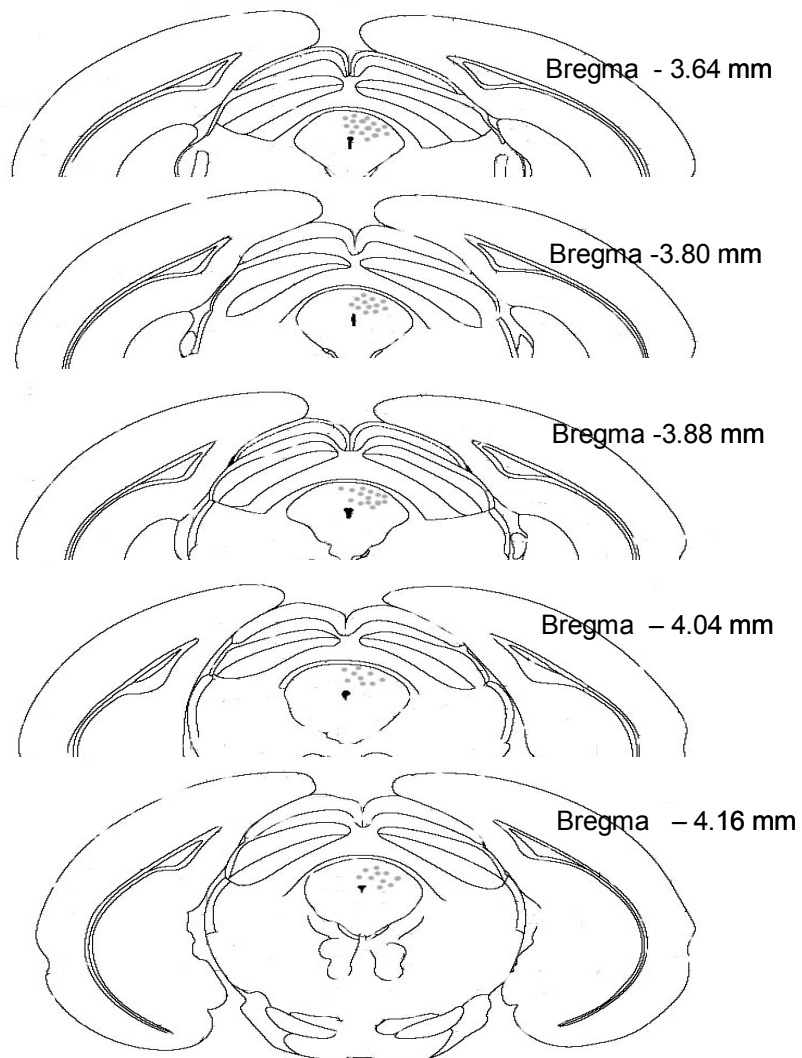
## 5.8 Ética

Os procedimentos experimentais deste estudo foram realizados de acordo com os preceitos da Sociedade Brasileira de Neurociência e Comportamento (SBNeC) para o trabalho com animais de laboratório.



## 6. RESULTADOS

A análise histológica confirmou canulação positiva na SCP em um total de 109 animais. Destes, 42 foram utilizados para avaliar o efeito do mCPP (0,03, 0,1 e 0,3 nmol) (experimento 1) (n= 9-13), 19 foram utilizados para avaliação do efeito da cetanserina (10 nmol) (experimento 2) (n= 9-10) e 48 foram utilizados para avaliar o efeito da injeção combinada (experimento 3) de cetanserina (10 nmol) e mCPP (0,03 nmol) (n= 11-13).



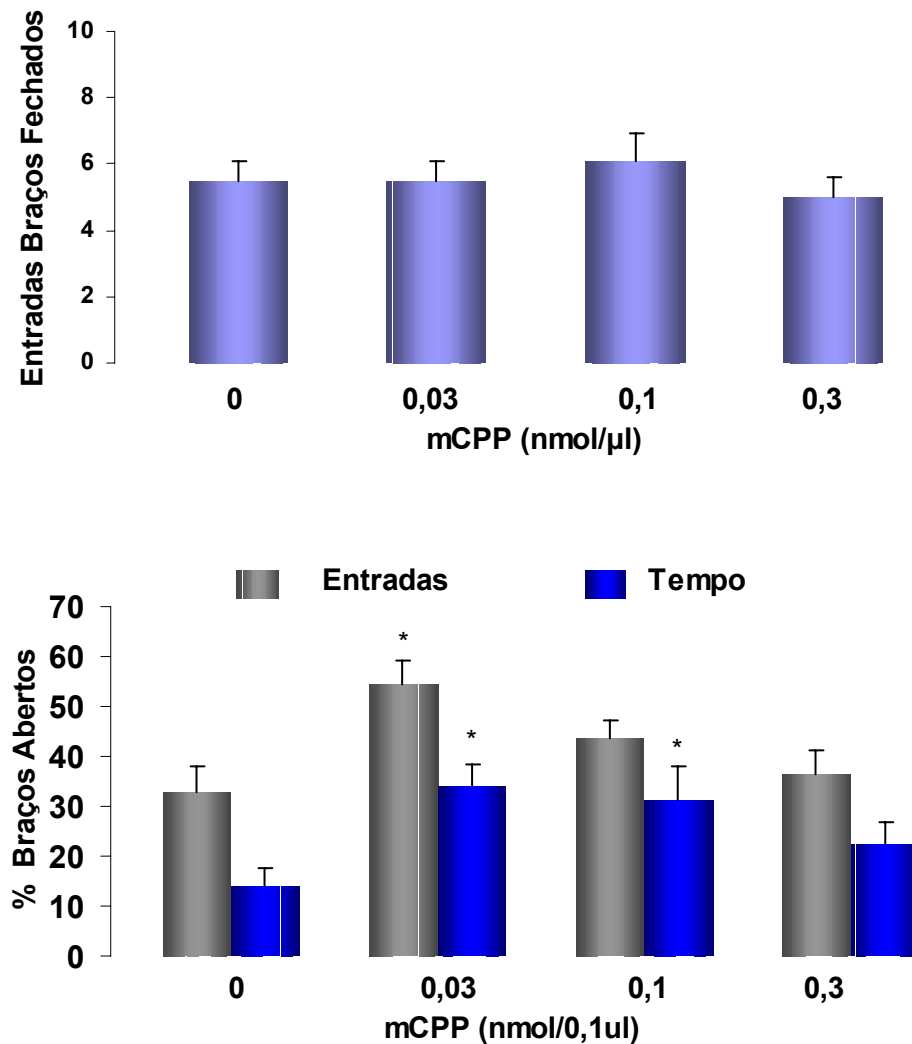
**Figura 2** - Representação esquemática dos sítios de injeção na SCP de camundongos. O número de pontos é inferior ao número total de animais devido à sobreposição.

### 6.1 Experimento 1: Injeção intra-SCP de mCPP (0, 0,03, 0,1 e 0,3 nmol/0,1µl)

A Figura 3 mostra os efeitos da injeção de mCPP (0, 0,03, 0,1 e 0,3 nmol/0,1µl) na SCP de camundongos avaliados no LCE. A ANOVA de um fator (tratamento) revelou diferença estatisticamente significativa para as porcentagens de entrada ( $F_{(3,38)} = 3,93$ ,  $P < 0,05$ ) e porcentagem de tempo gasto nos braços abertos ( $F_{(3,38)} = 3,35$ ,  $P < 0,05$ ) do LCE. O teste de Duncan revelou aumento significativo na porcentagem de entradas e porcentagem de tempo ( $P < 0,05$ ) gasto nos braços abertos para a dose de 0,03 nmol/0,1µl com relação ao grupo controle. O teste de Duncan revelou também aumento na porcentagem de tempo gasto nos braços abertos para a dose de 0,1 nmol/0,1µl ( $P < 0,05$ ) em relação ao grupo salina. Nenhum dos tratamentos alterou a atividade locomotora dos animais ( $F_{(3,38)} = 0,48$ ,  $P > 0,05$ ).

A Tabela 4 mostra os efeitos do mCPP (0, 0,03, 0,1 e 0,3 nmol/0,1µl) nos demais comportamentos avaliados no LCE. A análise estatística indicou que, com exceção de um efeito isolado na porcentagem de mergulhos protegidos [redução na dose de 0,3 nmol/0,1µl ( $F_{(3,38)} = 3,72$ ,  $P < 0,05$ ) com relação à salina], todos os efeitos foram obtidos com a dose de 0,03 nmol/0,1µl em relação ao grupo controle. A ANOVA de um fator revelou diferença significativa no total de entradas ( $F_{(3,38)} = 3,44$ ,  $P < 0,05$ ), entradas nos braços abertos ( $F_{(3,38)} = 5,22$ ,  $P < 0,05$ ), total de mergulhos ( $F_{(3,38)} = 2,72$ ,  $P < 0,05$ ), porcentagem de mergulhos protegidos ( $F_{(3,38)} = 3,71$ ,  $P < 0,05$ ), total de esticadas ( $F_{(3,38)} = 4,56$ ,  $P < 0,05$ ) e porcentagem de esticadas protegidas ( $F_{(3,38)} = 2,42$ ,  $P < 0,05$ ). O teste de Duncan revelou aumento no total de entradas, nas entradas nos braços abertos, no total de mergulhos, no total de esticadas e diminuição significativa na porcentagem de mergulhos protegidos e porcentagem de esticadas protegidas ( $P \leq 0,05$ ).

Embora a ANOVA de um fator não tenha apontado diferença significativa para o total de imobilidade ( $F_{(3,38)} = 1,95$ ,  $P > 0,05$ ), o teste de Duncan revelou diminuição significativa neste parâmetro para a dose de 0,03 nmol/0,1 µl em relação ao grupo controle ( $P < 0,05$ ).



**Figura 3** - Efeito do mCPP (0, 0,03, 0,1 e 0,3 nmol/0,1μl) injetado 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= 9-13)

\* $P < 0,05$ , comparado ao grupo controle (ANOVA de uma via seguida do teste de Duncan).

A análise estatística não apontou diferença significativa para as porcentagens de tempo gasto nos braços fechados ( $F_{(3,38)} = 2,06$ ,  $P > 0,05$ ) e no centro ( $F_{(3,38)} = 1,02$ ,  $P > 0,05$ ) do LCE, tampouco para o total de levantamentos ( $F_{(3,38)} = 1,0$ ,  $P > 0,05$ ).

**Tabela 4.** Efeito do mCPP (0, 0,03, 0,1 e 0,3 nmol/0,1 $\mu$ l) injetado na SCP de camundongos avaliados no LCE

Comportamentos	mCPP (nmol/0,1 $\mu$ l)				F (3,38)
	0	0,03	0,1	0,3	
Total de Entradas	8,3 $\pm$ 0,9	12,4 $\pm$ 1,21*	11,2 $\pm$ 1,63	8,23 $\pm$ 0,93	3,44 ; $P < 0,05$
Entradas nos BAs	2,8 $\pm$ 0,53	6,9 $\pm$ 1,11**	5,1 $\pm$ 1,1	3,23 $\pm$ 0,56	5,22 ; $P < 0,05$
%Tempo nos BFs	52,4 $\pm$ 6,3	31,5 $\pm$ 4,03	41,8 $\pm$ 5,8	39,6 $\pm$ 6,3	2,06 ; NS
%Tempo no centro	33,6 $\pm$ 5,74	34,6 $\pm$ 3,3	27,0 $\pm$ 5,0	39,2 $\pm$ 5,1	1,02 ; NS
Total de Mergulhos	9,0 $\pm$ 1,8	14,4 $\pm$ 1,7*	9,0 $\pm$ 1,3	8,8 $\pm$ 1,6	2,72 ; $P = 0,05$
% Mergulhos Protegidos	81,5 $\pm$ 7,8	56,9 $\pm$ 5,6*	72,2 $\pm$ 7,6	48,4 $\pm$ 9,0**	3,71 ; $P < 0,05$
Total Esticadas	15,9 $\pm$ 2,1	24,4 $\pm$ 2,7*	19,2 $\pm$ 2,9	12,6 $\pm$ 2,0	4,56 ; $P < 0,05$
%Esticadas Protegidas	72,0 $\pm$ 6,6	48,5 $\pm$ 5,6*	58,6 $\pm$ 7,5	70,8 $\pm$ 7,8	2,42 ; $P < 0,05$
Total Levantamentos	4,0 $\pm$ 1,1	6,3 $\pm$ 1,5	7,9 $\pm$ 2,4	5,3 $\pm$ 1,1	1,00 ; NS
Total Imobilidade	27,5 $\pm$ 10,7	8,0 $\pm$ 4,1*	34,3 $\pm$ 14,8	51,8 $\pm$ 16,9	1,95 ; NS

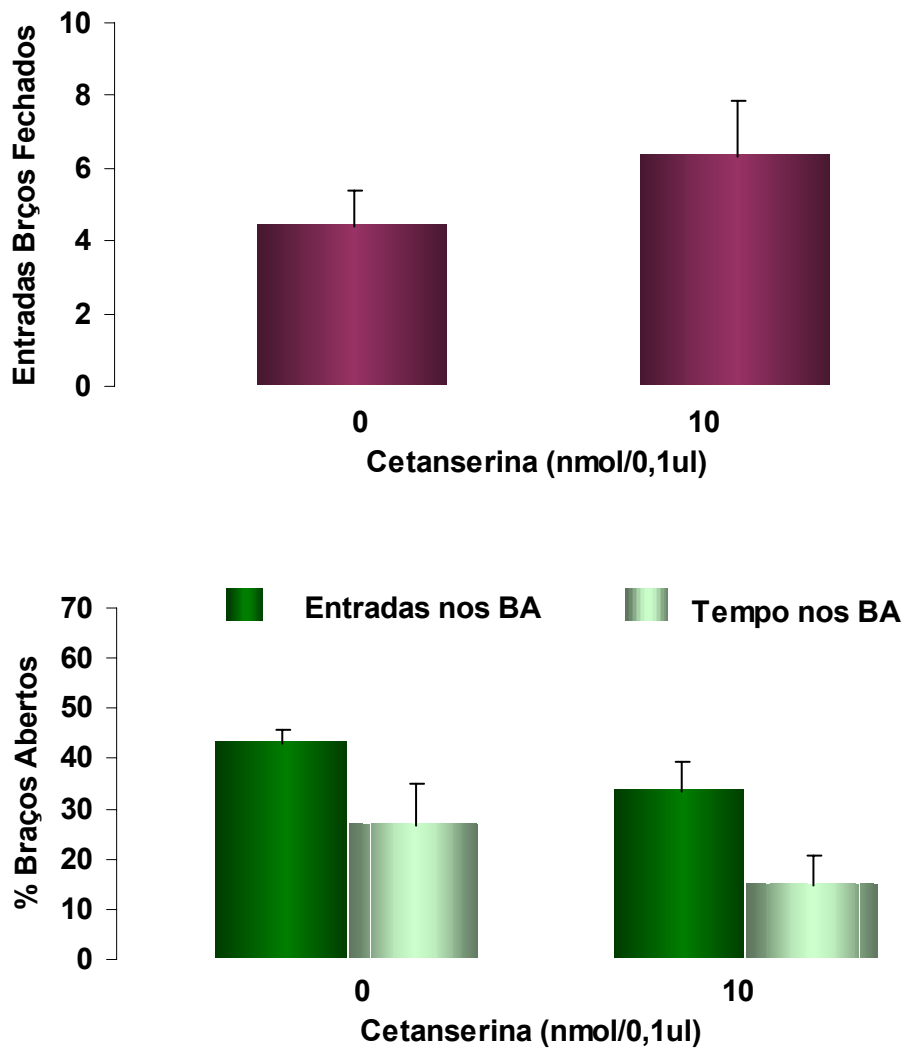
Os dados representam a média  $\pm$  E.P.M. dos demais comportamentos avaliados no LCE. BAs = Braços Abertos; BFs = Braços Fechados; NS = Não Significativo; (n=9-13)

\*  $P < 0,05$ , comparado ao grupo controle (ANOVA de uma via seguida do teste de Duncan).

\*\*  $P < 0,01$ , comparado ao grupo controle (ANOVA de uma via seguida do teste de Duncan).

## 6.2 Experimento 2 : Injeção intra-SCP de cetanserina (0 ou 10 nmol/0,1 $\mu$ l)

A Figura 4 mostra a ausência de efeitos da injeção de cetanserina (0 e 10 nmol/0,1 $\mu$ l) na SCP de camundongos avaliados no LCE. O Teste  $t$  para amostras independentes não revelou diferença estatisticamente significativa para as porcentagens de entradas ( $t_{(17)} = 1,52$ , NS) e tempo ( $t_{(17)} = 1,13$ , NS) gasto nos braços abertos do labirinto. A análise estatística também não apontou diferença significativa para as entradas nos braços fechados do aparato ( $t_{(17)} = - 1,10$ , NS).



**Figura 4** - Ausência de efeitos da cetanserina (0 e 10 nmol/0,1 $\mu$ l) injetada 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= 9-10)

A Tabela 5 mostra a ausência de efeitos da cetanserina (0 e 10 nmol/0,1 $\mu$ l) injetada na SCP de camundongos nos demais comportamentos avaliados no LCE. A análise estatística não revelou efeitos significativos para o total de entradas ( $t_{(17)} = -0,42$ , NS), entradas nos braços abertos ( $t_{(17)} = 0,79$ , NS), porcentagens de tempo gasto nos braços fechados ( $t_{(17)} = 0,54$ , NS) e no centro do LCE ( $t_{(17)} = -1,69$ , NS), tampouco para os totais de mergulhos ( $t_{(17)} = -1,22$ , NS), esticadas ( $t_{(17)} = 0,37$ , NS), levantamentos ( $t_{(17)} = 0,23$ , NS) e imobilidade ( $t_{(17)} = 0,89$ , NS). O Teste  $t$  para amostras independentes também não indicou efeitos significativos

para as porcentagens de mergulhos ( $t_{(17)} = -1,60$ , NS) e esticadas protegidas ( $t_{(17)} = -1,21$ , NS).

**Tabela 5.** Ausência de efeitos da cetanserina (0 e 10 nmol/0,1 $\mu$ l) injetada na SCP de camundongos expostos ao LCE

Comportamentos	Cetanserina (nmol/0,1 $\mu$ l)		
	0	10	t (df 17)
Total de Entradas	7,8 $\pm$ 1,8	8,9 $\pm$ 1,8	- 0,42, NS
Entradas nos Bas	3,4 $\pm$ 0,9	2,5 $\pm$ 0,5	0,79, NS
% Tempo nos BFs	42,8 $\pm$ 8,2	35,9 $\pm$ 9,5	0,54, NS
% Tempo no centro	30,5 $\pm$ 5,8	49,3 $\pm$ 9,7	- 1,69, NS
Total mergulhos	8,8 $\pm$ 0,9	11,0 $\pm$ 1,6	- 1,22, NS
% Mergulhos Protegidos	53,8 $\pm$ 10,6	75,8 $\pm$ 8,2	-1,60, NS
Total Esticadas	17,7 $\pm$ 2,9	16,4 $\pm$ 1,5	0,37, NS
% Esticadas Protegidas	67,2 $\pm$ 7,0	80,3 $\pm$ 8,3	-1,21, NS
Total Levantamentos	7,2 $\pm$ 1,9	6,5 $\pm$ 2,0	0,23, NS
Total Imobilidade	55,3 $\pm$ 13,6	36,4 $\pm$ 16,3	0,89, NS

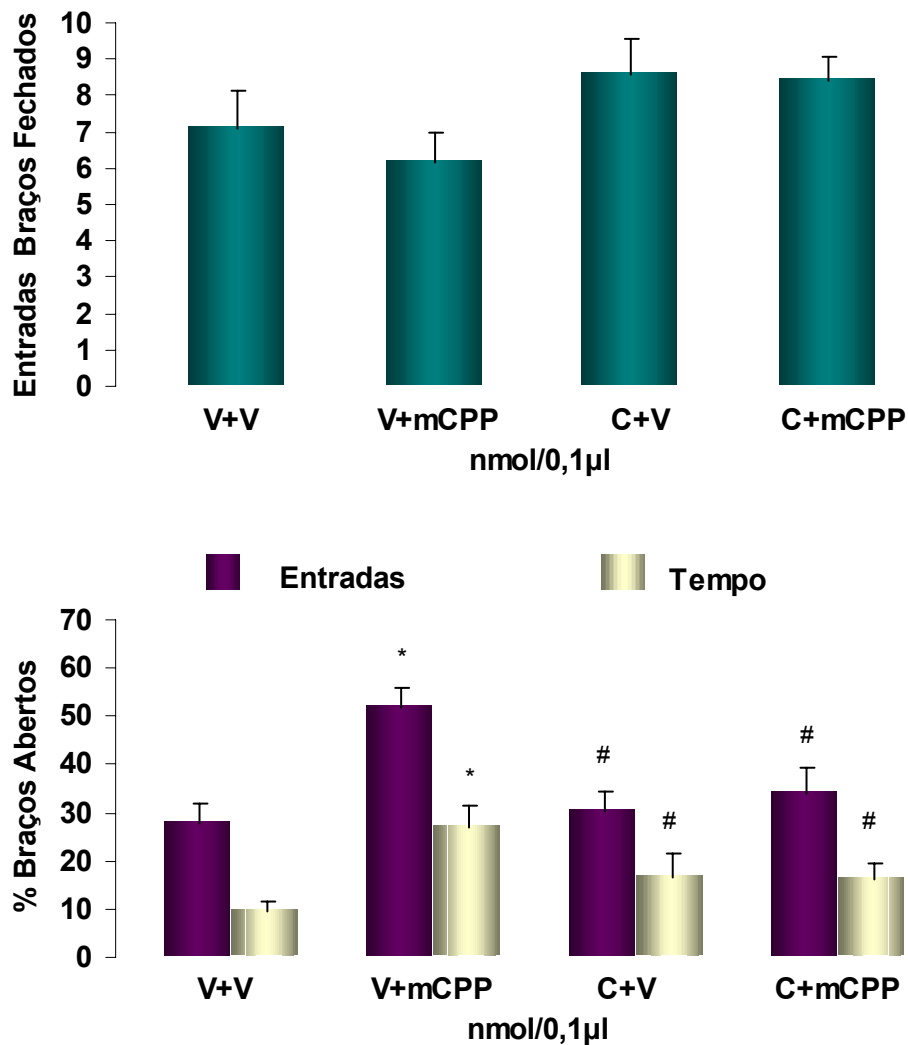
Os dados representam a média  $\pm$  E.P.M. dos demais comportamentos avaliados no LCE. BAs = Braços Abertos; BFs = Braços Fechados; NS = Não Significativo; (n=9-10)

### 6.3 Experimento 3: Injeção combinada de cetanserina (0 ou 10 nmol/0,1 $\mu$ l) e mCPP (0 ou 0,03 nmol/0,1 $\mu$ l)

A Figura 5 mostra os efeitos da injeção combinada de cetanserina (0 e 10 nmol/0,1 $\mu$ l) e mCPP (0 e 0,03 nmol/0,1 $\mu$ l) na SCP de camundongos avaliados no LCE. A ANOVA de dois fatores (fator 1: pré-tratamento e fator 2: tratamento) apontou diferença significativa nas entradas nos braços fechados para o pré-tratamento ( $F_{(1,44)} = 4,65$ ,  $P < 0,05$ ) e ausência de efeitos para o tratamento ( $F_{(1,44)} = 0,17$ ,  $P > 0,05$ ) e para a interação entre pré-tratamento e tratamento ( $F_{(1,44)} = 0,03$ ,  $P > 0,05$ ). O teste de Duncan, porém, não confirmou o efeito nas entradas nos braços fechados para o pré-tratamento ( $P > 0,05$ ), assim como para as demais condições experimentais ( $P > 0,05$ ).

A análise estatística apontou diferenças significativas na porcentagem de entradas nos braços abertos para o pré-tratamento ( $F_{(1,44)} = 3,83$ ,  $P < 0,05$ ) e tratamento ( $F_{(1,44)} = 6,49$ ,  $P <$

0,05) e ausência de efeitos para a interação entre pré-tratamento e tratamento ( $F_{(1,44)} = 2,96$ ,  $P > 0,05$ ). A análise *pós-hoc* revelou aumento significativo na porcentagem de entradas nos braços abertos para o grupo (V+mCPP) em relação ao grupo (V+V) ( $P < 0,05$ ) e diminuição significativa para os grupos (C+V) e (C+mCPP) em relação ao grupo (V+mCPP) ( $P < 0,05$ ). Com relação à porcentagem de tempo gasto nos braços abertos, a ANOVA de dois fatores não apontou diferença significativa com relação ao pré-tratamento ( $F_{(1,44)} = 0,90$ ,  $P > 0,05$ ), mostrando, porém, diferença significativa no tratamento ( $F_{(1,44)} = 8,45$ ,  $P < 0,05$ ) e na interação entre pré-tratamento e tratamento ( $F_{(1,44)} = 9,33$ ,  $P < 0,05$ ). O teste de Duncan revelou aumento na porcentagem de tempo gasto nos braços abertos para o grupo (V+mCPP) em relação ao grupo controle ( $P < 0,05$ ) e diminuição na porcentagem de tempo gasto nos braços abertos para os grupos (C+V) e (C+mCPP) em relação ao grupo (V+mCPP) ( $P < 0,05$ ).



**Figura 5** - Efeito da injeção combinada de cetanserin (0 e 10 nmol/0,1µl) e mCPP (0 e 0,03 nmol/0,1µl) 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= 11-13).

\*  $P < 0,05$  , comparado ao grupo controle (V+V) (ANOVA de duas vias seguida do teste de Duncan).

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

A Tabela 6 mostra os efeitos da injeção combinada de cetanserin (0 e 10 nmol/0,1µl) e mCPP (0 e 0,03 nmol/0,1µl) nos demais comportamentos avaliados no LCE.

A análise estatística revelou diferença significativa para as entradas nos braços abertos com relação ao tratamento ( $F_{(1,44)} = 9,65$ ,  $P < 0,05$ ), mostrando, porém ausência de efeitos com relação ao pré-tratamento ( $F_{(1,44)} = 0,11$ ,  $P > 0,05$ ) e na interação entre pré-tratamento e



tratamento ( $F_{(1,44)} = 2,10, P > 0,05$ ). O teste de Duncan revelou aumento no número de entradas nos braços abertos para o grupo (V+mCPP) em comparação ao grupo (V+V) ( $P < 0,05$ ). No que diz respeito à porcentagem de tempo gasto nos braços fechados, a análise estatística apontou diferença significativa para o tratamento ( $F_{(1,44)} = 4,29, P < 0,05$ ) e para a interação pré-tratamento e tratamento ( $F_{(1,44)} = 5,56, P < 0,05$ ) mostrando ausência de efeito para o pré-tratamento ( $F_{(1,44)} = 0,08, P > 0,05$ ). A análise *pos-hoc* revelou diminuição na porcentagem de tempo gasto nos braços fechados do LCE para os grupos (V+mCPP), (C+V) e (C+mCPP) em relação ao grupo controle ( $P < 0,05$ ).

Com relação aos índices etológicos, a ANOVA de dois fatores indicou diferença significativa para o total de levantamentos no pré-tratamento ( $F_{(1,44)} = 7,46, P < 0,05$ ) e ausência de efeitos para o tratamento ( $F_{(1,44)} = 1,12, P > 0,05$ ) e interação entre pré-tratamento e tratamento ( $F_{(1,44)} = 1,02, P > 0,05$ ). O teste de Duncan revelou aumento no número de levantamentos para o grupo (C+mCPP) em relação ao grupo controle ( $P < 0,05$ ).

Os dados referentes à porcentagem de esticadas protegidas, a despeito de várias transformações, não atingiram o critério de homogeneidade e foram, então, submetidos à análise de variância não-paramétrica. O teste de Kruskal-Wallis seguido do teste de Dunn mostrou diminuição na porcentagem de esticadas protegidas ( $H_{(3,48)} = 8,71, P < 0,05$ ) para o grupo (V+mCPP) em relação ao grupo controle.

A ANOVA de dois fatores não indicou diferença significativa para o total de entradas no pré-tratamento ( $F_{(1,44)} = 1,31, P > 0,05$ ), tratamento ( $F_{(1,44)} = 2,89, P > 0,05$ ) e interação entre pré-tratamento e tratamento ( $F_{(1,44)} = 0,63, P > 0,05$ ). Também não revelou diferença significativa para a porcentagem de tempo no centro no pré-tratamento ( $F_{(1,44)} = 0,11, P > 0,05$ ), tratamento ( $F_{(1,44)} = 0,01, P > 0,05$ ) e interação entre pré-tratamento e tratamento ( $F_{(1,44)} = 0,08, P > 0,05$ ). Com relação ao total de mergulhos, a análise estatística não indicou diferença significativa no pré-tratamento ( $F_{(1,44)} = 1,78, P > 0,05$ ), tratamento ( $F_{(1,44)} = 0,79, P$

> 0,05) e interação entre pré-tratamento e tratamento ( $F_{(1,44)} = 1,66, P > 0,05$ ). Também não apontou diferença na porcentagem de mergulhos protegidos no pré-tratamento ( $F_{(1,44)} = 1,55, P > 0,05$ ), tratamento ( $F_{(1,44)} = 0,51, P > 0,05$ ) e interação entre pré-tratamento e tratamento ( $F_{(1,44)} = 1,27, P > 0,05$ ). Com relação ao total de esticadas, a ANOVA de duas vias não revelou diferença significativa no pré-tratamento ( $F_{(1,44)} = 0,0009, P > 0,05$ ), tratamento ( $F_{(1,44)} = 0,34, P > 0,05$ ) e interação entre pré-tratamento e tratamento ( $F_{(1,44)} = 0,70, P > 0,05$ ). Por fim, a análise estatística não indicou diferença significativa no total de imobilidade no pré-tratamento ( $F_{(1,44)} = 1,36, P > 0,05$ ), tratamento ( $F_{(1,44)} = 1,10, P > 0,05$ ) e interação entre pré-tratamento e tratamento ( $F_{(1,44)} = 1,08, P > 0,05$ ).

**Tabela 6.** Efeito da injeção combinada de cetanserina (0 e 10 nmol/0,1 $\mu$ l) e mCPP (0 e 0,03 nmol/0,1 $\mu$ l) na SCP de camundongos avaliados no LCE.

Comportamentos	V+V	V+mCPP	C+V	C+mCPP
Total de Entradas	9,8 $\pm$ 1,4	12,5 $\pm$ 1,4	12,4 $\pm$ 1,3	13,7 $\pm$ 1,4
Entradas nos BAs	2,7 $\pm$ 0,7	6,3 $\pm$ 0,9*	3,8 $\pm$ 0,7	5,3 $\pm$ 1,1
%Tempo nos BFs	63,6 $\pm$ 5,2	31,7 $\pm$ 3,7*	46,2 $\pm$ 6,2*	47,8 $\pm$ 4,5*
%Tempo no centro	26,9 $\pm$ 4,9	41,4 $\pm$ 5,5	37,0 $\pm$ 6,7	36,0 $\pm$ 4,0
Total de Mergulhos	11,8 $\pm$ 2,2	14,2 $\pm$ 2,0	16,5 $\pm$ 1,6	15,7 $\pm$ 2,2
% Mergulhos Protegidos	78,1 $\pm$ 8,8	65,9 $\pm$ 8,1	80,3 $\pm$ 5,4	58,8 $\pm$ 6,8
Total Esticadas	21,2 $\pm$ 2,7	33,0 $\pm$ 3,8	28,4 $\pm$ 5,1	27,4 $\pm$ 3,6
%Esticadas Protegidas	87,8 $\pm$ 3,3	61,4 $\pm$ 6,5*	75,9 $\pm$ 6,9	67,0 $\pm$ 6,9
Total Levantamentos	7,8 $\pm$ 2,2	6,3 $\pm$ 1,5	10,8 $\pm$ 2,3	15,5 $\pm$ 2,6*
Total Imobilidade	24,0 $\pm$ 13,8	14,1 $\pm$ 7,2	8,1 $\pm$ 6,3	8,0 $\pm$ 4,6

Os dados representam a média  $\pm$  E.P.M. dos demais comportamentos avaliados no LCE. BAs = Braços Abertos; BFs = Braços Fechados; NS = Não Significativo;

\*  $P < 0,05$ , comparado ao grupo controle (ANOVA de duas vias seguida do teste de Duncan).

## 7. DISCUSSÃO

O presente estudo demonstrou que injeções intra-SCP de mCPP, um agonista de receptores 5-HT<sub>2B/2C</sub>, atenuaram, significativamente e seletivamente, os comportamentos relacionados à ansiedade em camundongos expostos ao LCE, e que este efeito foi bloqueado pelo pré-tratamento na SCP com uma dose intrinsecamente inativa de cetanserina, um antagonista preferencial de receptores 5-HT<sub>2A/2C</sub> (Barnes e Sharp,1999). Dessa forma, sugere-se o envolvimento dos receptores 5-HT<sub>2C</sub> da SCP na modulação da ansiedade em camundongos.

A idéia de que a ativação serotoninérgica inicialmente facilitaria a emissão de respostas como medo e ansiedade vem sendo revista em função de resultados obtidos com trabalhos que envolvem injeções de ligantes serotoninérgicos diretamente nos sítios cerebrais (Griebel,1995; Menard e Treit, 1999; Millan,2003). Assim, tem sido proposto um papel dual a esse neurotransmissor com relação à ansiedade, podendo sua ativação resultar tanto em efeitos ansiolíticos, quanto em efeitos ansiogênicos, dependendo do sítio pós-sináptico e/ou do subtipo de receptor envolvido (Deakin e Graeff,1991; Graeff et al,1997; Graeff, 2004; Soares e Zangrossi, 2004).

Esta concepção fornece suporte às inconsistências presentes na literatura a respeito dos efeitos muitas vezes contraditórios de ligantes serotoninérgicos administrados de forma intracerebral e sistêmica (Menard e Treit, 1999). Por exemplo, a administração sistêmica de mCPP, um agonista de receptores 5-HT<sub>2B/2C</sub>, resulta em efeitos ansiogênicos em ratos (Kennett et al, 1989; Shepherd et al,1994; Bilkei-Gorzo et al,1998; Bagdy et al, 2001; Jones et al, 2002) e camundongos (Griebel et al, 1991; Rodgers et al,1992) e induz reações similares a um ataque de pânico em pacientes saudáveis e ansiosos (Mueller et al, 1985; Charney et al, 1987; Benjamin et al,1999; Klein et al, 1991; Sothwick et al, 1997). Efeitos ansiogênicos

consistentes com os observados após injeção sistêmica têm sido relatados após injeções 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. Em camundongos, entretanto, foi constatada ausência de efeitos após injeções de mCPP tanto no hipocampo dorsal, quanto no hipocampo ventral (Cornélio e Nunes-de-Souza, 2007).

Mais inconsistências são observadas após manipulação de receptores do subtipo 5-HT<sub>2</sub> no complexo amigdalóide. Em ratos, injeções de BW 723C86 (agonista receptor 5-HT<sub>2</sub>) na amígdala medial reduziu os índices de ansiedade no teste de interação social e no LCE, efeitos que foram bloqueados pelo antagonista dos receptores 5-HT<sub>2</sub>, SB200646A (Duxon et al, 1997). Contudo, em camundongos, Cornélio e Nunes-de-Souza (2007) demonstraram que injeções intra-amígdala de mCPP resultaram em efeito ansiogênico no LCE, efeito que foi seletivamente e completamente bloqueado pelo antagonista preferencial 5-HT<sub>2C</sub>, SDZ SER 082.

Embora resultados contraditórios da manipulação de receptores serotoninérgicos do hipocampo e amígdala contrastem com os efeitos quase que invariavelmente ansiolíticos no que diz respeito à administração de agonistas 5-HT<sub>1A</sub> e 5-HT<sub>2</sub> na SCP de ratos (Deakin e Graeff, 1991; Graeff et al, 1997; Graeff, 2004), Soares e Zangrossi (2004) verificaram que no Labirinto em T elevado (LTE), injeções intra-SCP de 5-HT podem exercer efeitos bidirecionais no que diz respeito às respostas relacionadas à ansiedade em ratos. Assim, injeções intra-SCP de 5-HT inibiram a fuga dos braços abertos do LTE (efeito panicolítico), enquanto facilitaram a aquisição de esQUIVA inibitória (efeito ansiogênico). Ambos os efeitos foram antagonizados pela administração prévia de cetanserina e SDZ SER 082 (antagonista preferencial 5-HT<sub>2C</sub>).

No experimento 1, injeções intra-SCP de mCPP (principalmente na dose de 0,03 nmol) resultaram em efeito ansiolítico, aumentando as porcentagens de entradas e de tempo gasto nos braços abertos do LCE, índices convencionais de ansiedade, sem alterar a atividade locomotora. Com relação aos índices etológicos, a dose de 0,03 nmol/0,1µl diminuiu as porcentagens de esticar e mergulhar protegido. A mesma dose resultou no aumento do total de esticar e mergulhar, efeitos diretamente relacionados ao aumento no número de incursões aos braços abertos e na quantidade de tempo gasto nestas áreas desprotegidas do aparato.

Apesar dos ansiolíticos frequentemente reduzirem índices como total de esticar, atualmente, o resultado depende do nível da linha de base do comportamento defensivo. Assim, quando o nível basal de defesa é baixo ou moderado (por exemplo, com altos níveis de avaliação de risco), ansiolíticos reduzirão o total de esticar. Entretanto, quando o nível basal de defesa é alto (por exemplo, com inibição de movimento acompanhada de baixos níveis de avaliação de risco), ansiolíticos reduzirão a imobilidade, desinibindo, portanto, o total de esticadas (Blanchard e Blanchard, 1988). É importante notar que o efeito ansiolítico resultante da injeção intra-SCP de mCPP foi obtido sem alteração da atividade locomotora, representada pelas entradas nos braços fechados do LCE (File, 1992; Cruz et al, 1994; Rodgers e Johnson, 1995).

Embora a dose de 0,1 nmol de mCPP tenha resultado no aumento no total de levantamentos, este efeito não foi estatisticamente significativo: embora a média nesta dose seja maior que a média do grupo controle, o erro padrão da média (EPM) é alto, indicando uma inflação (ou aumento) da média neste parâmetro. Além disso, o total de levantamentos não é considerado um índice de ansiedade no LCE, não estando relacionado, portanto, à evitação dos braços abertos e à avaliação de risco (Rodgers e Johnson, 1995).

Deve-se considerar, ainda, que os efeitos das injeções intra-SCP de mCPP não se intensificaram em doses maiores, resultando na atenuação ou perda do efeito ansiolítico obtido

pela menor dose (0,03nmol). Entretanto, deve-se salientar que o mCPP possui alta afinidade pelos receptores 5-HT<sub>2B</sub> e 5-HT<sub>2C</sub> (Barnes e Sharp, 1999). Assim, a atuação do fármaco sobre os dois subtipos de receptores poderia anular sua ação individual (sobre cada subtipo) em doses maiores.

Dessa forma, de maneira geral, os resultados do experimento 1 concordam com relatos da literatura que sugerem o efeito ansiolítico de agonistas de receptores 5-HT<sub>2</sub> em modelos que envolvem respostas aversivas eliciadas pela estimulação química ou elétrica da SCP de ratos (Graeff, 2004; Oliveira et al, 2007).

No experimento 2, a administração do antagonista dos receptores 5-HT<sub>2A/2C</sub> cetanserina (Barnes e Sharp, 1999) na SCP de camundongos não alterou nenhum dos índices convencionais e etológicos avaliados no LCE. Resultados semelhantes foram observados com a administração sistêmica deste composto em ratos (Griebel et al, 1997) e camundongos (Bhattacharya e Acharya, 1993) expostos ao LCE. No que diz respeito à injeção desta substância no sistema nervoso central, como na amígdala, por exemplo, foi observado efeito ansiogênico em ratos avaliados no LCE (Zangrossi e Graeff, 1994).

No experimento 3, o pré-tratamento com uma dose inativa de cetanserina, objetivou esclarecer se o efeito ansiolítico obtido pelo mCPP (0,03 nmol) era devido à ativação de receptores 5-HT<sub>2B</sub> ou 5-HT<sub>2C</sub>. A cetanserina (10 nmol) injetada na SCP (experimento 2) não alterou os índices de ansiedade, tampouco a atividade locomotora de camundongos avaliados no LCE. No experimento 3, entretanto, tendeu a aumentar as entradas nos braços fechados e o total de levantamentos, efeitos, porém, que não foram confirmados após o teste de Duncan. Nesta dose, este antagonista não exerceu qualquer efeito sobre os índices de ansiedade no LCE, sugerindo ausência de regulação tônica da ansiedade nesta região encefálica, o que é consistente com resultado obtido recentemente por Oliveira et al. (2007) usando estimulação cerebral aversiva em ratos. Este fato, contudo, não exclui a possibilidade deste tipo de

regulação tônica via receptores 5-HT<sub>2</sub> estar presente em outros sítios, dado os efeitos ansiogênicos obtidos por Zangrossi e Graeff (1994) após injeção de cetanserina na amígdala de ratos.

Quando administrado isoladamente no experimento 3, o mCPP produziu um padrão similar (embora menos marcante) de efeitos se comparados aos obtidos no experimento 1 (aumento nas entradas nos braços abertos, na porcentagem de entradas e porcentagem de tempo gasto nos braços abertos, sem alteração da atividade locomotora). Embora este composto tenha falhado em alterar significativamente o total de esticadas e o total de mergulhos no experimento 3, ambas as medidas se mostraram aumentadas em relação ao grupo controle. Além disso, o fato do mCPP administrado isoladamente reduzir a porcentagem de tempo gasto nos braços fechados somente no segundo experimento pode ser resultado de um fenômeno dependente de linha de base, dada a elevada quantidade de tempo de permanência nos braços fechados pelo grupo controle no experimento 3. De fato, estas pequenas diferenças com relação à resposta ao mCPP podem ser atribuídas a um nível basal de ansiedade ligeiramente maior no experimento 3, resultado do duplo procedimento de injeção. Contudo, a mais importante descoberta obtida pelo experimento 3 foi a de que o pré-tratamento com cetanserina na SCP bloqueou (porcentagem de entradas nos braços abertos e porcentagem de tempo gasto nos braços abertos) ou atenuou (entradas nos braços abertos, porcentagem de tempo gasto nos braços fechados) os efeitos ansiolíticos do mCPP injetado nesta estrutura. A única exceção aconteceu com relação à porcentagem de esticar protegido, cujo pré-tratamento com cetanserina não bloqueou/atenuou a redução induzida pelo mCPP neste parâmetro, um fenômeno isolado, que no momento, não podemos explicar.

Dado o perfil de afinidade do mCPP (5-HT<sub>2B/2C</sub>) e da cetanserina (5-HT<sub>2A/2C</sub>) (Barnes e Sharp, 1999), seria razoável concluir que os efeitos ansiolíticos obtidos pelo mCPP injetado na SCP seriam devidos à ativação de receptores do subtipo 5-HT<sub>2C</sub>. Como esta hipótese é baseada

em uma inferência farmacológica, sua confirmação necessita de posterior verificação utilizando, assim que possível, ligantes mais seletivos e outros modelos de investigação da ansiedade, como por exemplo o LTE.

Por fim, Canto-de-Souza et al, (2002) demonstraram que injeções 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. 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) de ratos (Hajós et al, 2001), cobaias (Mundey et al, 1996) e gatos (Fornal et al, 1996; Bjorvatn et al, 2000). Como tal, Canto-de-Souza et al (2002), propuseram que injeções de WAY 100 635 intra-NMR leva à atenuação da ansiedade por aumentar a liberação de serotonina em sítios pós-sinápticos. Estes autores afirmaram, ainda, que esta resposta não pode ser atribuída ao aumento da atividade serotoninérgica nos receptores do subtipo 5-HT<sub>1A</sub> e 5-HT<sub>2</sub> do hipocampo e da amígdala, dado o conhecido efeito ansiogênico da serotonina nestes sítios em ratos (Cruz et al, 1994; Alves et al, 2004) e camundongos (Nunes-de-Souza et al, 2000; Nunes-de-Souza et al, 2002; Cornélio e Nunes-de-Souza, 2007). Entretanto, o NMR também envia projeções para a 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).

Dessa forma, como a SCP recebe projeções serotoninérgicas do NMR, pelo menos em ratos (Vertes et al, 1999), o presente estudo é consistente com a idéia de que os efeitos ansiolíticos do WAY 100 635 injetado no NMR é consequência do aumento da liberação de serotonina agindo sobre os receptores 5-HT<sub>2C</sub> da SCP, uma estrutura chave na neurocircuitaria do sistema defensivo.



## 8. CONCLUSÃO

Assim, podemos concluir que:

- A ativação de receptores 5-HT<sub>2B/2C</sub> da SCP de camundongos resulta em efeito ansiolítico no LCE
- A administração prévia na SCP de uma dose inativa de cetanserina, antagonista dos receptores 5-HT<sub>2A/2C</sub> bloqueia o efeito ansiolítico obtido pelo mCPP microinjetado nesta estrutura em camundongos avaliados no LCE.
- Como ambos os fármacos utilizados neste estudo atuam sobre receptores do subtipo 5-HT<sub>2C</sub>, provavelmente, a atenuação da ansiedade na SCP de camundongos pode estar ocorrendo via ativação deste subtipo de receptor.

## 9. REFERÊNCIAS

ABRAMOWSKI, D., RIGO, M., DUC, D., HOYER, D., STAUFENBIEL, M. Localisation of the 5-hydroxytryptamine 2C receptor protein in human and rat brain using specific antisera. **Neuropharmacology**. 34, 1635-1645, 1995.

ADAMEC, R.E., SHALLOW, T. Lasting effects on rodent anxiety of a single exposure to a cat. **Physiology and Behavior**. 54 (1), 101-109, 1993.

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.

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. **Behavioural Pharmacology**. 15, 37-43, 2004.

AMERICAN PSYCHIATRY ASSOCIATION. **Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders 4 ed.** (DSMIII). Washington, USA, 1994.

BAGDY, G., GRAF, M., ANHEUER, Z.E., MODOS, E.A., KANTOR, S. Anxiety-like effects induced by acute fluoxetine, sertraline or mCPP treatment are reversed by pretreatment with the 5-HT<sub>2C</sub> receptor antagonist SB 242084 but not 5-HT<sub>1A</sub> antagonist WAY 100635. **Int. J. Neuropsychopharmacol.** 4, 399-408, 2001.

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.

BANDLER R., DEPAULIS, A. Midbrain periaqueductal grey control of defensive behavior in the cat and in the rat. In: BLANDLER R., DEPAULIS, A. (eds). **The Midbrain**

**Periaqueductal Grey Matter: Funcional, Anatomical and Neurochemical Organization.**

New York, Plenum Press, 175-197, 1991.

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

BHATTACHARYA, S.K., ACHARYA, S.B. Further investigations on the anxiogenic action of asatin. **Biogenic Amines**. 9 (5-6), 453-463, 1993.

BAXTER, G., KENNETT, G., BLANEY, F.,BLACKBURN, T. 5-HT<sub>2</sub> receptor subtypes: a family re-united?. **Trends in Pharmacological Sciences**. 105, 105-110, 1995.

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

BEHBEHANI, M.M. Functional characteristics of the midbrain periaqueductal grey. **Progress in 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.

BENJAMIN, J., GERACI, M., GREENBERG, B.D., MURPHY, D.L. Attenuated response to mCPP and to pentagastrin after repeated mCPP in panic disorder. **Psychopharmacology**. 143, 215-216, 1999.

BILKEI-GORZO, A., GYERTYAN, I., LEVAY, G. mCPP induced anxiety in the light-dark box in rats – a new method for screening anxiolytic activity. **Psychopharmacology**. 139, 291-298, 1998.

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. **European Journal of Pharmacology**. 404, 121-132, 2000.

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.

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., BLANCHARD, D.C. Ethoexperimental approaches to the biology of emotion. **Annu Rev Psychol**. 39, 43-68, 1988.

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, R.J., GRIEBEL, G., HENRIE, J.A., BLANCHARD, D.C. Differentiation of anxiolytic and panicolytic drugs by effects on rat and mouse defense test batteries. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**. 21, 783-789, 1997.

BLIER, P., de MONTIGNY, C. Serotonin and drug-induced therapeutic responses in major depression, obsessive-compulsive and panic disorders. **Neuropsychopharmacology**. 21 (2S), 91-98, 1999.

BONHAUS, D.W., BACH, C., DE SOUZA, A., SALAZAR, R.F.H., MATSOUKA, B.D., ZUPPAN, P., CHAN, H.W., ENGLAN, R.M. The pharmacology and distribution of human 5-hydroxytryptamine 2B (5-HT<sub>2B</sub>) receptor gene products: comparison with 5-HT<sub>2A</sub> and 5-HT<sub>2C</sub> receptors. **Brazilian Journal of Pharmacology**. 115, 622-628, 1995.

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 Biobehavioral 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.

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

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.

CASTILHO, V.M., DE MACEDO, C.E., BRANDÃO, M.L. Role of benzodiazepine and serotonergic mechanisms in conditioned freezing and antinociception using electrical stimulation of the dorsal periaqueductal gray as unconditioned stimulus in rats. **Psychopharmacology**. 165, 77-85, 2002.

CHARNEY, D.S., WOODS, S.W., GOODMAN, W.K., HENINGER, G.R. Serotonin function in anxiety. II Effects of the serotonin agonist mCPP on panic disorders patients and healthy subjects. **Psychopharmacology**. 92, 14-21, 1987.

CHOPIN, P., BRILEY, M. Animal models of anxiety: the effect of compounds that modify serotonergic function. **Trends in Pharmacological Sciences**. 8, 383-388, 1987.

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.

CONNELL, J., GRAEFF, F.G., GUIMARÃES, F.S., HELLEWELL, J.S.E., HETEM, L.A., DEAKIN, J.F. 5-HT<sub>2</sub> receptors and anxiety. **Behavioural Pharmacology**. 6, suppl.1, p.35, 1995.

CORNÉLIO, A. e 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. Anxiolytic effects of 5-HT<sub>3</sub> antagonists in animals. In: WILEY, J. **5-HT<sub>1A</sub> agonists, 5-HT<sub>3</sub> antagonists and benzodiazepines: Their comparative behavioural pharmacology**. Rodgers, R.J., Cooper, S.J. (eds). Chichester, 133-158, 1991.

CRUZ, A.P.M., FREI, F., GRAEFF, F.G. Ethopharmacological analysis of rat behavior on the elevated plus-maze. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**. 49, 171-176, 1994.

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.

DAVE, K.D., HARVEY, J.A., ALOYO, V.J. A novel behavioral model that discriminates between 5-HT<sub>2A</sub> and 5-HT<sub>2C</sub> receptor activation. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**. 72 (1/2), 371-378, 2002.

DEAKIN, J.F.W. e GRAEFF, F.G. 5-HT and mechanisms of defense. **Journal of Psychopharmacology**. 5 (4), 305-315, 1991.

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

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

DUXON, M.S., BECKETT, S.R., BAXTER, G.S., BLACKBURN, T.P., FONE, K.C. Intra-amygdala injection of the 5-HT<sub>2B</sub> receptor agonist BW 723C86 produces anxiolysis on the elevated plus-maze in the rat. **Brazilian Journal of Pharmacology**. 116, p.331, 1995.

DUXON, M.S., FLANIGAN, T.P., REAVLEY, A.C., BAXTER, G.S., BLACKBURN, T.P., FONE, K.C. Evidence for expression of the 5-hydroxytryptamine 2B receptor protein in the neural nervous system. **Neuroscience**. 76, 323-329, 1997.

FACHINI, G. e 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. e 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.

FELDBERG, W., MYERS, R.D. Effects on temperature of amines injected into cerebral ventricles. A new concept of temperature regulation. **J. Physiol. (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 (1), 31-40, 1996.

FILE, S.E. Behavioural detection of anxiolytic action: In: ELLIOT, J.M., HEAL, D.J., MARSDEN, C.A. **Experimental Approaches to anxiety and depression**. J. Willey, Chichester, 25-44, 1992.

FILE, S.E., GONZALEZ, L.E., ANDREWS, N. Comparative study of pre- and postsynaptic 5-HT<sub>1A</sub> receptor modulation of anxiety in two ethological animal tests. **The Journal of neuroscience**. 16 (15), 4810-4815, 1996.

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. **Journal of Pharmacological and Experimental Therapeutics**. 27, 752-762, 1996.

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

GOLDBERG, H.L., FINNERTY, R.J. The comparative efficacy of buspirone and diazepam in the treatment of anxiety. **American Journal of Psychiatric**. 136, 1184-1187, 1979.

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

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. Serotonin, the periaqueductal grey and panic. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**. 3, 239-259, 2004.

GRAEFF, F.G., BRANDÃO, M.L., AUDI, E.A., SCHUTZ, M.T.B. Modulation of the brain aversive system by GABAergic and serotonergic mechanisms. **Behavioural Brain Research**. 21, 65-72, 1986.

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

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



GRIEBEL, G., MISLIN, R., PAWLOWSKI, M., VOGEL, E. m-Chlorophenylpiperazine enhances neophobic and anxious behaviours in mice. **NeuroReport**. 2, 627-629, 1991.

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.

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., RODGERS, R.J., PERRAULT, G., SANGER, D.J. Risk assessment behaviour: evaluation of utility in the study of 5-HT-related drugs in the elevated plus-maze. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, 57, 817-827, 1997.

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. **Neuroscience Letters**. 304, 129-132, 2001.

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

HANDLEY, S. 5-Hydroxytryptamine pathways in anxiety and its treatment. **Pharmacology and Therapeutics**. 66, 103-148, 1995.

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

HOYER, D., CLARKE, D.E., FOZARD, J.R., HARTIG, P.R. MARTIN, G.R., MYLECHARANE, E.J., SAXENA, P.R., HUMPHREY, P.P.A. VII International Union of Pharmacology classification of receptors for 5-hydroxytryptamine (serotonin). **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**. 46, 157-203, 1994.

JONES , N., DUXON, M.S.,KING, S.M. 5-HT<sub>2</sub> receptor mediation of unconditioned escape behaviour in the unstable elevated exposed plus-maze. **Psychopharmacology**. 164, 214-220, 2002.

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

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.

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

KENNETT, G.A., PITTWAY, K., BLACKBURN, T.P. Evidence that 5-HT<sub>2C</sub> receptor antagonists are anxiolytic in the Geller-seifter model of anxiety. **Psychopharmacology**. 114, 90-96, 1994.

KENNETT, G.A., BRIGHT, F., TRAIL, B., BLACKBURN, T.P., SANGER, G.J. Effects of SB 204070A and SB 207266A, selective 5-HT<sub>4</sub> receptor antagonists in three rat models of anxiety. **British Journal of Pharmacology**. 20, p.137, 1997.

KLEIN, E., ZOHAR, J., GERACI, M.F., MURPHY, D.L., UDHE, T.W. Anxiogenic effects of mCPP in patients with panic disorder: comparison with caffeine's anxiogenic effects. **Biol. Psychiatry**. 30, 973-984, 1991.

LADER, M.H. Clinical anxiety and benzodiazepines. In: PALMER, G.C. **Neuropharmacology of Central Nervous System and Behavioral Disorders**. New York, Academic Press, 225-241, 1981.

LEIBOWITZ, S.F., SHOR-POSNER, G. Brain serotonin and eating behavior. **Appetite**. 7 (Suppl), 1-14, 1986.

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 Therapeutics.** 46 (3), 321-340, 1990.

LUCKI, I. 5HT1 receptors and behavior. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews.** 16, 83-93, 1992.

MARUCCI, F.A.F. e CANTO-de-SOUZA, A. Injeção 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. e CANTO-DE-SOUZA, A. Agonista dos receptores 5-HT<sub>3</sub> 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.

MENARD, J., TREIT, D. The septum and hippocampus differentially mediate anxiolytic effects of R(+)-8-OH-DPAT. **Behavioural Pharmacology.** 9 (2), 93-101, 1998.

MENARD, J., TREIT, D. Effects of centrally administered anxiolytic compounds in animal models of anxiety. **Neuroscience and Biohavioral 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. **Progress in Neurobiology.** 70, 83-244, 2003.

MILLAN, M.J., BROCCO, M., GOBERT, A., DEKEYNE, A. Anxiolytic properties of agomelatine, an antidepressant with melatonergic and serotonergic properties: role of 5-HT<sub>2C</sub> receptor blockade. **Psychopharmacology**, 177, 1-12, 2005.

MONTGOMERY, K.C. The relation between fear induced by novel stimulation and exploratory behavior. **Journal of Comparative and Physiological Psychology**. 48, 254-260, 1955.

MUELLER, E.A., MURPHY, D.L., SUNDERLAND, T. Neuroendocrine effects of m-Chlorophenylpiperazine, a serotonin agonist, in humans. **J. Clin. Endocrinol. Metab.** 61, 1179-1184, 1985.

MUNDEY, 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. Pharmacol.** 117, 750-756, 1996.

NIC DHONNCHADHA, B.A., BOURIN, M., HASCOET, M. Anxiolytic-like effects of 5-HT<sub>2</sub> ligands on three mouse models of anxiety. **Behavioural Brain Research**. 203-214, 2003.

NOGUEIRA, R.L., GRAEFF, F.G. 5-HT mediation of the antiaversive effect of isamoltane injected into the dorsal periaqueductal grey. **Behavioural Pharmacology**. 2 (1), 73-77, 1991.

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

NUNES-DE-SOUZA, R.L., CANTO-DE-SOUZA, A., RODGERS, R.J. Effects of intra-hippocampal 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.

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

OLIVEIRA, L.C., BROIA, A.C., DE MACEDO, C.E., LANDEIRA-FERNANDEZ J., BRANDÃO, M.L. 5-HT<sub>2</sub> receptor mechanisms of the dorsal periaqueductal gray in the conditioned and unconditioned fear in rats. **Psychopharmacology**. 191, 253-262, 2007.

PAZOS, A., CORTES, R., PALACIOS, J.M. Quantitative autoradiographic mapping of serotonin receptors in rat brain. II: Serotonin-2 receptors. **Brain Research**. 346, 231-249, 1985.

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

PEREIRA, M.E.C. Conceito de ansiedade. In: HETEM, L.A.B., GRAEFF, F.G. **Transtornos de Ansiedade**. São Paulo: Editora Atheneu, 2004, p.3-28, 2004.

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

PINDER, R.M., WIERINGA, J.H. Third generation antidepressants. **Med Res Rev.**, 13, 259-325, 1993.

POMPEIANO, M., PALACIOS, J.M., MENGOD, G. Distribution of the serotonin 5-HT<sub>2</sub> receptor family mRNAs: comparison between 5-HT<sub>2A</sub> and 5-HT<sub>2C</sub> receptors. **Mol Brain Res**. 23, 163-178, 1994.

RODGERS, R.J., COLE, J.C., COBAIN, M.R., DALY, P., DORAN, P.J., EELLS, J.R., WALLIS, P. Anxiogenic-like effects of fluprazine and eltoprazine in the mouse elevated plus-maze: profile comparisons with 8-OH-DPAT, CGS12066B, TFMPP and mCPP. **Behavioural Pharmacology**. 3, 621-634, 1992.

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

SHARMA, A., PUNHANI, T., FONE, K.C.F. Distribution of the 5-hydroxytryptamine 2C receptor protein adult rat brain and spinal cord determined using a receptor-directed antibody: effect of 5,7-dihydroxytryptamine. **Synapse**. 27, 45-56, 1997.

SHEARD, M.H. The effect of pCPA on behavior in rats: relation to brain serotonin and 5-HIAA. **Brain Research**. 15, 524-528, 1969.

SHEPHERD, J.K., GREWAL, S.S, FLETCHER, A., BILL, D.J. DOURISH, C.T. Behavioural and pharmacological characterization of the elevated zero-maze as an animal model of anxiety. **Psychopharmacology**. 116, 56-64, 1994.

SOARES, V.P., e ZANGROSSI, H., Involvement of 5-HT<sub>1A</sub> and 5-HT<sub>2</sub> receptors of the dorsal periaqueductal gray in the regulation of the defensive behaviors generated by the elevated T-maze. **Brain Research Bulletin**. 64, 181-188, 2004.

SOUTHWICK, S.M., KRYSTAL, J.H., BREMNER, J.D., MORGAN III CA, NICOLAOU, A.L., NAGY L.M. Noradrenergic and serotonergic function in posttraumatic stress disorder. **Arch. Gen. Psychiatry**. 54, 749-758, 1997.

STEPHENS, D.N., MELDRUM, B.S., WEIDMANN, R., SCHNEIDER, C., GRUTSNER, M. Does the excitatory amino acid receptor antagonist 3-APH exhibit anxiolytic activity? **Psychopharmacology**. 90, 166-169, 1986.

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

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

VERTES, R.P., FORTIN, W.J., CRANE, A.M. Projections of the median raphe nucleus in the rat. **Journal Comp Neurolo.** 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.

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

WRIGHT, D.E., SERROGY, K.B., LUNDGREN, K.H., DAVIS, B.M., JENNES, L. Comparative localization of serotonin 1A, 1C and 2 receptor subtype mRNAs in rat brain. **J. Comp. Neurol.** 351, 357-373, 1995.

ZANGROSSI, H., GRAEFF, F.G. Behavioral effects of intra-amygdala injections of GABA and 5-HT acting drugs in the elevated plus-maze. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**. 27. 2453-2456, 1994.

ZANGROSSI, H., VIANA, M.B., ZANOVELI, J., BUENO, C., NOGUEIRA, R.L. Serotonergic regulation of inhibitory avoidance and one-way escape in the rat elevated T-maze. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**. 25, 637-645, 2001.

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

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

## 10. APÊNCICE

**Quadro 1:** Registro das medidas convencionais em camundongos submetidos ao LCE após injeção intra-SCP de mCPP (0, 0,03, 0,1 e 0,3 nmol/0,1µl).

### Salina

Sujeito	TE	EBA	EBF	TBA	TBF	TC	%EBA	%EBF	%TBA	%TBF	%TC
1	12	4	8	108	99	93	33,33	66,67	36,00	33,00	31,00
2	6	2	4	25	157	118	33,33	66,67	8,33	52,33	39,34
3	10	3	7	16	183	101	30,00	70,00	5,33	61,00	33,67
4	9	3	6	14	154	132	33,33	66,67	4,66	51,33	44,01
5	5	1	4	33	245	22	20,00	80,00	11,00	81,66	7,34
6	11	3	8	58	147	95	27,27	72,73	19,33	49,00	31,67
7	5	2	3	34	258	8	40,00	60,00	11,33	86,00	2,67
8	10	6	4	89	114	186	60,00	40,00	29,66	38,00	32,34
9	7	0	7	0	150	150	0,00	100,00	0,00	50,00	50,00
10	8	4	4	43	66	191	50,00	50,00	14,33	22,00	63,67
<b>Média</b>	<b>8,30</b>	<b>2,80</b>	<b>5,50</b>	<b>42,00</b>	<b>157,30</b>	<b>109,60</b>	<b>32,73</b>	<b>67,27</b>	<b>14,00</b>	<b>52,43</b>	<b>33,57</b>
<b>DPM</b>	<b>2,50</b>	<b>1,69</b>	<b>1,90</b>	<b>34,12</b>	<b>59,88</b>	<b>60,76</b>	<b>16,22</b>	<b>16,22</b>	<b>11,37</b>	<b>19,96</b>	<b>18,17</b>
<b>EPM</b>	<b>0,79</b>	<b>0,53</b>	<b>0,60</b>	<b>10,79</b>	<b>18,94</b>	<b>19,21</b>	<b>5,13</b>	<b>5,13</b>	<b>3,60</b>	<b>6,31</b>	<b>5,75</b>

### mCPP 0,03 nmol

Sujeito	TE	EBA	EBF	TBA	TBF	TC	%EBA	%EBF	%TBA	%TBF	%TC
1	12	8	4	123	47	130	66,66	33,34	41,00	15,66	43,34
2	16	10	6	139	58	103	62,50	37,50	46,33	19,33	34,34
3	14	6	8	102	105	93	42,85	57,15	34,00	35,00	31,00
4	11	4	7	91	128	81	36,37	63,63	30,33	42,66	27,01
5	6	4	2	67	169	64	66,66	33,34	22,33	56,33	21,34
6	10	5	5	118	93	89	50,00	50,00	39,33	31,00	29,67
7	14	10	4	162	65	73	71,42	28,58	54,00	21,66	24,34
8	20	14	6	141	58	101	70,00	30,00	47,00	19,33	33,67
9	10	5	5	38	114	148	50,00	50,00	12,66	38,00	49,34
10	11	3	8	37	108	155	27,27	72,73	12,33	36,00	51,67
<b>Média</b>	<b>12,40</b>	<b>6,90</b>	<b>5,50</b>	<b>101,80</b>	<b>94,50</b>	<b>103,70</b>	<b>54,37</b>	<b>45,63</b>	<b>33,93</b>	<b>31,50</b>	<b>34,57</b>
<b>DPM</b>	<b>3,84</b>	<b>3,51</b>	<b>1,90</b>	<b>43,27</b>	<b>38,21</b>	<b>31,02</b>	<b>15,39</b>	<b>15,39</b>	<b>14,43</b>	<b>12,74</b>	<b>10,34</b>
<b>EPM</b>	<b>1,21</b>	<b>1,11</b>	<b>0,60</b>	<b>13,68</b>	<b>12,08</b>	<b>9,81</b>	<b>4,87</b>	<b>4,87</b>	<b>4,56</b>	<b>4,03</b>	<b>3,27</b>



**mCPP 0,1 nmol**

<b>Sujeito</b>	<b>TE</b>	<b>EBA</b>	<b>EBF</b>	<b>TBA</b>	<b>TBF</b>	<b>TC</b>	<b>%EBA</b>	<b>%EBF</b>	<b>%TBA</b>	<b>%TBF</b>	<b>%TC</b>
1	5	2	3	171	60	69	40,00	60,00	57,00	20,00	23,00
2	11	5	6	175	72	53	45,45	54,55	58,33	24,00	17,67
3	10	4	6	50	165	85	40,00	60,00	16,66	55,00	28,34
4	15	6	9	20	222	58	40,00	60,00	6,66	74,00	19,34
5	12	4	8	50	165	85	33,33	66,67	16,66	55,00	28,34
6	5	2	3	117	132	51	40,00	60,00	39,00	44,00	17,00
7	10	3	7	22	81	197	30,00	70,00	7,33	27,00	65,67
8	21	12	9	107	122	71	57,14	42,86	35,66	40,66	23,68
9	12	8	4	130	110	60	66,66	33,34	43,33	36,66	20,01
<b>Média</b>	<b>11,22</b>	<b>5,11</b>	<b>6,11</b>	<b>93,56</b>	<b>125,44</b>	<b>81,00</b>	<b>43,62</b>	<b>56,38</b>	<b>31,18</b>	<b>41,81</b>	<b>27,01</b>
<b>DPM</b>	<b>4,89</b>	<b>3,22</b>	<b>2,37</b>	<b>60,22</b>	<b>52,27</b>	<b>45,26</b>	<b>11,52</b>	<b>11,52</b>	<b>20,08</b>	<b>17,42</b>	<b>15,09</b>
<b>EPM</b>	<b>1,63</b>	<b>1,07</b>	<b>0,79</b>	<b>20,07</b>	<b>17,42</b>	<b>15,09</b>	<b>3,84</b>	<b>3,84</b>	<b>6,69</b>	<b>5,81</b>	<b>5,03</b>

**mCPP 0,3 nmol**

<b>Sujeito</b>	<b>TE</b>	<b>EBA</b>	<b>EBF</b>	<b>TBA</b>	<b>TBF</b>	<b>TC</b>	<b>%EBA</b>	<b>%EBF</b>	<b>%TBA</b>	<b>%TBF</b>	<b>%TC</b>
1	5	3	2	124	36	140	60,00	40,00	41,33	12,00	46,67
2	13	5	8	32	91	177	38,46	61,54	10,66	30,33	59,01
3	11	6	5	77	127	96	54,54	45,46	25,66	42,33	32,01
4	7	1	6	41	161	98	14,28	85,72	13,66	53,66	32,68
5	11	4	7	60	180	60	36,36	63,64	20,00	60,00	20,00
6	14	4	10	85	92	123	28,57	71,43	28,33	30,66	58,99
7	6	1	5	30	203	67	16,66	83,34	10,00	67,66	22,34
8	4	1	3	5	278	17	25,00	75,00	1,66	92,66	5,68
9	10	6	4	107	65	128	60,00	40,00	35,66	21,66	42,68
10	6	1	5	5	101	194	16,66	83,34	1,66	33,66	64,68
11	9	5	4	132	70	98	55,55	44,45	44,00	23,33	31,67
12	4	1	3	139	73	88	25,00	75,00	46,33	24,33	29,34
13	7	4	3	38	70	192	42,85	57,15	12,66	23,33	64,01
<b>Média</b>	<b>8,23</b>	<b>3,23</b>	<b>5,00</b>	<b>67,31</b>	<b>119,00</b>	<b>113,69</b>	<b>36,46</b>	<b>63,54</b>	<b>22,43</b>	<b>39,66</b>	<b>39,21</b>
<b>DPM</b>	<b>3,35</b>	<b>2,01</b>	<b>2,27</b>	<b>47,02</b>	<b>68,58</b>	<b>52,80</b>	<b>16,94</b>	<b>16,94</b>	<b>15,67</b>	<b>22,86</b>	<b>18,58</b>
<b>EPM</b>	<b>0,93</b>	<b>0,56</b>	<b>0,63</b>	<b>13,04</b>	<b>19,02</b>	<b>14,64</b>	<b>4,70</b>	<b>4,70</b>	<b>4,35</b>	<b>6,34</b>	<b>5,15</b>

**Quadro 2:** Registro das medidas etológicas em camundongos submetidos ao LCE após injeção intra-SCP de mCPP (0, 0,03, 0,1 e 0,3 nmol/0,1µl).

### Salina

Sujeito	% ESTICADAS			% MERGULHOS			LEVANTAMENTOS	IMOBILIDADE
	Total	Prot.	Desp.	Total	Prot.	Desp.	Total	Total
1	4	50,00	50,00	5	60,00	40,00	1	60
2	18	72,23	27,77	3	100,00	0,00	1	105
3	12	75,00	25,00	11	91,00	9,09	2	25
4	21	88,00	12,00	7	100,00	0,00	1	12
5	13	100,00	0,00	6	100,00	0,00	10	45
6	27	56,00	44,00	2	100,00	0,00	0	7
7	13	69,00	31,00	7	29,00	71,00	6	18
8	11	36,00	64,00	15	73,00	27,00	5	3
9	17	100,00	0,00	15	100,00	0,00	9	0
10	23	74,00	26,00	19	62,00	37,00	5	0
<b>Média</b>	<b>15,90</b>	<b>72,02</b>	<b>27,98</b>	<b>9,00</b>	<b>81,50</b>	<b>18,41</b>	<b>4,00</b>	<b>27,50</b>
<b>DPM</b>	<b>6,69</b>	<b>20,77</b>	<b>20,77</b>	<b>5,72</b>	<b>24,66</b>	<b>24,57</b>	<b>3,56</b>	<b>33,73</b>
<b>EPM</b>	<b>2,12</b>	<b>6,57</b>	<b>6,57</b>	<b>1,81</b>	<b>7,80</b>	<b>7,77</b>	<b>1,13</b>	<b>10,67</b>

### mCPP 0,03 nmol

Sujeito	% ESTICADAS			% MERGULHOS			LEVANTAMENTOS	IMOBILIDADE
	Total	Prot.	Desp.	Total	Prot.	Desp.	Total	Total
1	9	66,66	33,34	15	33,33	66,67	0	37
2	22	31,81	68,19	21	52,38	47,62	8	0
3	38	26,31	73,69	25	80,00	20,00	13	0
4	28	53,57	43,43	13	42,85	57,15	11	0
5	28	64,28	35,72	10	60,00	40,00	1	18
6	24	58,00	42,00	10	50,00	50,00	7	22
7	15	20,00	80,00	14	57,14	42,86	9	0
8	26	38,00	62,00	17	35,29	64,71	1	3
9	20	65,00	35,00	10	80,00	20,00	7	0
10	34	61,70	38,20	9	77,77	22,23	3	0
<b>Média</b>	<b>24,40</b>	<b>48,53</b>	<b>51,16</b>	<b>14,40</b>	<b>56,88</b>	<b>43,12</b>	<b>6,31</b>	<b>8,00</b>
<b>DPM</b>	<b>8,54</b>	<b>17,75</b>	<b>17,87</b>	<b>5,30</b>	<b>17,64</b>	<b>17,64</b>	<b>4,52</b>	<b>13,11</b>
<b>EPM</b>	<b>2,70</b>	<b>5,61</b>	<b>5,65</b>	<b>1,67</b>	<b>5,58</b>	<b>5,58</b>	<b>1,51</b>	<b>4,14</b>

## mCPP 0,1 nmol

Sujeito	% ESTICADAS			% MERGULHOS			LEVANTAMENTOS	IMOBILIDADE
	Total	Prot.	Desp.	Total	Prot.	Desp.	Total	Total
1	5	80,00	20,00	4	75,00	25,00	1	104
2	33	57,58	42,42	7	57,15	42,85	5	0
3	8	75,00	25,00	8	100,00	0,00	3	100
4	20	80,00	20,00	3	100,00	0,00	3	55
5	22	50,00	50,00	12	91,67	8,33	18	0
6	21	42,85	57,15	9	55,56	44,44	3	50
7	25	84,00	16,00	11	81,81	18,19	5	0
8	25	20,00	80,00	15	46,66	53,34	20	0
9	14	37,71	64,29	12	41,66	58,34	13	0
<b>Média</b>	<b>19,22</b>	<b>58,57</b>	<b>41,65</b>	<b>9,00</b>	<b>72,17</b>	<b>27,83</b>	<b>7,89</b>	<b>34,33</b>
<b>DPM</b>	<b>8,83</b>	<b>22,58</b>	<b>22,82</b>	<b>3,94</b>	<b>22,68</b>	<b>22,68</b>	<b>7,17</b>	<b>44,35</b>
<b>EPM</b>	<b>2,94</b>	<b>7,53</b>	<b>7,61</b>	<b>1,31</b>	<b>7,56</b>	<b>7,56</b>	<b>2,39</b>	<b>14,78</b>

## mCPP 0,3 nmol

Sujeito	% ESTICADAS			% MERGULHOS			LEVANTAMENTOS	IMOBILIDADE
	Total	Prot.	Desp.	Total	Prot.	Desp.	Total	Total
1	1	100,00	0,00	0	0,00	0,00	1	52
2	15	93,34	6,66	15	73,34	26,66	1	14
3	19	47,36	52,64	9	22,22	77,78	1	0
4	8	100,00	0,00	5	80,00	20,00	2	142
5	16	37,50	62,50	11	0,00	0,00	10	0
6	17	76,48	23,52	5	60,00	40,00	5	30
7	19	78,95	21,05	7	71,43	28,57	15	40
8	4	100,00	0,00	0	0,00	0,00	7	206
9	21	28,57	71,43	18	55,56	44,44	6	0
10	20	95,00	5,00	18	94,45	5,55	3	45
11	16	30,00	70,00	10	60,00	40,00	6	30
12	2	50,00	50,00	8	62,50	37,50	5	89
13	6	83,34	16,66	8	50,00	50,00	10	26
<b>Média</b>	<b>12,62</b>	<b>70,81</b>	<b>29,19</b>	<b>8,77</b>	<b>48,42</b>	<b>28,50</b>	<b>5,33</b>	<b>51,85</b>
<b>DPM</b>	<b>7,31</b>	<b>28,06</b>	<b>28,06</b>	<b>5,79</b>	<b>32,28</b>	<b>23,33</b>	<b>4,22</b>	<b>60,95</b>
<b>EPM</b>	<b>2,03</b>	<b>7,78</b>	<b>7,78</b>	<b>1,61</b>	<b>8,95</b>	<b>6,47</b>	<b>1,12</b>	<b>16,90</b>

**Quadro 3:** Registro das medidas convencionais em camundongos submetidos ao LCE após injeção intra-SCP de cetanserina (0 e 10 nmol/0,1µl).

### Controle

Sujeito	TENT	EBA	EBF	TBA	TBF	TC	%EBA	%EBF	%TBA	%TBF	%TC
1	11	6	5	11	207	82	54,54	45,46	3,67	69,00	27,33
2	6	3	3	211	47	42	50,00	50,00	70,33	15,67	14,00
3	3	1	2	28	246	26	33,33	66,67	9,33	82,00	8,67
4	2	1	1	28	100	172	50,00	50,00	9,33	33,34	57,33
5	6	2	4	13	247	40	33,33	66,67	4,33	82,33	13,34
6	11	4	7	46	98	156	36,36	63,64	15,33	32,67	52,00
7	2	1	1	149	43	108	50,00	50,00	49,67	14,33	36,00
8	9	3	6	27	133	140	33,33	66,67	9,00	44,33	46,67
9	21	10	11	73	104	123	47,62	52,38	24,33	34,67	41,00
10	7	3	4	213	59	28	42,86	57,14	71,00	19,67	9,33
<b>Média</b>	<b>7,80</b>	<b>3,40</b>	<b>4,40</b>	<b>79,90</b>	<b>128,40</b>	<b>91,70</b>	<b>43,14</b>	<b>56,86</b>	<b>26,63</b>	<b>42,80</b>	<b>30,57</b>
<b>DPM</b>	<b>5,71</b>	<b>2,80</b>	<b>3,06</b>	<b>80,47</b>	<b>78,28</b>	<b>55,55</b>	<b>8,34</b>	<b>8,34</b>	<b>26,82</b>	<b>26,09</b>	<b>18,52</b>
<b>EPM</b>	<b>1,81</b>	<b>0,88</b>	<b>0,97</b>	<b>25,45</b>	<b>24,76</b>	<b>17,57</b>	<b>2,64</b>	<b>2,64</b>	<b>8,48</b>	<b>8,25</b>	<b>5,86</b>

### Cetanserina 10 nmol

Sujeito	TENT	EBA	EBF	TBA	TBF	TC	%EBA	%EBF	%TBA	%TBF	%TC
1	12	3	9	32	171	97	25,00	75,00	10,67	57,00	32,33
2	2	1	1	5	3	292	50,00	50,00	1,67	1,00	97,33
3	7	1	6	14	241	45	14,29	85,71	4,67	80,33	15,00
4	17	3	14	7	109	184	17,65	82,35	2,34	36,33	61,33
5	9	3	6	11	113	176	33,33	66,67	3,67	37,67	58,66
6	3	1	2	23	14	263	33,33	66,67	7,67	4,66	87,67
7	3	2	1	161	2	137	66,67	33,33	53,67	0,67	45,66
8	14	3	11	50	183	67	15,79	84,21	16,67	61,00	22,33
9	13	6	7	94	134	72	46,15	53,85	31,33	44,67	24,00
<b>Média</b>	<b>8,89</b>	<b>2,56</b>	<b>6,33</b>	<b>44,11</b>	<b>107,78</b>	<b>148,11</b>	<b>33,58</b>	<b>66,42</b>	<b>14,71</b>	<b>35,93</b>	<b>49,37</b>
<b>DPM</b>	<b>5,46</b>	<b>1,59</b>	<b>4,53</b>	<b>52,07</b>	<b>85,94</b>	<b>87,83</b>	<b>17,81</b>	<b>17,81</b>	<b>17,36</b>	<b>28,65</b>	<b>29,28</b>
<b>EPM</b>	<b>1,82</b>	<b>0,53</b>	<b>1,51</b>	<b>17,36</b>	<b>28,65</b>	<b>29,28</b>	<b>5,94</b>	<b>5,94</b>	<b>5,79</b>	<b>9,55</b>	<b>9,76</b>

**Quadro 4:** Registro das medidas etológicas em camundongos submetidos ao LCE após injeção intra-SCP de cetanserina (0 e 10 nmol/0,1µl).

### Controle

Sujeito	% ESTICADAS			% Mergulhos			LEVANTAMENTOS	IMOBILIDADE
	Total	Prot.	Des.	Total	Prot.	Des.	Total	Total
1	26	80,77	19,23	10	80,00	20,00	6	37
2	8	50,00	50,00	8	25,00	75,00	1	50
3	6	83,33	16,67	4	0,00	100,00	5	103
4	9	100,00	0,00	8	100,00	0,00	3	102
5	12	83,33	16,67	6	83,33	16,67	9	50
6	24	58,33	41,67	14	64,28	35,72	12	0
7	14	50,00	50,00	9	22,22	77,78	2	105
8	21	85,71	14,29	8	87,50	12,50	11	12
9	33	51,51	48,49	12	31,25	68,75	21	0
10	24	29,17	70,83	9	44,44	55,56	2	94
<b>Média</b>	<b>17,70</b>	<b>67,22</b>	<b>32,79</b>	<b>8,80</b>	<b>53,80</b>	<b>46,20</b>	<b>7,20</b>	<b>55,30</b>
<b>DPM</b>	<b>9,10</b>	<b>22,33</b>	<b>22,33</b>	<b>2,82</b>	<b>33,76</b>	<b>33,76</b>	<b>6,21</b>	<b>43,21</b>
<b>EPM</b>	<b>2,88</b>	<b>7,06</b>	<b>7,06</b>	<b>0,89</b>	<b>10,67</b>	<b>10,67</b>	<b>1,97</b>	<b>13,67</b>

### Cetanserina 10 nmol

Sujeito	% ESTICADAS			% Mergulhos			LEVANTAMENTOS	IMOBILIDADE
	Total	Prot.	Des.	Total	Prot.	Des.	Total	Total
1	22	94,45	4,55	11	63,64	36,36	14	0
2	16	93,75	6,25	8	100,00	0,00	0	120
3	19	100,00	0,00	4	75,00	25,00	4	0
4	13	92,31	7,69	19	100,00	0,00	4	0
5	13	92,31	7,69	17	94,12	5,88	10	19
6	17	88,23	11,77	10	90,00	10,00	1	76
7	8	87,50	12,50	11	45,45	54,55	0	103
8	21	42,86	57,14	6	83,33	16,67	14	0
9	19	31,58	68,42	13	30,77	69,23	12	10
<b>Média</b>	<b>16,44</b>	<b>80,33</b>	<b>19,56</b>	<b>11,00</b>	<b>75,81</b>	<b>24,19</b>	<b>6,56</b>	<b>36,44</b>
<b>DPM</b>	<b>4,48</b>	<b>24,87</b>	<b>24,94</b>	<b>4,85</b>	<b>24,65</b>	<b>24,65</b>	<b>5,94</b>	<b>49,11</b>
<b>EPM</b>	<b>1,49</b>	<b>8,29</b>	<b>8,31</b>	<b>1,62</b>	<b>8,22</b>	<b>8,22</b>	<b>1,98</b>	<b>16,37</b>

**Quadro 5:** Registro das medidas convencionais em camundongos submetidos ao LCE após injeção combinada de cetanserina (10 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	11	1	10	14	208	78	9,09	90,91	4,66	69,33	26,01
2	4	1	3	65	204	31	25,00	75,00	21,66	68,00	10,34
3	10	1	9	10	251	39	10,00	90,00	3,33	83,66	13,01
4	10	3	7	16	183	101	30,00	70,00	5,33	61,00	33,67
5	9	3	6	14	154	132	33,33	66,67	4,66	51,33	44,01
6	5	1	4	33	245	22	20,00	80,00	11,00	81,66	7,34
7	17	3	14	8	159	133	17,64	82,36	2,66	53,00	44,34
8	12	4	8	67	159	74	33,33	66,67	22,33	53,00	24,67
9	18	9	9	47	121	132	50,00	50,00	15,66	40,33	44,01
1	8	2	6	32	134	134	25,00	75,00	10,66	44,66	44,68
11	4	2	2	6	282	12	50,00	50,00	2,00	94,00	4,00
<b>Média</b>	<b>9,82</b>	<b>2,73</b>	<b>7,09</b>	<b>28,36</b>	<b>190,91</b>	<b>80,73</b>	<b>27,58</b>	<b>72,42</b>	<b>9,45</b>	<b>63,63</b>	<b>26,92</b>
<b>DPM</b>	<b>4,69</b>	<b>2,33</b>	<b>3,45</b>	<b>22,44</b>	<b>51,85</b>	<b>48,66</b>	<b>13,78</b>	<b>13,78</b>	<b>7,48</b>	<b>17,28</b>	<b>16,22</b>
<b>EPM</b>	<b>1,41</b>	<b>0,70</b>	<b>1,04</b>	<b>6,77</b>	<b>15,63</b>	<b>14,67</b>	<b>4,15</b>	<b>4,15</b>	<b>2,25</b>	<b>5,21</b>	<b>4,89</b>

### Veículo + mCPP (V+mCPP)

Sujeito	TE	EBA	EBF	TBA	TBF	TC	%EBA	%EBF	%TBA	%TBF	%TC
1	14	4	10	23	119	158	28,57	71,43	7,66	39,66	52,68
2	4	3	1	14	26	260	75,00	25,00	4,66	8,66	86,66
3	9	3	6	25	113	162	33,33	66,67	8,33	37,66	54,01
4	12	8	4	123	47	130	66,66	33,34	41,00	15,66	43,34
5	16	10	6	139	58	103	62,50	37,50	46,33	19,33	34,34
6	14	6	8	102	105	93	42,85	57,15	34,00	35,00	31,00
7	11	4	7	91	128	81	36,37	63,63	30,33	42,66	27,01
8	6	4	2	67	169	64	66,66	33,34	22,33	56,33	21,34
9	19	11	8	66	80	154	57,89	42,11	22,00	26,66	51,34
10	15	8	7	165	93	42	53,33	46,67	55,00	31,00	14,00
11	21	11	10	91	99	110	52,38	47,62	30,33	33,00	36,67
12	9	4	5	61	106	133	44,44	55,56	20,33	35,33	44,34
<b>Média</b>	<b>12,50</b>	<b>6,33</b>	<b>6,17</b>	<b>80,58</b>	<b>95,25</b>	<b>124,17</b>	<b>51,67</b>	<b>48,34</b>	<b>26,86</b>	<b>31,75</b>	<b>41,39</b>
<b>DPM</b>	<b>5,04</b>	<b>3,11</b>	<b>2,82</b>	<b>47,32</b>	<b>38,57</b>	<b>57,12</b>	<b>14,73</b>	<b>14,73</b>	<b>15,78</b>	<b>12,86</b>	<b>19,04</b>
<b>EPM</b>	<b>1,45</b>	<b>0,90</b>	<b>0,81</b>	<b>13,66</b>	<b>11,13</b>	<b>16,49</b>	<b>4,25</b>	<b>4,25</b>	<b>4,55</b>	<b>3,71</b>	<b>5,50</b>

**Cetanserina + Veículo (C+V)**

<b>Sujeito</b>	<b>TE</b>	<b>EBA</b>	<b>EBF</b>	<b>TBA</b>	<b>TBF</b>	<b>TC</b>	<b>%EBA</b>	<b>%EBF</b>	<b>%TBA</b>	<b>%TBF</b>	<b>%TC</b>
1	12	1	11	5	181	114	8,33	91,67	1,66	60,33	38,00
2	19	7	12	75	164	61	36,84	63,16	25,00	54,66	20,33
3	14	2	12	17	220	63	14,28	85,72	5,66	73,33	21,00
4	11	4	7	118	173	9	36,36	63,64	39,33	57,66	3,00
5	13	8	5	163	63	74	61,53	38,50	54,33	21,00	24,70
6	12	3	9	32	171	97	25,00	75,00	10,67	57,00	32,33
7	7	1	6	14	241	45	14,29	85,71	4,67	80,33	15,00
8	17	3	14	7	109	184	17,65	82,35	2,34	36,33	61,33
9	9	3	6	11	113	176	33,33	66,67	3,67	37,67	58,66
10	3	1	2	23	14	263	33,33	66,67	7,67	4,66	87,67
11	16	7	9	76	115	109	43,75	56,25	25,33	38,33	36,34
12	16	6	10	61	101	138	37,50	62,50	20,33	33,66	46,01
<b>Média</b>	<b>12,42</b>	<b>3,83</b>	<b>8,58</b>	<b>50,17</b>	<b>138,75</b>	<b>111,08</b>	<b>30,18</b>	<b>69,82</b>	<b>16,72</b>	<b>46,25</b>	<b>37,03</b>
<b>DPM</b>	<b>4,52</b>	<b>2,55</b>	<b>3,48</b>	<b>50,13</b>	<b>65,04</b>	<b>70,41</b>	<b>15,04</b>	<b>15,04</b>	<b>16,71</b>	<b>21,68</b>	<b>23,47</b>
<b>EPM</b>	<b>1,31</b>	<b>0,74</b>	<b>1,00</b>	<b>14,47</b>	<b>18,78</b>	<b>20,32</b>	<b>4,34</b>	<b>4,34</b>	<b>4,82</b>	<b>6,26</b>	<b>6,77</b>

**Cetanserina + mCPP (C+mCPP)**

<b>Sujeito</b>	<b>TE</b>	<b>EBA</b>	<b>EBF</b>	<b>TBA</b>	<b>TBF</b>	<b>TC</b>	<b>%EBA</b>	<b>%EBF</b>	<b>%TBA</b>	<b>%TBF</b>	<b>%TC</b>
1	11	6	5	23	76	201	54,55	45,45	7,66	25,33	67,01
2	11	3	8	20	237	43	27,27	72,73	6,66	79,00	14,33
3	18	4	14	22	221	57	22,22	77,78	7,33	73,66	19,01
4	19	11	8	109	89	102	57,90	42,10	36,33	29,66	34,00
5	22	13	9	109	102	89	59,00	41,00	36,33	34,00	29,67
6	8	1	7	34	113	153	12,50	87,50	11,33	37,66	51,00
7	21	10	11	78	137	85	47,61	52,39	26,33	45,66	28,01
8	12	5	7	86	130	84	41,66	58,34	28,66	43,33	28,01
9	19	8	11	60	123	117	42,10	57,90	20,00	41,00	39,00
10	10	2	8	20	146	134	20,00	80,00	6,66	48,66	44,68
11	9	2	7	22	127	151	22,22	77,78	7,33	42,33	50,34
12	11	4	7	47	174	79	36,36	63,64	15,66	58,00	26,34
13	7	0	7	0	190	110	0,00	100,00	0,00	63,33	36,67
<b>Média</b>	<b>13,69</b>	<b>5,31</b>	<b>8,38</b>	<b>48,46</b>	<b>143,46</b>	<b>108,08</b>	<b>34,11</b>	<b>65,89</b>	<b>16,18</b>	<b>47,82</b>	<b>36,01</b>
<b>DPM</b>	<b>5,28</b>	<b>4,07</b>	<b>2,36</b>	<b>36,48</b>	<b>49,11</b>	<b>43,26</b>	<b>18,42</b>	<b>18,42</b>	<b>12,18</b>	<b>16,37</b>	<b>14,43</b>
<b>EPM</b>	<b>1,46</b>	<b>1,13</b>	<b>0,66</b>	<b>10,12</b>	<b>13,62</b>	<b>12,00</b>	<b>5,11</b>	<b>5,11</b>	<b>3,38</b>	<b>4,54</b>	<b>4,00</b>

**Quadro 6:** Registro das medidas etológicas em camundongos submetidos ao LCE após injeção combinada de cetanserina (10 nmol/0,1µl) e mCPP (0,03 nmol/0,1µl) na SCP.

### Controle (V+V)

Sujeito	% ESTICADAS			% MERGULHOS			LEVANTAMENTOS	IMOBILIDADE
	Total	Prot.	Des.	Total	Prot.	Des.	Total	Total
1	33	90,90	9,10	15	86,60	13,40	19	0
2	23	86,90	13,10	12	75,00	25,00	0	12
3	29	93,10	6,90	8	75,00	25,00	10	14
4	12	75,00	25,00	11	91,00	9,09	2	25
5	21	88,00	12,00	7	100,00	0,00	1	12
6	13	100,00	0,00	6	100,00	0,00	10	45
7	32	96,87	3,13	10	100,00	0,00	23	0
8	25	64,00	36,00	13	61,53	48,47	2	0
9	20	80,00	20,00	28	100,00	0,00	9	0
10	23	91,30	8,70	20	70,00	30,00	8	0
11	3	100,00	0,00	0	0,00	0,00	2	156
<b>Média</b>	<b>21,27</b>	<b>87,82</b>	<b>12,18</b>	<b>11,82</b>	<b>78,10</b>	<b>13,72</b>	<b>7,82</b>	<b>24,00</b>
<b>DPM</b>	<b>9,07</b>	<b>11,05</b>	<b>11,05</b>	<b>7,45</b>	<b>29,35</b>	<b>16,40</b>	<b>7,59</b>	<b>45,97</b>
<b>EPM</b>	<b>2,73</b>	<b>3,33</b>	<b>3,33</b>	<b>2,25</b>	<b>8,85</b>	<b>4,94</b>	<b>2,29</b>	<b>13,86</b>

### Veículo + mCPP (V+mCPP)

Sujeito	% ESTICADAS			% MERGULHOS			LEVANTAMENTOS	IMOBILIDADE
	Total	Prot.	Des.	Total	Prot.	Des.	Total	Total
1	56	83,90	16,10	10	90,00	10,00	4	0
2	33	90,90	9,10	5	80,00	20,00	1	79
3	35	91,40	8,60	9	88,80	11,20	1	36
4	9	66,66	33,34	15	33,33	66,67	0	37
5	22	31,81	68,19	21	52,38	47,62	8	0
6	38	26,31	73,69	25	80,00	20,00	13	0
7	28	53,57	43,43	13	42,85	57,15	11	0
8	28	64,28	35,72	10	60,00	40,00	1	18
9	30	73,33	26,67	13	61,53	48,47	3	0
10	24	33,33	66,67	26	7,69	92,31	14	0
11	56	51,79	48,21	5	100,00	0,00	11	0
12	37	70,27	29,73	19	94,73	5,27	9	0
<b>Média</b>	<b>33,00</b>	<b>61,46</b>	<b>38,29</b>	<b>14,25</b>	<b>65,94</b>	<b>34,89</b>	<b>6,33</b>	<b>14,17</b>
<b>DPM</b>	<b>13,28</b>	<b>22,53</b>	<b>22,45</b>	<b>7,14</b>	<b>28,15</b>	<b>28,43</b>	<b>5,21</b>	<b>24,90</b>
<b>EPM</b>	<b>3,83</b>	<b>6,50</b>	<b>6,48</b>	<b>2,06</b>	<b>8,12</b>	<b>8,21</b>	<b>1,50</b>	<b>7,19</b>



**Cetanserina + Veículo (C+V)**

Sujeito	% ESTICADAS			% Mergulhos			LEVANTAMENTOS	IMOBILIDADE
	Total	Prot.	Des.	Total	Prot.	Des.	Total	Total
1	75	96,00	4,00	22	100,00	0,00	3	0
2	48	54,16	45,80	22	100,00	0,00	23	0
3	33	90,90	9,10	14	78,60	21,40	25	0
4	33	63,63	36,40	20	75,00	25,00	8	0
5	21	23,80	76,20	18	38,90	61,10	7	3
6	22	94,45	4,55	11	63,64	36,36	14	0
7	19	100,00	0,00	4	75,00	25,00	4	0
8	13	92,31	7,69	19	100,00	0,00	4	0
9	13	92,31	7,69	17	94,12	5,88	10	19
10	17	88,23	11,77	10	90,00	10,00	1	76
11	20	60,00	40,00	22	63,63	36,37	16	0
12	27	55,56	44,44	19	84,21	15,79	15	0
<b>Média</b>	<b>28,42</b>	<b>75,95</b>	<b>23,97</b>	<b>16,50</b>	<b>80,26</b>	<b>19,74</b>	<b>10,83</b>	<b>8,17</b>
<b>DPM</b>	<b>17,73</b>	<b>23,83</b>	<b>23,90</b>	<b>5,66</b>	<b>18,57</b>	<b>18,57</b>	<b>7,85</b>	<b>22,04</b>
<b>EPM</b>	<b>5,12</b>	<b>6,88</b>	<b>6,90</b>	<b>1,64</b>	<b>5,36</b>	<b>5,36</b>	<b>2,27</b>	<b>6,36</b>

**Cetanserina + mCPP (C+V)**

Sujeito	% ESTICADAS			% Mergulhos			LEVANTAMENTOS	IMOBILIDADE
	Total	Prot.	Des.	Total	Prot.	Des.	Total	Total
1	59	86,44	13,60	14	92,80	7,20	6	0
2	11	34,60	63,60	7	75,00	25,00	21	0
3	33	84,80	15,20	5	80,00	20,00	26	2
4	38	36,80	63,20	21	38,00	62,00	12	0
5	25	32,00	68,00	27	29,60	70,40	30	0
6	35	91,40	8,60	16	68,70	31,30	18	0
7	27	48,15	51,85	15	46,47	53,53	24	0
8	25	60,00	40,00	27	40,74	59,26	9	0
9	25	52,00	48,00	27	44,44	55,56	27	0
10	8	100,00	0,00	18	66,66	33,33	9	0
11	21	80,95	19,05	13	61,54	38,46	5	14
12	31	64,52	35,48	5	20,00	80,00	3	49
13	18	100,00	0,00	9	100,00	0,00	11	40
<b>Média</b>	<b>27,38</b>	<b>67,05</b>	<b>32,81</b>	<b>15,69</b>	<b>58,77</b>	<b>41,23</b>	<b>15,46</b>	<b>8,08</b>
<b>DPM</b>	<b>12,93</b>	<b>24,97</b>	<b>24,78</b>	<b>8,05</b>	<b>24,51</b>	<b>24,51</b>	<b>9,29</b>	<b>16,72</b>
<b>EPM</b>	<b>3,59</b>	<b>6,93</b>	<b>6,87</b>	<b>2,23</b>	<b>6,80</b>	<b>6,80</b>	<b>2,58</b>	<b>4,64</b>