

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

**AVALIAÇÃO DO MODELO DE TRANSTORNO DE ESTRESSE PÓS-
TRAUMÁTICO (TEPT) EM CAMUNDONGOS MACHOS: EFEITOS DO
MIDAZOLAM, SERTRALINA E AUSÊNCIA DE EFEITO DA IMIPRAMINA**

Fernando de Souza Melo Costa

**São Carlos
2008**

**AVALIAÇÃO DO MODELO DE TRANSTORNO DE ESTRESSE PÓS-
TRAUMÁTICO (TEPT) EM CAMUNDONGOS MACHOS: EFEITOS DO
MIDAZOLAM, SERTRALINA E AUSÊNCIA DE EFEITO DA IMIPRAMINA**

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

**AVALIAÇÃO DO MODELO DE TRANSTORNO DE ESTRESSE PÓS-
TRAUMÁTICO (TEPT) EM CAMUNDONGOS MACHOS: EFEITOS DO
MIDAZOLAM, SERTRALINA E AUSÊNCIA DE EFEITO DA IMIPRAMINA**

**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**

C837am

Costa, Fernando de Souza Melo.

Avaliação do modelo de transtorno de estresse pós-traumático (TEPT) e camundongos machos : efeitos do midazolam, sertralina e ausência de efeito da imipramina / Fernando de Souza Melo Costa. -- São Carlos : UFSCar, 2008.

84 f.

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

1. Psicofarmacologia. 2. Ansiedade. 3. Camundongo. 4. Labirinto em cruz elevado. 5. Transtorno do stress pós-traumático. 6. Claro-escuro. I. Título.

CDD: 615.78 (20ª)

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

Defesa de Dissertação de Fernando de Souza Melo Costa

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

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

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

Dedico este trabalho aos meus pais Antonio e Suely, e Avó Maura 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, confiança, incentivo e apoio na realização do trabalho;

À banca examinadora da Qualificação: Profª. Dra. Cleópatra S. Planeta, Profª. Dra. Rosana Mattioli e Prof. Dr. Paulo José de Campos Nogueira pelas sugestões;

À banca examinadora, pela atenção prestada na leitura deste trabalho;

Ao professor Ricardo (Unesp-Araraquara), pelas valiosas sugestões;

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

Aos amigos do laboratório Ila, Vanessa, Gabriel, Cilene, Letícia, Daniela, Luana, Kelly, Marcos, Polianna, Paula, Luciana, sempre presentes nos momentos bons ou difíceis;

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

À minha avó Maura, pelo cuidado e dedicação durante todos os momentos da minha vida.

À Renata, minha namorada, pelo amor, paciência e apoio nos momentos de dificuldade;

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.

RESUMO

O Transtorno de Estresse Pós-Traumático (TEPT) afeta uma parcela de indivíduos que são expostos a um evento traumático. Este distúrbio induz em longo prazo alterações no eixo HPA, autonômicas e cognitivas. O objetivo deste estudo foi avaliar se o modelo animal de TEPT proposto para ratos poderia ser utilizado em camundongos e investigar o efeito dos fármacos benzodiazepínico, antidepressivo tricíclico e inibidor seletivo da recaptação de serotonina, no modelo de TEPT. Para isso realizamos os seguintes experimentos: *Experimento 1*- O teste consistiu em submeter camundongos machos, Suíço-albino ao choque inescapável (0,3mA) nas patas no lado escuro (LE) da caixa claro-escuro (CE). No 7º, 14º e 21º dia os camundongos foram reexpostos a situação de lembrança no lado claro (LC) ou LE da caixa por 2 min, sem choque. No 29º dia os animais foram expostos ao labirinto em cruz elevado (LCE), para o registro dos índices de ansiedade [porcentagem de entradas (%EBA) e de tempo gasto nos braços abertos (%TBA) e atividade locomotora, entrada nos braços fechados (EBF)]. No 34º dia os mesmos animais foram submetidos ao teste CE para o registro da latência de fuga (LF) e do tempo gasto no LC da caixa CE. *Experimento 2* – o mesmo procedimento do experimento 1 foi adotado, exceto que os animais foram reexpostos no 7º, 14º e 21º dia a situação de lembrança apenas no LC da caixa por 2 min, sem choque. No 29º dia os animais, 30 min após receberem tratamento com midazolam, foram expostos ao labirinto em cruz elevado (LCE). No 34º dia os mesmos animais após receberem o mesmo tratamento farmacológico, foram submetidos ao teste CE. *Experimento 3, 4 e 5* – o mesmo procedimento do experimento 2 foi adotado, exceto que no 29º dia os animais não foram submetidos ao LCE e no 34º dia, 30 min após receberem tratamento com midazolam, imipramina e sertralina foram submetidos ao teste CE. A ANOVA de duas vias (estímulo x local da SL ou tratamento) seguido do teste de Duncan mostrou que o modelo de TEPT produziu aumento da ansiedade nos camundongos ($P < 0,05$). As reexposições no LE promoveram extinção do efeito ansiogênico do modelo. O tratamento com midazolam (1,0 e 2,0 mg/kg) produziu efeito ansiolítico no LCE ($P < 0,05$), e a dose de 0,5 mg/kg reduziu a latência de fuga do ambiente claro ($P < 0,05$) no teste CE e aumentou a atividade exploratória, sugerindo o envolvimento deste agonista GABA-benzodiazepínico na modulação do TEPT. O LCE não interferiu na avaliação do teste CE. A imipramina não apresentou efeito sobre os camundongos ($P > 0,05$), ou seja, ausência de efeito deste antidepressivo tricíclico nos sintomas do TEPT. A sertralina (5,0 mg/kg) produziu efeito ansiolítico no teste CE ($P < 0,05$) e aumento na atividade exploratória, mostrando o envolvimento deste inibidor seletivo da

recaptação de serotonina na modulação do modelo. Estes resultados sugerem que o modelo de TEPT utilizado poderá ser empregado para o estudo das alterações neurobiológicas envolvidas neste distúrbio.

Palavras Chave: Transtorno de estresse pós-traumático, ansiedade, midazolam, imipramina, sertralina, labirinto em cruz elevado, teste claro-escuro.

ABSTRACT

The post-traumatic stress disorder (PTSD) affects a portion of subjects exposed to a traumatic event. This disorder leads to long-term alterations in the hypothalamus-pituitary-adrenal (HPA) axis, autonomic and cognitive function. The aim of our study was to evaluate whether the animal model of PTSD proposed for rats could be used in mice and, to evaluate the effect of benzodiazepine, tricyclic antidepressant and selective serotonin reuptake inhibitor drugs in the PTSD model. For this we realized the following experiments: *Experiment 1*- The test consisted of exposure the male mice to inescapable electric footshock (0.3 mA) in the black side (BS) of the black-white box (BW). In the 7th, 14th and 21th day, mice were re-exposed to the traumatic reminder on the white side (WS) or BS for 2 min, without footshock. In the 29th day, the animals were submitted to elevated plus-maze (EPM) for record the anxiety indexes [percentage of open arm entries (%OA) and percentage of open arm time (%OT) and as well as general locomotor activity, closed arm entries (CE)]. On day 34 the same animals were submitted to BW test for record the latency to escape (LE) from WS and time spent on WS of the BW box. *Experiment 2* – the same procedure of experiment 1 was performed, except that the animals were re-exposed at 7th, 14th e 21th days to reminder situation only in WS of BW box for 2 min, without footshock. On day 29th, the animals were exposed to EPM, 30 min after receiving treatment with midazolam. In 34th day the same animals after receiving treatment with midazolam were submitted to BW box test. *Experiment 3, 4 and 5* - the same procedure was adopted from experiment 2, except that in 29th day, the animals were not submitted to EPM test and on 34th day 30 minutes after treatment with midazolam, imipramine and sertraline were submitted to BW box. Two-way ANOVA (stimulus x place remainder or treatment) followed by Duncan test showed that PTSD model increased anxiety in mice ($P < 0.05$). The re-exposure in BS promoted anxiogenic-like effect extinction of the model. The midazolam treatment (1.0 and 2.0 mg/kg, i.p.) produced anxiolytic-like effect in maze-mice ($P < 0.05$) and the 0.5 mg/kg decreased latency to escape of WS ($P < 0.05$) of BW box and increased the exploratory activity, suggesting involvement of this GABA-benzodiazepine agonist on this PTSD modulation. The EPM test does not interfere in the evaluation of the BW test. It is important to note that no other behaviors were significantly altered by imipramine per se ($P < 0.05$). The sertraline (5.0 mg/kg), selective serotonin reuptake inhibitor, produced anxiolytic-like effect in the BW test ($P < 0.05$) and increase exploration activity. These results suggest that the employed PTSD model to study neurobiological disturbances associated with this disorder.

Keywords: post-traumatic stress disorder, anxiety, midazolam, imipramine, sertraline, elevated plus-maze, black white test.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES E TABELA

Tabela 1: Transtornos de ansiedade segundo classificação do DSM-IV	16
Figura 1: Labirinto em cruz elevado	23
Figura 2: Caixa claro escuro	24
Figura 3: Efeito do modelo de TEPT sobre a frequência de entrada nos braços fechados (BFs) e as porcentagens de entrada e de tempo gasto nos braços abertos (BAs) do LCE em camundongos (n=11-12). As colunas representam as médias e o erro padrão da média (M+EPM) do número de entrada nos braços fechados e as porcentagens de entrada e do tempo gasto nos BAs do LCE. * <i>P</i> < 0,05 comparado ao LE CCHO (ANOVA de duas vias seguido do teste de Duncan). # <i>P</i> < 0,05 comparado ao grupo LC SCHO (ANOVA duas vias seguido do teste de Duncan).	30
Figura 4: Efeito do modelo de TEPT sobre a latência de fuga do ambiente claro (LF) e tempo gasto no compartimento escuro (TE) do teste CE em camundongos (n=11-12). As colunas representam as médias e o erro padrão da média (M+EPM) da LF e TC da caixa CE. * <i>P</i> < 0,05 comparado ao grupo SCHO (ANOVA de duas vias seguido do teste de Duncan). # <i>P</i> < 0,05 comparado ao grupo CCHO LE (ANOVA duas vias seguido do teste de Duncan)	31
Figura 5: Efeito do tratamento farmacológico com midazolam sobre a frequência de entradas nos braços fechados (BFs) e as porcentagens de entradas e de tempo gasto nos braços abertos (BAs) do LCE em camundongos (n=9-15). As colunas representam as médias e o erro padrão da média (M+EPM) do número de entrada nos braços fechados e as porcentagens de entradas e do tempo gasto nos BAs do LCE. * <i>P</i> < 0,05 comparado ao respectivo controle salina (ANOVA de duas vias seguido do teste de Duncan).	32
Figura 6: Efeito do tratamento farmacológico com midazolam sobre a latência de fuga do ambiente claro (LF) e tempo gasto no compartimento claro (TC) do teste CE em camundongos (n=9-15). As colunas representam as médias e o erro padrão da média (M+EPM) da LF e TC da caixa CE. # <i>P</i> < 0,05 comparado ao grupo SCHO (ANOVA de duas vias seguido do teste de Duncan).	34
Figura 7: Efeito do tratamento farmacológico com midazolam sobre a latência de fuga do ambiente claro (LF) e tempo gasto no compartimento claro (TC) do teste CE em camundongos (n=6). As colunas representam as médias e o erro padrão da média (M+EPM) da LF e TC da caixa CE. * <i>P</i> < 0,05 comparado ao grupo CCHO salina (ANOVA de duas vias seguido do teste de Duncan). # <i>P</i> < 0,05 comparado ao grupo SCHO (ANOVA de duas vias seguido do teste de Duncan).	35
Figura 8: Efeito do tratamento farmacológico com imipramina sobre a latência de fuga do ambiente claro (LF) e tempo gasto no compartimento claro (TC) do teste CE em camundongos (n=12). As colunas representam as médias e o erro padrão da média (M+EPM) da LF e TC da caixa CE. # <i>P</i> < 0,05 comparado ao grupo SCHO (ANOVA de duas vias seguido do teste de Duncan).	36
Figura 9: Efeito do tratamento farmacológico com sertralina sobre a latência de fuga do ambiente claro (LF) e tempo gasto no compartimento claro (TC) do teste CE em camundongos (n=12). As colunas representam as médias e o erro padrão da média (M+EPM) da LF e TC da caixa CE. * <i>P</i> < 0,05 comparado ao grupo salina CCHO (ANOVA de duas vias seguido do teste de Duncan). # <i>P</i> < 0,05 comparado ao grupo SCHO (ANOVA de duas vias seguido do teste de Duncan).	38

ABREVIACÕES

LCE – labirinto em cruz elevado

n - número de sujeitos

TAG – transtorno de ansiedade generalizada

EBA – entradas nos braços abertos

EBF – entradas nos braços fechados

TBA – tempo gasto nos braços abertos

TBF – tempo gasto nos braços fechados

TCe – tempo gasto no centro

TE – total de entradas

%EBA – percentagem de entradas nos braços abertos

%EBF – percentagem de entradas nos braços fechados

%TBA – percentagem de tempo gasto nos braços abertos

%TBF – percentagem de tempo gasto nos braços fechados

%TC – percentagem de tempo gasto no centro do labirinto

BAs – braços Abertos

BFs – braços fechados

DPM – desvio padrão da média

EPM – erro padrão da média

CE – claro escuro

LC – lado claro

LE – lado escuro

LF – latência de fuga

TC – tempo no claro

TEs - tempo no escuro

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	15
1.1 Ansiedade	15
1.2 Transtorno de Estresse Pós Traumático	16
1.3 Sistemas Cerebrais de Defesa	18
1.4 Modelos Animais	19
2. OBJETIVO	22
3. MATERIAL E MÉTODOS	23
3.1 Sujeitos	23
3.2 Equipamentos	23
3.2.1 Labirinto em cruz elevado (LCE)	23
3.2.2 Caixa claro escuro	24
3.3 Drogas	24
3.4 Procedimento Geral	25
3.4.1 Experimento 1	25
3.4.2 Experimento 2	26
3.4.3 Experimento 3, 4 e 5	26
3.5 Análise Comportamental	27
3.6 Análise Estatística	27
3.7 Ética	28
4. RESULTADOS	29
4.1 Experimento 1	29
4.2 Experimento 2	32
4.3 Experimento 3	34
4.4 Experimento 4	36
4.5 Experimento 5	37
5. DISCUSSÃO	39
6. CONCLUSÃO	45
7. REFERÊNCIAS	46
8. APÊNCICE	62

1. INTRODUÇÃO

1.1 Ansiedade

A ansiedade humana vem sendo relatada há milênios, porém não despertou interesse na medicina e só veio ter importância na cultura ocidental a partir do final do século XIX (Dractu & Lader, 1993). Sigmund Freud, com sua visão psicanalista, influenciou no esclarecimento de alguns dos sintomas da ansiedade e, com o desenvolvimento das neurociências surgiu uma orientação mais biológica para explicar este distúrbio (Pereira, 1997).

Schmitt & Kapczinski (2004), apontaram a ansiedade como um sentimento responsável pela sobrevivência da espécie humana na terra. Pois o medo de ataques de predadores e a antecipação mental dessa possibilidade (característica da ansiedade) levaram o homem a utilizar estratégias eficientes de fuga ou enfrentamento, resultando na preservação da espécie.

A ansiedade torna-se indesejável quando a intensidade das manifestações, durações, relação com o evento desencadeante ocorrem de forma intensa, persistente, desproporcional e passa a ser alvo de intervenção médica (Hetem e Graeff, 2004). Porém, o valor adaptativo da ansiedade moderada também propicia um melhor desempenho em determinadas situações como atividade intelectual (Guimarães, 2001). Entretanto a ansiedade é uma das causas mais comuns que levam os pacientes a procurar assistência médica ou psiquiátrica (Hetem e Graeff, 2004).

A ansiedade geralmente apresenta combinações de manifestações psíquicas e fisiológicas. Justamente por tal motivo, na tentativa de normatizar as variações dos estados patológicos, surgiram os manuais diagnósticos, que incluem o CID (Classificação Internacional de Doenças) e o Manual de Diagnóstico e Estatística das Doenças Mentais (DSM), promovido pela Associação Psiquiátrica Americana e já em sua quarta revisão – DSM-IV-TR (CID-10, 1993; APA, 2000). A tabela 1 resume as principais classificações propostas pelo DSM-IV-TR.

Tabela 1 – Transtornos de Ansiedade segundo classificação do DSM-IV

Agorafobia
Ataque de Pânico
Transtorno de Pânico Sem Agorafobia
Transtorno de Pânico Com Agorafobia
Agorafobia Sem História de Transtorno de Pânico
Fobia Específica
Fobia Social
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.

Modificado DSM-IV-RT (APA, 2000)

1.2 Transtorno de Estresse Pós Traumático

Estima-se que a prevalência do transtorno de estresse pós-traumático (TEPT) na população mundial varie de 1 a 14%, podendo alcançar índices de 60 a 80% em populações submetidas a traumas constantes (American Psychiatric Association, 2000; National Center for Posttraumatic Stress Disorder, 2007).

Segundo a classificação do DSM-IV-TR (2000), o transtorno de estresse pós-traumático caracteriza-se pelo desenvolvimento de sintomas como, por exemplo, sentimentos de medo intenso, impotência ou horror. Os sintomas fundamentais deste transtorno incluem revivência persistente do evento traumático, esquiva persistente de estímulos associados com o trauma, embotamento de responsividade geral e sintomas persistentes de excitação aumentada, geralmente ocorrendo após a exposição a estressor traumático extremo. Os sintomas devem estar presentes por mais de um mês, podendo variar em relação à duração em: agudo (presença de sintomas por menos de três meses) ou crônico (presença de sintomas por três meses ou mais).

As alterações neurobiológicas do TEPT ainda não estão claras até o momento, porém sabe-se que os pacientes de TEPT apresentam hiperativação simpático-adrenal, como por exemplo, a avaliação muitos anos depois do início do transtorno mostra que a frequência cardíaca está mais elevada e sua variabilidade diminuída, o que indica uma ativação do sistema simpático e redução do tônus vagal associada à hipofunção do eixo HPA, caracterizada por níveis de cortisol baixo. Estudos têm demonstrado que quanto mais reduzida à função desse último, maior risco do indivíduo apresentar tal transtorno (Resnik et al., 1995; Yehuda et al., 1995; Yehuda et al., 2000). Desse modo, a deficiência de cortisol, verificada no TEPT faria com que os pacientes ficassem sem reação ao evento estressor na fase de defesa (Yehuda et al., 1997). O que poderia explicar a maioria dos sintomas do TEPT, inclusive as alterações cognitivas. Além disso, vários autores já demonstraram redução do volume hipocampal em indivíduos com TEPT (Bremner et al., 1995; Nutt & Malizia, 2004; Smith, 2005; Karl et al., 2006) e diferenças no volume de outras estruturas do sistema nervoso central (SNC) (para revisão, Stam, 2007a).

Apesar de compartilhar sintomas com outros transtornos psiquiátricos, alguns estudos têm demonstrado alterações únicas nos pacientes com TEPT, como por exemplo, revivência do evento traumático, o que vai influenciar a resposta individual à medicação. Além disso, um paciente pode necessitar de diferentes fármacos no decorrer do tratamento, dependendo dos sintomas que forem mais proeminentes em determinado momento (Segal, 1979; Kosten et al., 1987; Martinez et al., 2007; Southwick et al., 1991; Southwick et al., 1993).

Assim, alguns autores propõem a seguinte associação entre as dimensões psicopatológicas do TEPT e a resposta aos diferentes fármacos: a) os sintomas de revivescência do trauma normalmente mostram melhor resposta aos antidepressivos tricíclicos como a imipramina; b) a esquiva a estímulos relacionados ao trauma e distanciamento afetivo, aos inibidores seletivos da recaptção de serotonina (ISRS), como por exemplo, a sertralina; c) a hiperestimulação autonômica, aos betabloqueadores e agonistas alfa-2-adrenérgicos (Friedman, 1988; Davidson, 1992; Katz et al., 1996; Viola et al., 1997; Nutt, 2000; Karl et al., 2006). No entanto os ISRS, como por exemplo, sertralina, são os fármacos que apresentam as melhores respostas no combate ao TEPT, portanto a medicação de primeira escolha (Albucher & Liberzon, 2002).

Neste sentido, estudos pré-clínicos e clínicos têm demonstrado que no TEPT, ocorrem alterações nos neurotransmissores do SNC, tais como, ácido gamaminobutírico (GABA), serotonina, glutamato, entre outros (Kim & Gorman, 2005).

1.3 Sistemas Cerebrais de Defesa

Bases neurais do comportamento emocional apontam para circuitos neurais específicos que respondem em conformidade com a natureza do estímulo a que o indivíduo é exposto. Os mecanismos associados à resposta incondicionada (inata e não aprendida) estão associados ao chamado sistema cerebral aversivo, representado pelo hipotálamo medial, pela substância cinzenta periaquedutal dorsal e pela amígdala. A estimulação elétrica destas estruturas encefálicas produz alterações autonômicas intensas (Brandão et al., 1999).

Além do sistema cerebral aversivo, existe outro sistema neural que organiza a resposta condicionada, o sistema de inibição comportamental, representado pelo sistema septo-hipocampal, em conjunto com núcleo mediano da rafe e a substância cinzenta periaquedutal ventral (Gray & McNaughton, 2000). Já a amígdala, está envolvida na participação das respostas incondicionada e condicionada, agindo como interface entre o sistema de inibição comportamental e o sistema cerebral aversivo (Brandão et al., 2003; McNaughton & Corr, 2004). Portanto, sugeriu-se inicialmente que o sistema septo-hipocampal fosse o componente principal do sistema de inibição comportamental, pois sua ativação gera ansiedade (Gray, 1982).

Confirmando os achados da teoria proposta por Gray (Sistema de Inibição Comportamental, de 1982) e acrescentando pontos importantes nesta teoria distinguindo medo e ansiedade, McNaughton & Corr, (2004) relataram que o medo apresenta a função de mover o animal para longe da fonte de perigo, podendo envolver fuga, luta ou congelamento e é insensível a drogas ansiolíticas. Por outro lado, em uma situação conflituosa de aproximação-esquiva, a ansiedade faz com que o animal mova-se em direção a fonte de perigo, aumentando a avaliação de risco e é sensível a ação de drogas ansiolíticas.

Várias evidências têm mostrado que estímulos condicionados potenciais e distais, estímulos incondicionados ameaçadores e proximais estão representados nos dois sistemas neurais responsáveis pela geração e elaboração dos comportamentos emocionais: o sistema de inibição comportamental e o sistema cerebral aversivo, acionados em situações de conflito ou perigo eminente, respectivamente. A ativação de um ou outro destes sistemas resulta na experiência emocional a qual denominamos medo/pânico ou ansiedade (Brandão et al., 2003).

Assim, a avaliação do comportamento de roedores em confronto com predadores pode levar ao surgimento de estratégias comportamentais chamadas de avaliação de risco, exibidas de acordo com o nível de ameaça, se potencial ou real (se real, distal ou proximal). O primeiro

nível está relacionado com a ameaça potencial (novidade), que pode envolver a procura por alimento quanto possíveis ameaças novas, dessa forma, a reação de defesa é a exploração cuidadosa do ambiente. No segundo nível a ameaça está presente, porém distante, nesse momento o predador é identificado, mas estando a uma distância superior àquele limite, verifica-se, então, inibição comportamental que é caracterizada pela imobilidade ou congelamento. E no último nível a ameaça está muito próxima, fazendo com que a presa possa apresentar um comportamento de fuga ou luta (Blanchard et al., 1986, 1997, 2003).

1.4 Modelos Animais

Em consideração a complexidade para conduzir estudos prospectivos de TEPT em humanos, vários modelos animais tem sido desenvolvidos usando diferentes tipos de eventos aversivos (Foa et al., 1992; Yehuda & Antelman, 1993; Stam, 2007). Entretanto, nestes modelos animais, as alterações comportamentais são observadas logo após o evento aversivo (Cohen et al., 2003; Wang et al., 2000) e no TEPT em humanos, os sintomas são observados em longo prazo (American Psychiatric Association, 2000).

Estudos com animais têm demonstrado que estímulos aversivos podem causar aumento da ansiedade em vários modelos de TEPT (Stam, 2007). Por exemplo, nos modelos de exposição ao odor do gato (Zangrossi & File, 1992), derrota social (Heinrichs, 1992 et al; Rodgers & Cole, 1993) e choque inescapável nas patas (Steenbergen & Heinsbroek; 1990; Short & Maier, 1993), os roedores apresentam diminuição das porcentagens de entradas e de tempo gasto nos braços abertos do labirinto em cruz elevado (LCE), mesmo que o evento estressor tenha sido apresentado trinta minutos ou 24 horas antes do teste. Além disso, a administração de choque inescapável na cauda de ratos também produz aumento da ansiedade avaliada no LCE (Grahm et al., 1995).

Também já foi constatado em outros modelos de ansiedade que a administração de choque inescapável em ratos produziu diminuição nos níveis de interação social após 24-72 horas da aplicação do evento estressor, sem alterar a locomoção na arena (Short & Maier, 1993).

Alguns modelos animais com relevância para TEPT esbarram no fato, de que com exceção das experiências traumáticas severas, somente uma minoria de indivíduos desenvolve o TEPT quando expostos a uma situação aversiva, o que torna difícil à semelhança fenomenológica com modelos animais (Stam, 2007a).

No modelo de TEPT em roedores proposto inicialmente por Pynnos et al., (1996) e modificado por Louvart et al., (2005), um estímulo aversivo (estimulação elétrica nas patas de ratos fêmeas), provocou reações comportamentais caracterizadas por alterações autonômicas, congelamento e medo. A reexposição subsequente de roedores a situações de lembrança do ambiente aversivo contribui para o processo de consolidação das memórias traumáticas (Stam, 2007a; Stam, 2007b).

Alguns estudos tentam entender as adaptações neurais, endócrinas e comportamentais frente a um estímulo aversivo induzido em animais. Estes estudos demonstram que a exposição prévia ao estímulo estressor altera respostas futuras frente ao mesmo estímulo, principalmente desenvolvendo tolerância ou sensibilização. Como por exemplo, o que ocorre no modelo de depressão em roedores onde o tratamento crônico com choque inescapável nas patas pode levar a alterações comportamentais características de depressão (Wilner, 1984). Portanto surgem as distintas respostas adaptativas que podem ser influenciadas pela intensidade, duração e tipo de estímulo aversivo utilizado (McEwen, 2000; Stam et al., 2000). A adaptação ao estresse induzido repetidamente, isto é, expondo animais diariamente e com variadas durações ao estímulo aversivo (Shibasaki et al., 1995) e as respostas biológicas e comportamentais horas após o primeiro episódio ao estímulo aversivo também tem sido investigadas (Pynnos et al., 1996).

Portanto, objetivando o tratamento dos TEPT estratégias farmacológicas têm contribuído para a identificação da correlação neuroquímica central do evento estressor com o distúrbio comportamental através da administração farmacológica em modelos animais (Hamilton et al., 1986).

Neste sentido, um dos modelos animais mais utilizados nas últimas décadas é o LCE, que desde a sua introdução por Handley e Mithani (1984), tornou-se um dos modelos mais usados para detectar atividade ansiolítica de drogas (Hogg, 1996). O teste é baseado na aversão natural de roedores a espaços abertos, foi modificado de Montgomery, (1955), validado em ratos por Pellow et al., (1985) e em camundongos por Stephens et al., (1986); Lister, (1987) e é bidirecionalmente sensível a manipulações projetadas para avaliar a ansiedade (Rodgers & Cole, 1994). Os índices principais de ansiedade no labirinto em cruz elevado compreendem medidas espaço-temporais de esquiva dos braços abertos, enquanto a atividade locomotora é avaliada seja pelo número total de entradas nos braços ou pelo número de entradas nos braços fechados (Lister, 1987; File, 1992 b). Alguns autores têm demonstrado que o material utilizado na confecção do aparato não interfere na avaliação das respostas de ansiedade (Rodgers et al., 1997), entretanto a utilização de braços fechados transparentes no

LCE possibilita uma melhor observação dos efeitos ansiolíticos e não compromete a atividade locomotora geral do animal, na verdade, melhora a exploração do aparato (Wall & Messier, 2000).

Já o modelo claro-escuro (CE) descrito e validado inicialmente por Crawley & Coodwin (1980), é baseado na aversão inata a áreas iluminadas, abertas e no comportamento exploratório espontâneo dos roedores. Uma situação de conflito natural ocorre quando um animal é exposto a um ambiente não familiar ou novos objetos. O conflito ocorre entre a tendência de explorar e a tendência inicial de esquivar-se de ambientes não familiares. A caixa original de teste consiste de dois compartimentos, sendo o compartimento claro tendo dois terços, em relação ao compartimento escuro, totalizando (46 x 27 x 30 cm) com uma pequena passagem entre os compartimentos de 7,0 cm altura, sendo que no compartimento iluminado a parte superior da caixa permanece aberta.

Em 1991, o modelo CE foi modificado por Young & Johnson. Estes autores aumentaram os compartimentos escuro (40 x 23 x 20 cm altura) e claro (40 x 42 x 30 cm altura). Posteriormente, uma nova modificação foi realizada para a implantação de um potenciômetro ligado ao solo do ambiente escuro, permitindo a estimulação elétrica nas patas dos roedores (Pynoos et al., 1996).

O teste CE tem vantagens tais como, fácil uso, início rápido, sem a necessidade de treinamento prévio, privação de comida e água, além da possibilidade da utilização de estímulos naturais ou condicionados. A transição tem sido relatada como um índice de atividade exploratória (Belzung et al., 1987), e a porcentagem de tempo gasto em cada compartimento e latência de fuga do compartimento claro como índice de atividade ansiolítica ou ansiogênica. O tratamento farmacológico com agentes ansiolíticos faz com que os animais permaneçam por mais tempo no lado claro da caixa CE (Hascoet & Bourin, 1998).

Diante da crescente população com TEPT, dificuldade no diagnóstico precoce e fármacos com pouca ou nenhuma eficácia em seres humanos, outros estudos e modelos são necessários para esclarecer principalmente as bases neurais do TEPT.

2. Objetivo

Considerando as evidências acima, este estudo teve por objetivo:

Avaliar se o modelo animal de transtorno de estresse pós-traumático (TEPT) proposto para ratos, poderia ser utilizado para investigar o efeito dos fármacos benzodiazepínico, antidepressivo tricíclico e inibidor seletivo da recaptação de serotonina, no modelo de TEPT modificado para camundongos.

3. MATERIAL E MÉTODO

3.1 Sujeitos

Foram utilizados camundongos da cepa Suíço-albino, machos, pesando 28-33 gramas, provenientes do biotério central da Universidade Federal de São Carlos-UFSCar. Os animais foram agrupados em gaiolas coletivas (41 x 34 x 16 cm, 10 por gaiola), mantidos em condições controladas de temperatura (24 ± 1 °C), umidade ($55 \pm 5\%$), luz (ciclo claro/escuro de 12/12 horas, luzes acessas às 7:00 horas) e livre acesso ao alimento e água, exceto durante as breves sessões de teste.

3.2 Equipamentos

3.2.1 Labirinto em cruz elevado (LCE)

Consiste de dois braços abertos (30 x 5 x 0,25 cm) unidos ortogonalmente a dois braços fechados transparentes (30 x 5 x 15 cm), elevados a 38,5 cm do solo por um suporte de madeira (modificado de Lister, 1987). A iluminação utilizada foi de 77 lux no assoalho da plataforma central. Os testes foram conduzidos durante a fase clara do ciclo de luz (08h30 - 16h00).



Figura 1-Labirinto em Cruz Elevado

3.2.2 Caixa claro escuro (CE)

Feita de alumínio consiste de dois compartimentos, um claro aberto medindo (30 x 30 x 40 cm) e um compartimento escuro fechado (30 x 30 x 40 cm) (Costall et al., 1989). Os compartimentos eram unidos através de uma porta guilhotina (10 x 15 cm de altura), em ambos os compartimentos, o assoalho é formado por 13 barras de alumínio em paralelo, sendo que no compartimento escuro as barras estão ligadas a corrente elétrica, com intensidade de 0,3 mA. Acima do compartimento claro, está acoplada uma lâmpada de 25 W. Os testes foram conduzidos durante a fase clara do ciclo de luz (08h30 - 16h00).



Figura 2-Caixa claro-escuro

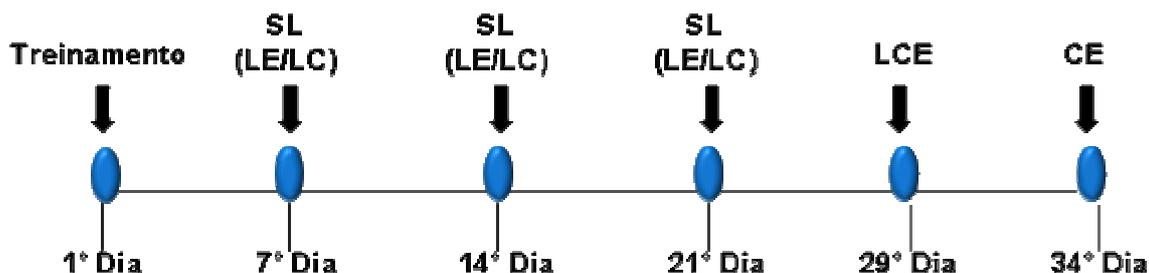
3.3 Drogas

Midazolam (MDZ): (8-Cloro-6-(fluorofenil)-1-metil-4H-imidazo[1,5-a][1,4] maleato de benzodiazepina), PM: 441,8, dissolvido em salina (0,9% NaCl), nas doses de (0, 0,5, 1,0 e 2,0 mg/Kg, i.p.) Roche, Brasil. Imipramina (IMP): 10,11-Dihidro-N, N-dimetil-5H-dibenzil-5-propanamina hidrocloreídica. PM: 316,87, dissolvida em salina (0,9% NaCl), nas doses de (0, 5,0, 10,0 e 20,0 mg/Kg, i.p.) Sigma, Brasil. Sertralina (SER): (1S,4S)-4-(3,4-Dicloro)-1,2,3,4-tetrahidro-N-metil-1-naftalenamina hidrocloreídica), PM: 342,69, dissolvida em salina (0,9% NaCl), nas doses de (0, 5,0, 10,0 mg/Kg, i.p.) Sigma, Brasil. As doses utilizadas foram baseadas em estudos prévios: midazolam (Nunes-de-Souza et al., 2000), imipramina (Lister, 1987; Cole & Rodgers, 1995) e sertralina (Matar et al., 2006).

3.4 Procedimento Geral

Realizamos cinco experimentos, conforme descrição abaixo.

3.4.1 Experimento 1



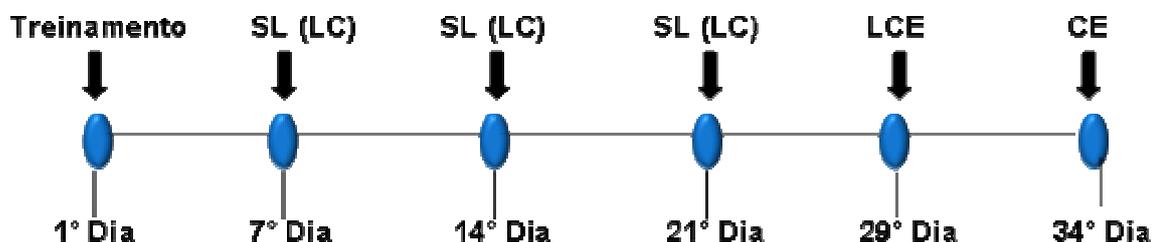
Treinamento (T) - realizado na caixa claro-escuro (CE). Os camundongos foram separados aleatoriamente em quatro grupos, sendo dois sem (SCHO) e dois com choque nas patas (CCHO – 0,3mA). No primeiro dia de teste os animais foram confinados no lado escuro (LE) da caixa e após 2 minutos, a porta guilhotina foi aberta permitindo a exploração no lado claro (LC) da caixa. Assim que o animal entrou no LC uma lâmpada de 25W foi acesa e houve o retorno imediato do animal ao LE da caixa. A porta foi novamente fechada e os animais foram expostos (CCHO) ou não ao choque (SCHO) nas patas por 10 segundos.

Situações de Lembrança (SL) - No 7º, 14º e 21º dia os grupos, SCHO e CCHO foram reexpostos ao LC (Louvard et al., 2005) ou LE da caixa CE por 2 minutos, sem choque.

Avaliação da Ansiedade - No 29º dia os animais dos grupos SCHO e CCHO, foram expostos ao LCE. A exposição ao LCE consistiu em colocar os camundongos individualmente sobre a plataforma central com a cabeça voltada para um dos braços abertos e foi permitido explorar o labirinto por um período de cinco minutos, para o registro dos índices de ansiedade [porcentagem do número de entradas (%EBA) e de tempo gasto nos braços abertos (%TBA), e o número de entradas nos braços fechados (EBF), como avaliação da atividade locomotora.

No 34º dia os mesmos animais foram submetidos ao teste CE. O teste consistiu em colocar os camundongos individualmente sobre a plataforma do lado claro e foi permitido explorar os dois ambientes da caixa CE por um período de cinco minutos para registro da latência de fuga (LF) e do tempo gasto no LC da caixa CE.

3.4.2 Experimento 2



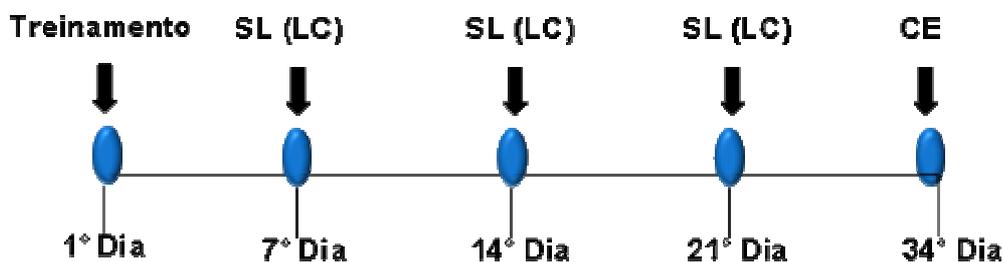
Treinamento (T) – semelhante ao descrito para o experimento 1.

Situações de Lembrança (SL) - semelhante ao descrito para o experimento 1, exceto que os animais dos grupos SCHO e CCHO foram reexpostos somente ao LC da caixa CE por 2 minutos, sem choque.

Avaliação da Ansiedade - No 29º dia os grupos SCHO e CCHO, 30 min após receberem tratamento com MDZ (0, 0,5, 1,0 e 2,0 mg/Kg, i.p.), foram submetidos ao LCE conforme descrito acima (experimento 1).

No 34º dia os mesmos animais após receberem o mesmo tratamento farmacológico descrito acima, foram submetidos ao teste CE por cinco minutos.

3.4.3 Experimento 3, 4 e 5



O procedimento dos experimentos 3, 4 e 5 foram semelhantes ao utilizado no Experimento 2, exceto que no 29º dia os animais não foram submetidos ao LCE, e no 34º dia, 30 min após receberem tratamento com midazolam, imipramina e sertralina foram submetidos ao teste CE. No experimento 3, foi realizado tratamento com MDZ (0, 0,5, 1,0 e 2,0 mg/Kg,

i.p.). No experimento 4 o tratamento foi com imipramina (0, 5,0, 10,0 e 20,0 mg/Kg, i.p.) e no experimento 5 o tratamento foi com sertralina (0, 5,0, 10,0 mg/Kg, i.p.)

Todas as sessões foram filmadas e gravadas por uma câmera (Panasonic X12) posicionada sobre o labirinto com ângulo de 45°, e a caixa CE com um ângulo de 90°. A câmera estava ligada a um monitor e vídeo cassete, localizados na sala adjacente a sala de teste.

3.5 Análise Comportamental

Os comportamentos foram avaliados pela análise das fitas gravadas, por um observador treinado, utilizando o programa X-Plo-Rat (Becerra-Garcia et al., 2005). Os comportamentos analisados envolveram os parâmetros convencionais do labirinto em cruz elevado (Lister, 1987) e teste claro escuro (Costall, 1989).

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

Medidas Convencionais no Teste CE: latência de entrada no compartimento escuro (é definida como o tempo que o animal leva para entrar no compartimento escuro com as quatro patas após ser colocado inicialmente no compartimento claro), tempo de permanência no compartimento escuro.

3.6 Análise Estatística

Todos os resultados foram submetidos a uma análise inicial para avaliar a homogeneidade dos grupos (Teste de Levene), quando necessário, os dados foram transformados em LOG, raiz quadrada ou raiz cúbica. Após a homogeneização passaram pela análise de variância (ANOVA de duas vias), seguido do teste de comparações múltiplas de Duncan. Os valores de $P \leq 0,05$ foram considerados significativos.

3.7 Ética

Os experimentos realizados neste estudo estiveram de acordo com as recomendações da Sociedade Brasileira de Neurociência e Comportamento (SBNeC) que é, por sua vez, baseada na US National Institutes of Health Guide for Care and Use of Laboratory Animals.

4. RESULTADOS

4.1 Experimento 1 – Avaliação do comportamento de camundongos submetidos ao modelo de TEPT com situações de lembrança (SL) no ambiente escuro e claro.

A Figura 3 mostra o efeito do modelo de transtorno de estresse pós-traumático (TEPT), com situações de lembrança (SL) no lado escuro (LE) e no lado claro (LC) da caixa, sobre o comportamento de camundongos expostos ao LCE. A análise de variância ANOVA de duas vias (Fator 1: estímulo e Fator 2: local da SL) revelou que os grupos que foram reexpostos durante as SL no LE e LC da caixa apresentaram alteração das medidas de ansiedade [porcentagem de entrada nos braços abertos - %EBA: sem alteração significativa para o estímulo ($F_{(1,43)} = 1,02$; $P > 0,05$), local de reexposição durante SL ($F_{(1,43)} = 1,10$; $P > 0,05$) e alteração significativa para interação estímulo x local de reexposição durante SL ($F_{(1,43)} = 5,07$; $P < 0,05$); porcentagem de tempo gasto nos braços abertos - %TBA: alteração significativa para o estímulo ($F_{(1,43)} = 5,21$; $P < 0,05$), sem alteração significativa do local da SL ($F_{(1,43)} = 1,12$; $P > 0,05$) e da interação estímulo x local de reexposição durante SL ($F_{(1,43)} = 3,49$; $P > 0,05$); e atividade locomotora representada por entradas nos braços fechados - EBF: sem alteração do estímulo ($F_{(1,43)} = 3,54$; $P > 0,05$), do local de reexposição durante a SL ($F_{(1,43)} = 0,04$; $P > 0,05$) e da interação estímulo x local de reexposição durante SL ($F_{(1,43)} = 0,55$; $P > 0,05$)].

Análises posteriores utilizando comparações múltiplas Teste de Duncan, mostraram que os grupos que receberam choque nas patas durante o treinamento (CCHO) e foram reexpostos durante as SL no LC da caixa, apresentaram diminuição das %EBA ($P < 0,05$) e de %TBA ($P < 0,05$), quando comparado ao grupo que não recebeu choque nas patas durante o treinamento (SCHO). A atividade locomotora não foi alterada em nenhum dos grupos (EBF) ($P > 0,05$). Os animais que foram reexpostos durante as SL no LE, não apresentaram alteração na %EBA ($P > 0,05$) e de %TBA ($P > 0,05$), quando comparados ao grupo SCHO.

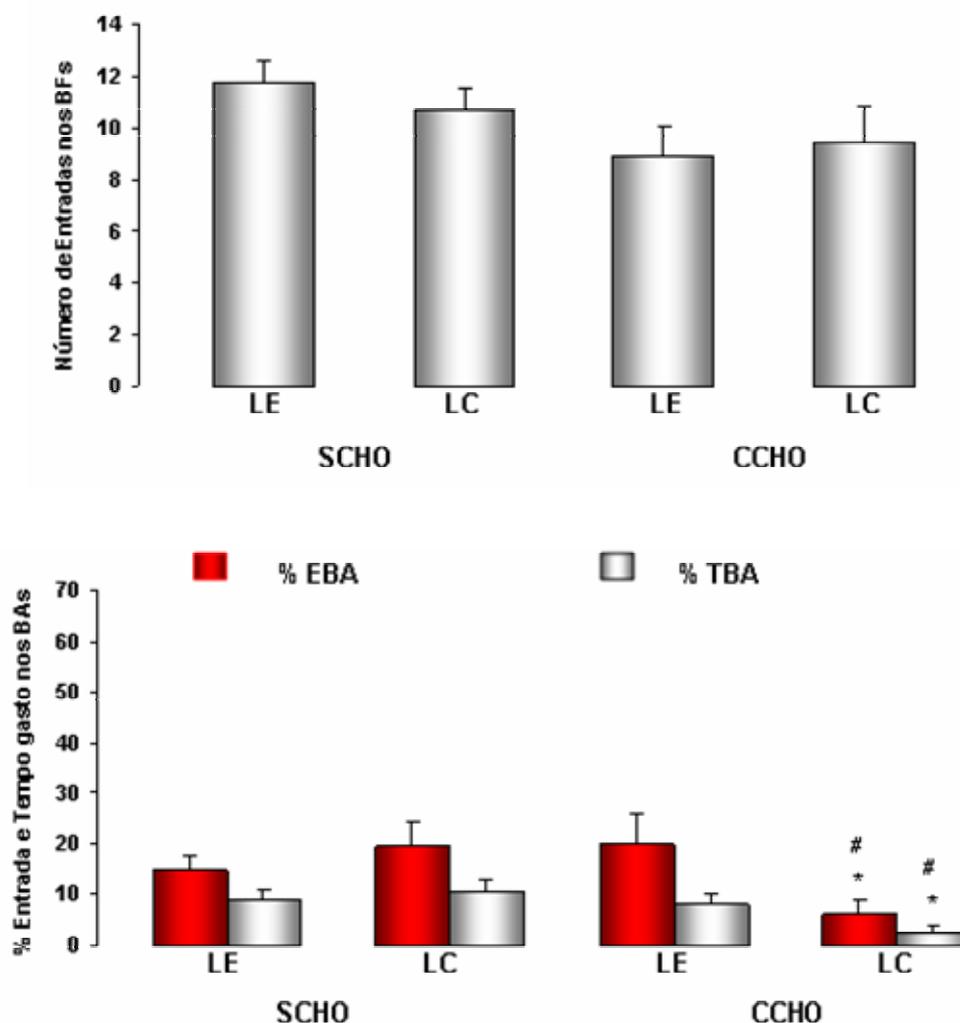


Figura 3. Efeito do modelo de TEPT sobre a frequência de entrada nos braços fechados (BFs) e as porcentagens de entrada e de tempo gasto nos braços abertos (BAs) do LCE em camundongos (n=11-12). As colunas representam a média e o erro padrão da média (M+EPM) do número de entrada nos braços fechados e as porcentagens de entrada e do tempo gasto nos BAs do LCE.

* $P < 0,05$ comparado ao LE CCHO (ANOVA de duas vias seguido do teste de Duncan).

$P < 0,05$ comparado ao grupo LC SCHO (ANOVA de duas vias seguido do teste de Duncan).

A Figura 4 mostra o efeito do TEPT, com SL no LE e no LC da caixa, sobre o comportamento de camundongos expostos ao teste claro escuro (CE). A ANOVA de duas vias (Fator 1: estímulo e Fator 2: local da SL) revelou que os grupos que foram reexpostos durante as SL no LE e LC da caixa apresentaram alteração das medidas de ansiedade [latência de fuga do ambiente claro - LF: alteração significativa para o estímulo ($F_{(1,43)} = 27,65$; $P < 0,05$), local de reexposição durante SL ($F_{(1,43)} = 9,04$; $P < 0,05$) e da interação estímulo x local de reexposição durante SL ($F_{(1,43)} = 8,79$; $P < 0,05$); tempo gasto no compartimento claro - TC: alteração significativa para o estímulo ($F_{(1,43)} = 43,21$; $P < 0,05$), local de reexposição

durante SL ($F_{(1,43)} = 15,65$; $P < 0,05$) e sem alteração para a interação estímulo x local de reexposição durante SL ($F_{(1,43)} = 2,58$; $P > 0,05$).

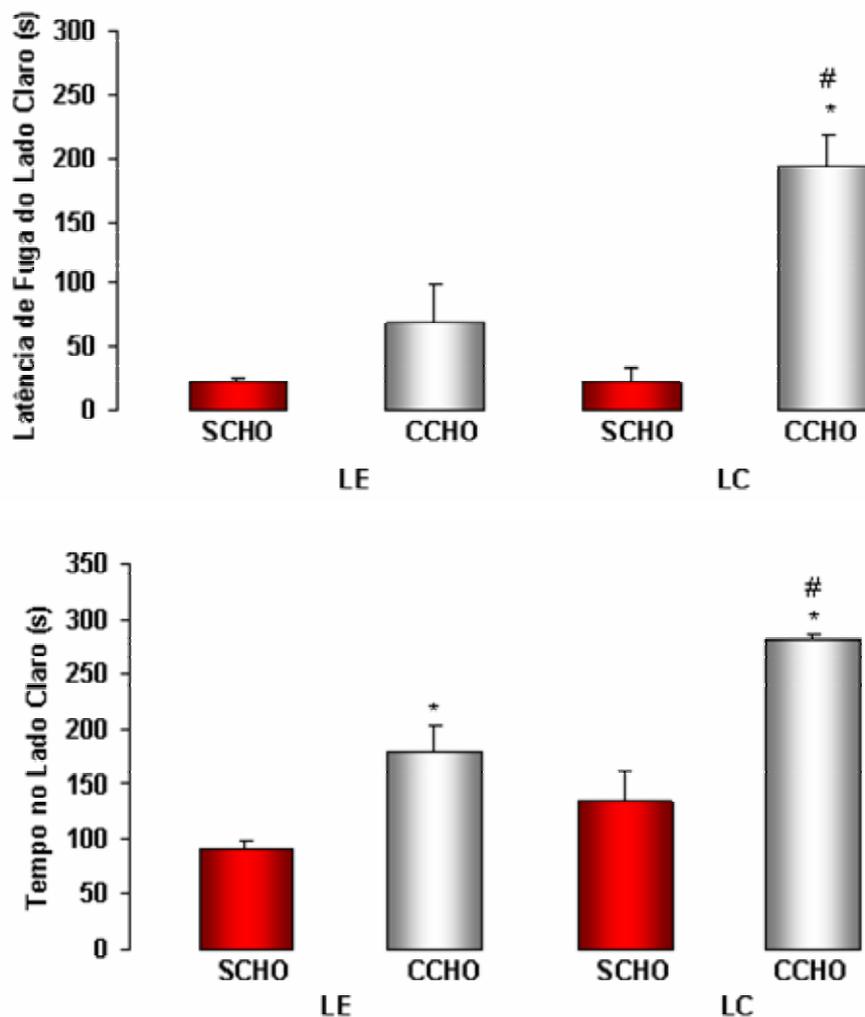


Figura 4. Efeito do modelo de TEPT sobre a latência de fuga do ambiente claro (LF) e tempo gasto no compartimento claro (TC) do teste CE em camundongos ($n=11-12$). As colunas representam as médias e o erro padrão da média ($M+EPM$) da latência de fuga e tempo gasto no compartimento claro da caixa CE.

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

$P < 0,05$ comparado ao grupo CCHO LE (ANOVA de duas vias seguido do teste de Duncan).

Análises posteriores utilizando comparações múltiplas Teste de Duncan, mostraram que os grupos que receberam choque nas patas durante o treinamento (CCHO) e foram reexpostos durante as SL no LC da caixa, apresentaram aumento das LF ($P < 0,05$) e do TC ($P < 0,05$), quando comparado ao grupo que não recebeu choque nas patas durante o treinamento (SCHO). Os animais que foram reexpostos durante as SL no LE não apresentaram alteração na LF ($P > 0,05$), entretanto ocorreu aumento no TC ($P < 0,05$),

ambos quando comparados ao grupo que não recebeu choque nas patas durante o treinamento (SCHO).

4.2 Experimento 2 – Efeito do tratamento com midazolam em camundongos submetidos ao modelo de TEPT.

A Figura 5 mostra o efeito das injeções de midazolam, sobre o comportamento de camundongos expostos ao LCE após passarem pelo modelo de TEPT.

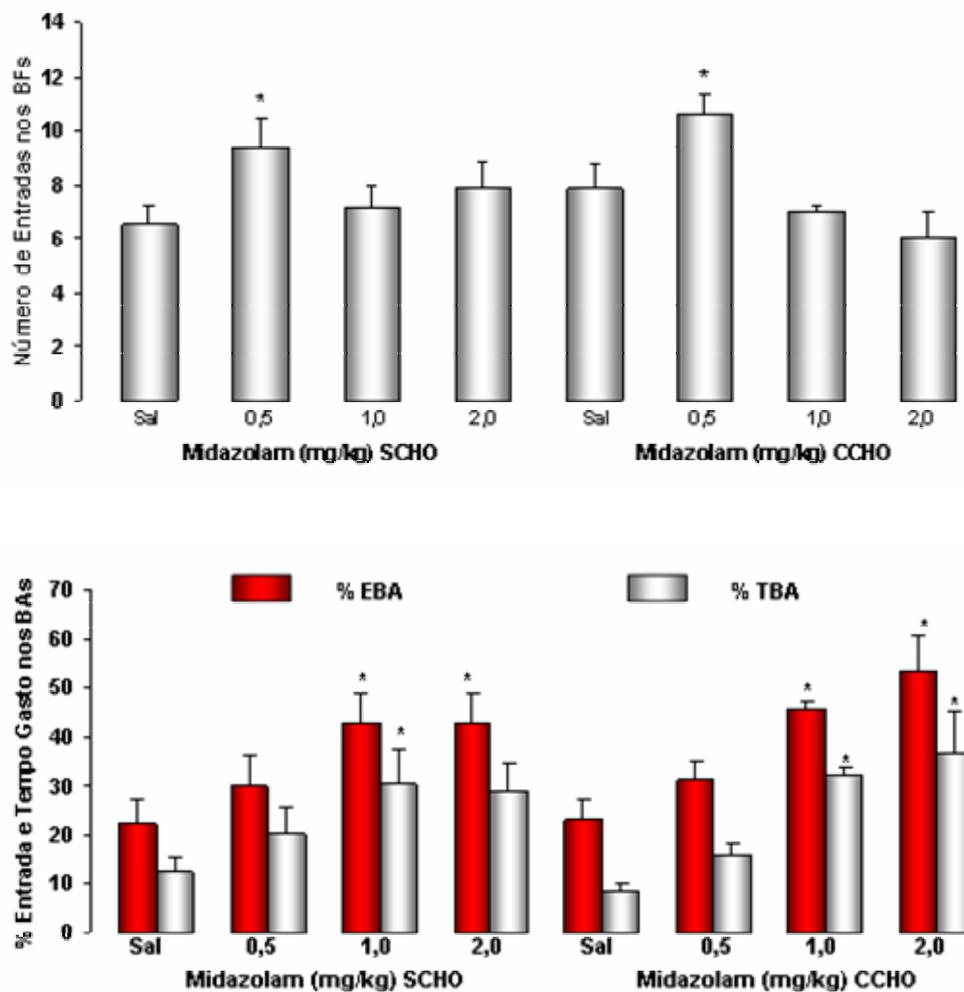


Figura 5. Efeito do tratamento com midazolam sobre a frequência de entradas nos braços fechados (BFs) e as porcentagens de entradas e de tempo gasto nos braços abertos (BAs) do LCE em camundongos (n=9-15). As colunas representam as médias e o erro padrão da média (M+EPM) do número de entrada nos braços fechados e as porcentagens de entradas e do tempo gasto nos BAs do LCE.

* $P < 0,05$ comparado ao respectivo controle salina (ANOVA de duas vias seguido do teste de Duncan).

A ANOVA de duas vias (Fator 1: estímulo e Fator 2: tratamento) revelou que os grupos que foram tratados com midazolam (MDZ) apresentaram alteração das medidas de ansiedade [%EBA: sem alteração significativa para o estímulo ($F_{(1,87)} = 0,71$; $P > 0,05$),

alteração significativa no tratamento farmacológico ($F_{(3,87)} = 7,46$; $P < 0,05$) e sem alteração da interação estímulo x tratamento farmacológico ($F_{(3,87)} = 0,26$; $P > 0,05$); %TBA: sem alteração significativa para o estímulo ($F_{(1,87)} = 0,007$; $P > 0,05$), alteração significativa no tratamento farmacológico ($F_{(3,87)} = 7,30$; $P < 0,05$) e sem alteração da interação estímulo x tratamento farmacológico ($F_{(3,87)} = 0,52$; $P > 0,05$) e EBF: sem alteração do estímulo ($F_{(1,87)} = 0,04$; $P > 0,05$), alteração significativa no tratamento farmacológico ($F_{(3,87)} = 5,96$; $P < 0,05$) e sem alteração da interação estímulo x tratamento farmacológico ($F_{(3,87)} = 1,25$; $P > 0,05$), quando comparados ao grupo SCHO.

Análises posteriores utilizando comparações múltiplas Teste de Duncan, mostraram que o tratamento com MDZ nas doses de 1,0 e 2,0 mg/kg, aumentou a %EBA ($P < 0,05$) para os camundongos dos grupos SCHO e CCHO, e aumentou a %TBA ($P < 0,05$) somente para os camundongos do grupo SCHO. Enquanto que a dose de 0,5 mg/kg de MDZ não alterou os índices de ansiedade ($P > 0,05$). Nenhum dos tratamentos com MDZ produziu alteração da atividade locomotora (EBF) nos grupos SCHO e CCHO ($P > 0,05$), exceto a dose de 0,5 mg/kg de MDZ que aumentou as entradas nos braços fechados nos dois grupos SCHO e CCHO.

A Figura 6 mostra o efeito das injeções de midazolam, sobre o comportamento de camundongos expostos ao teste CE após passarem pelo modelo de TEPT. A ANOVA de duas vias (Fator 1: estímulo e Fator 2: tratamento) revelou que os grupos que foram tratados com MDZ apresentaram alteração das medidas de ansiedade [LF: alteração significativa para o estímulo ($F_{(1,87)} = 47,78$; $P < 0,05$), sem alteração significativa no tratamento ($F_{(3,87)} = 0,23$; $P > 0,05$) e alteração da interação estímulo x tratamento ($F_{(3,87)} = 1,37$; $P > 0,05$); TC: alteração significativa para o estímulo ($F_{(1,87)} = 250,63$; $P < 0,05$) e tratamento farmacológico ($F_{(3,87)} = 3,12$; $P < 0,05$), sem alteração da interação estímulo x tratamento farmacológico ($F_{(3,87)} = 2,45$; $P > 0,05$)], quando comparados ao grupo SCHO.

Análises posteriores utilizando comparações múltiplas Teste de Duncan, mostraram que os grupos que receberam choque nas patas durante o treinamento (CCHO) e foram reexpostos durante as SL no LC da caixa, apresentaram aumento das LF ($P < 0,05$) e do TC ($P < 0,05$), quando comparado ao grupo que não recebeu choque nas patas durante o treinamento (SCHO), apenas para as doses de 0, 1,0 e 2,0 mg/kg. Apesar da ANOVA ter mostrado diferença em relação ao tratamento farmacológico para TC, o *post hoc* não confirmou este efeito ($P > 0,05$).

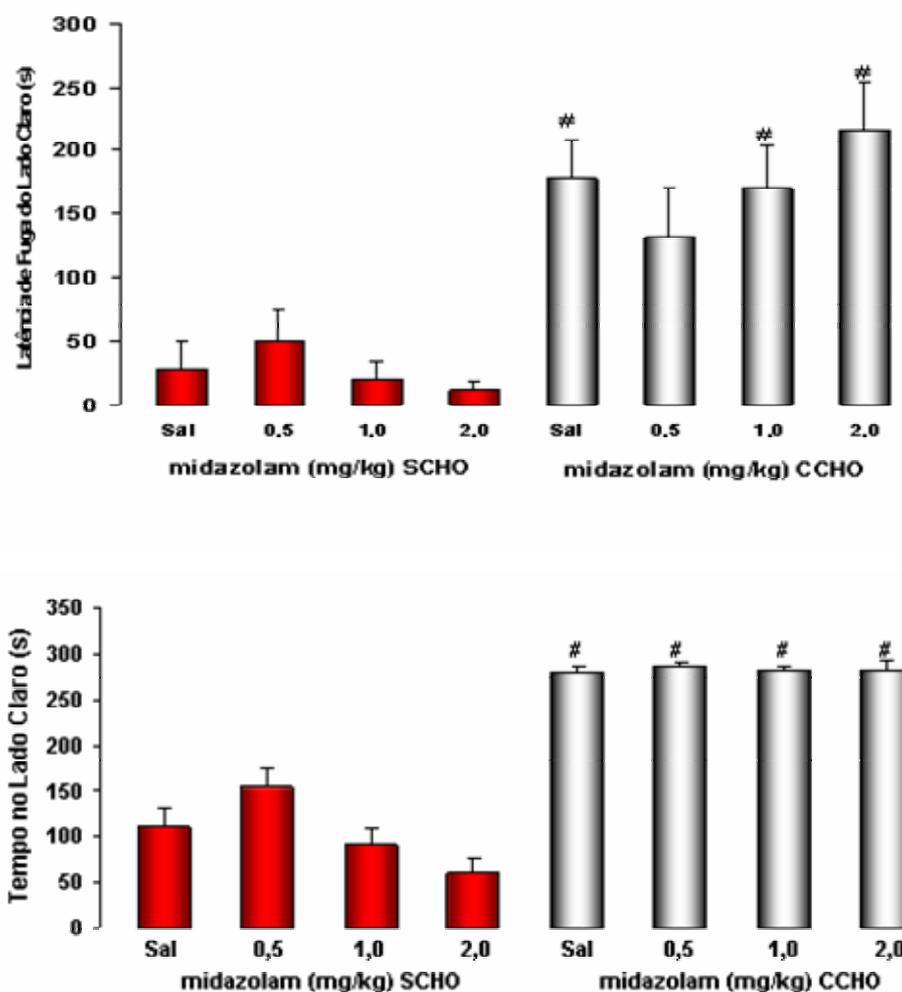


Figura 6. Efeito do tratamento com midazolam sobre a latência de fuga do ambiente claro (LF) e tempo gasto no compartimento claro (TC) do teste CE em camundongos (n=9-15). As colunas representam as médias e o erro padrão da média (M+EPM) da LF e tempo gasto no compartimento claro da caixa CE. # $P < 0,05$ comparado ao grupo SCHO (ANOVA de duas vias seguido do teste de Duncan).

4.3 Experimento 3 – Efeito do tratamento com midazolam em camundongos submetidos ao modelo de TEPT modificado.

A Figura 7 mostra o efeito das injeções de midazolam, sobre o comportamento de camundongos expostos ao teste CE após passarem pelo modelo de TEPT. A análise de variância ANOVA de duas vias (Fator 1: estímulo e Fator 2: tratamento) revelou que os grupos que foram tratados com midazolam (MDZ) apresentaram alteração das medidas

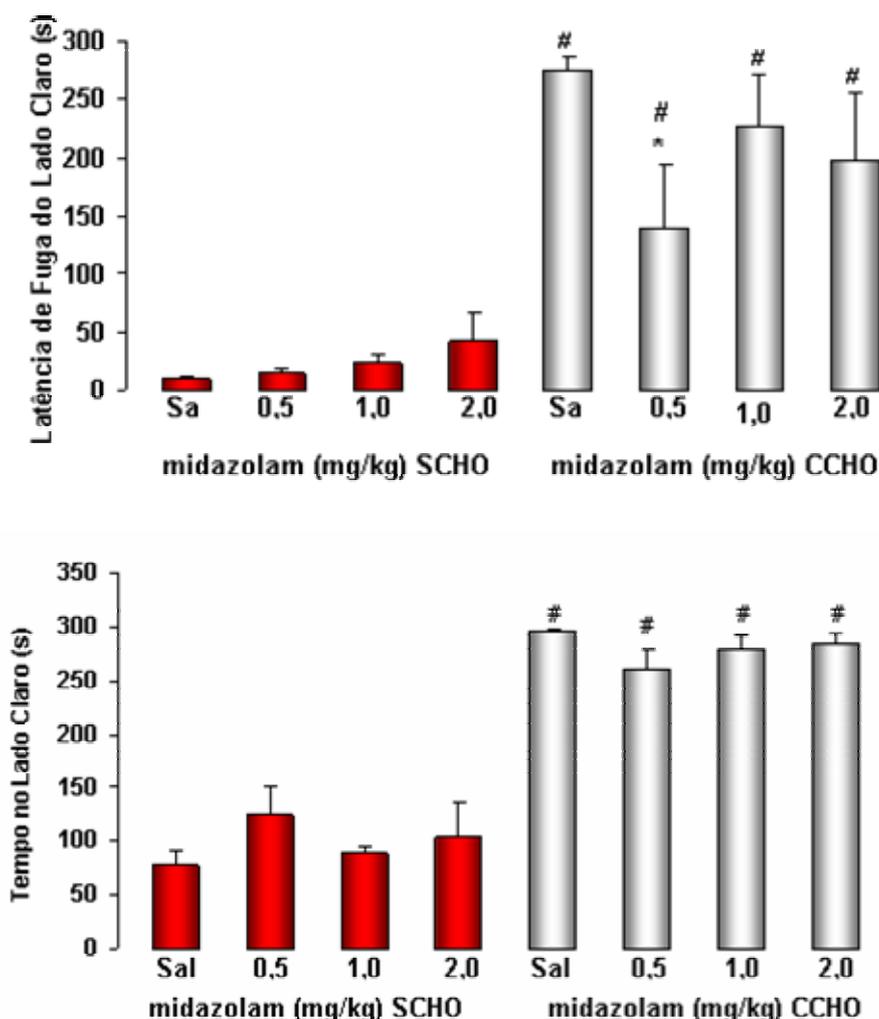


Figura 7. Efeito do tratamento com midazolam sobre a latência de fuga do ambiente claro (LF) e tempo gasto no compartimento claro (TC) do teste CE em camundongos ($n=6$). As colunas representam as médias e o erro padrão da média ($M+EPM$) da LF e tempo gasto no compartimento escuro da caixa CE.

* $P < 0,05$ comparado ao grupo CCHO salina (ANOVA de duas vias seguido do teste de Duncan).

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

convencionais de ansiedade [LF: alteração significativa para o estímulo ($F_{(1,39)} = 62,56$; $P < 0,05$), sem alteração significativa no tratamento farmacológico ($F_{(3,39)} = 1,41$; $P > 0,05$) e na interação estímulo x tratamento ($F_{(3,39)} = 1,69$; $P > 0,05$); TC: alteração significativa para o estímulo ($F_{(1,39)} = 210,94$; $P < 0,05$), sem alteração significativa no tratamento ($F_{(3,39)} = 0,14$; $P > 0,05$) e na interação estímulo x tratamento farmacológico ($F_{(3,39)} = 1,77$; $P > 0,05$)], quando comparados ao grupo SCHO.

Análises posteriores utilizando comparações múltiplas Teste de Duncan, mostraram que os grupos que receberam choque nas patas durante o treinamento (CCHO) e foram reexpostos durante as SL no LC da caixa, apresentaram aumento das LF ($P < 0,05$) e do TC ($P < 0,05$), quando comparado ao grupo que não recebeu choque nas patas durante o

treinamento (SCHO), nas doses de 0, 0,5, 1,0 e 2,0 mg/kg. Já o tratamento farmacológico com MDZ na dose de 0,5 mg/kg reduziu a LF ($P < 0,05$) para os camundongos do grupo CCHO, sem alterar o TC ($P > 0,05$). As doses de 1,0 e 2,0 mg/kg de MDZ não alteraram os índices convencionais de ansiedade do teste CE ($P > 0,05$), para os camundongos dos grupos SCHO e CCHO.

4.4 Experimento 4 – Avaliação do tratamento com imipramina em camundongos submetidos ao modelo de TEPT modificado.

A Figura 8 mostra o efeito das injeções de imipramina, sobre o comportamento de camundongos expostos ao teste CE após passarem pelo modelo de TEPT.

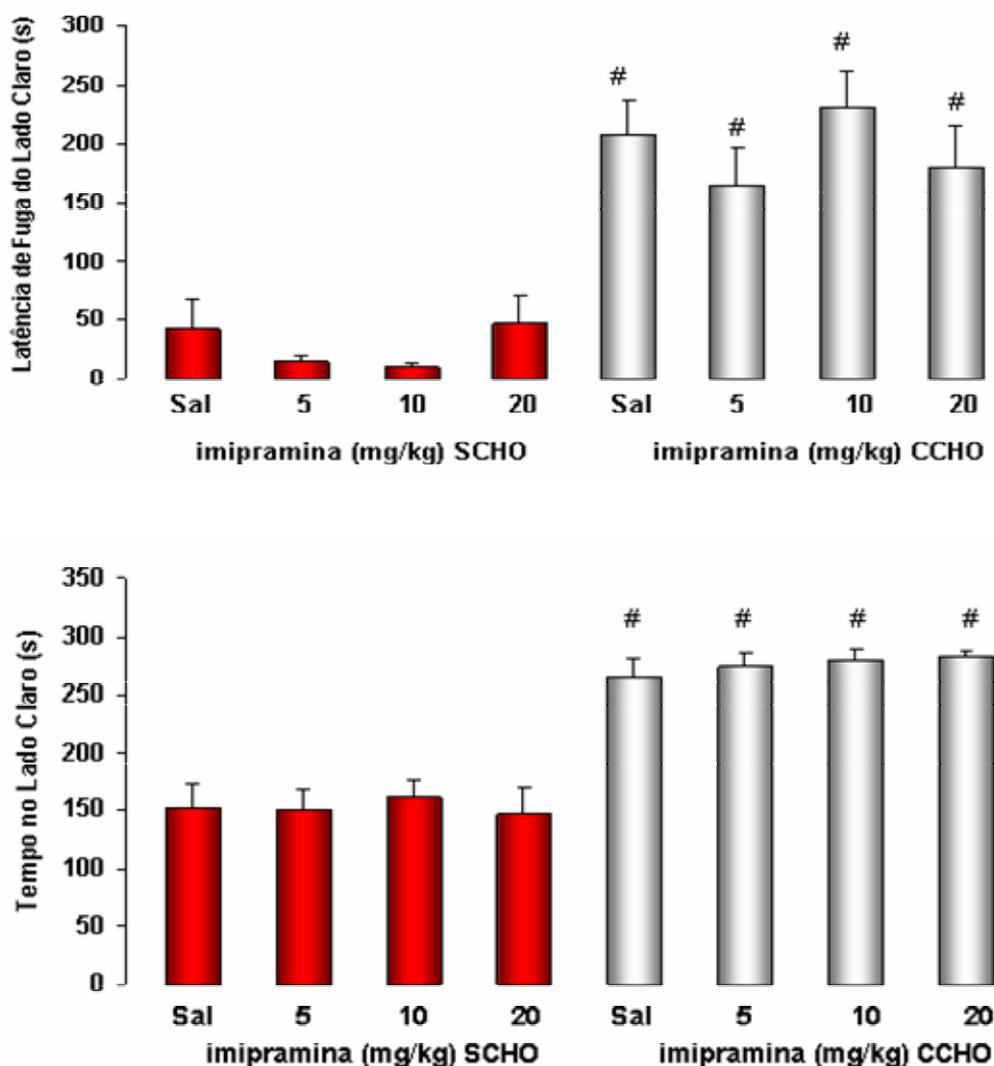


Figura 8. Efeitos do tratamento com imipramina sobre a latência de fuga do ambiente claro (LF) e tempo gasto no compartimento claro (TC) do teste CE em camundongos (n=12). As colunas representam as médias e o erro padrão da média (M+EPM) da LF e tempo gasto no compartimento escuro da caixa CE. # $P < 0,05$ comparado ao grupo SCHO (ANOVA de duas vias seguido do teste de Duncan).

A análise de variância ANOVA de duas vias (Fator 1: estímulo e Fator 2: tratamento) revelou que os grupos que foram tratados com imipramina apresentaram os seguintes resultados [LF: alteração significativa para o estímulo ($F_{(1,88)} = 84,63$; $P < 0,05$), sem alteração significativa no tratamento farmacológico ($F_{(3,88)} = 0,71$; $P > 0,05$) e interação estímulo x tratamento farmacológico ($F_{(3,88)} = 1,06$; $P > 0,05$); TC: alteração significativa para o estímulo ($F_{(1,88)} = 110,86$; $P < 0,05$), sem alteração significativa no tratamento farmacológico ($F_{(3,88)} = 0,26$; $P > 0,05$) e interação estímulo x tratamento farmacológico ($F_{(3,88)} = 0,04$; $P > 0,05$)], quando comparados ao grupo SCHO.

Análises posteriores utilizando comparações múltiplas, Teste de Duncan, mostraram que os grupos que receberam choque nas patas durante o treinamento (CCHO) e foram reexpostos durante as SL no LC da caixa, apresentaram aumento das LF ($P < 0,05$) e do TC ($P < 0,05$), quando comparado ao grupo que não recebeu choque nas patas durante o treinamento (SCHO), nas doses de 0, 5,0, 10,0 e 20,0 mg/kg.

4.5 Experimento 5 – Efeito do tratamento com sertralina em camundongos submetidos ao modelo de TEPT modificado.

A Figura 9 mostra o efeito das injeções de sertralina, sobre o comportamento de camundongos expostos ao teste CE após passarem pelo modelo de TEPT. A análise de variância ANOVA de duas vias (Fator 1: estímulo e Fator 2: tratamento) revelou que os grupos que foram tratados com sertralina apresentaram os seguintes resultados [LF: alteração significativa para o estímulo ($F_{(1,66)} = 7,19$; $P < 0,05$), sem alteração significativa no tratamento farmacológico ($F_{(2,66)} = 1,32$; $P > 0,05$) e sem alteração da interação estímulo x tratamento farmacológico ($F_{(2,66)} = 2,76 > 0,05$); TC: alteração significativa para o estímulo ($F_{(1,66)} = 99,14$; $P < 0,05$), sem alteração significativa no tratamento farmacológico ($F_{(2,66)} = 0,26$; $P > 0,05$) e sem alteração da interação estímulo x tratamento farmacológico ($F_{(2,66)} = 1,85$; $P > 0,05$)], quando comparados ao grupo SCHO.

Análises posteriores utilizando comparações múltiplas Teste de Duncan, mostraram que os grupos que receberam choque nas patas durante o treinamento (CCHO) e foram reexpostos durante as SL no LC da caixa, apresentaram aumento das LF ($P < 0,05$) e do TC ($P < 0,05$), quando comparado ao grupo que não recebeu choque nas patas durante o treinamento (SCHO), nas doses de 0, 5,0 e 10,0 mg/kg. Já o tratamento farmacológico com sertralina na dose de 5,0 mg/kg reduziu a LF ($P < 0,05$) para os camundongos do grupo CCHO, sem alterar

o TC ($P > 0,05$) enquanto que a dose de 10,0 mg/kg não alterou os índices convencionais de ansiedade do teste CE ($P > 0,05$), para os camundongos dos grupos SCHO e CCHO.

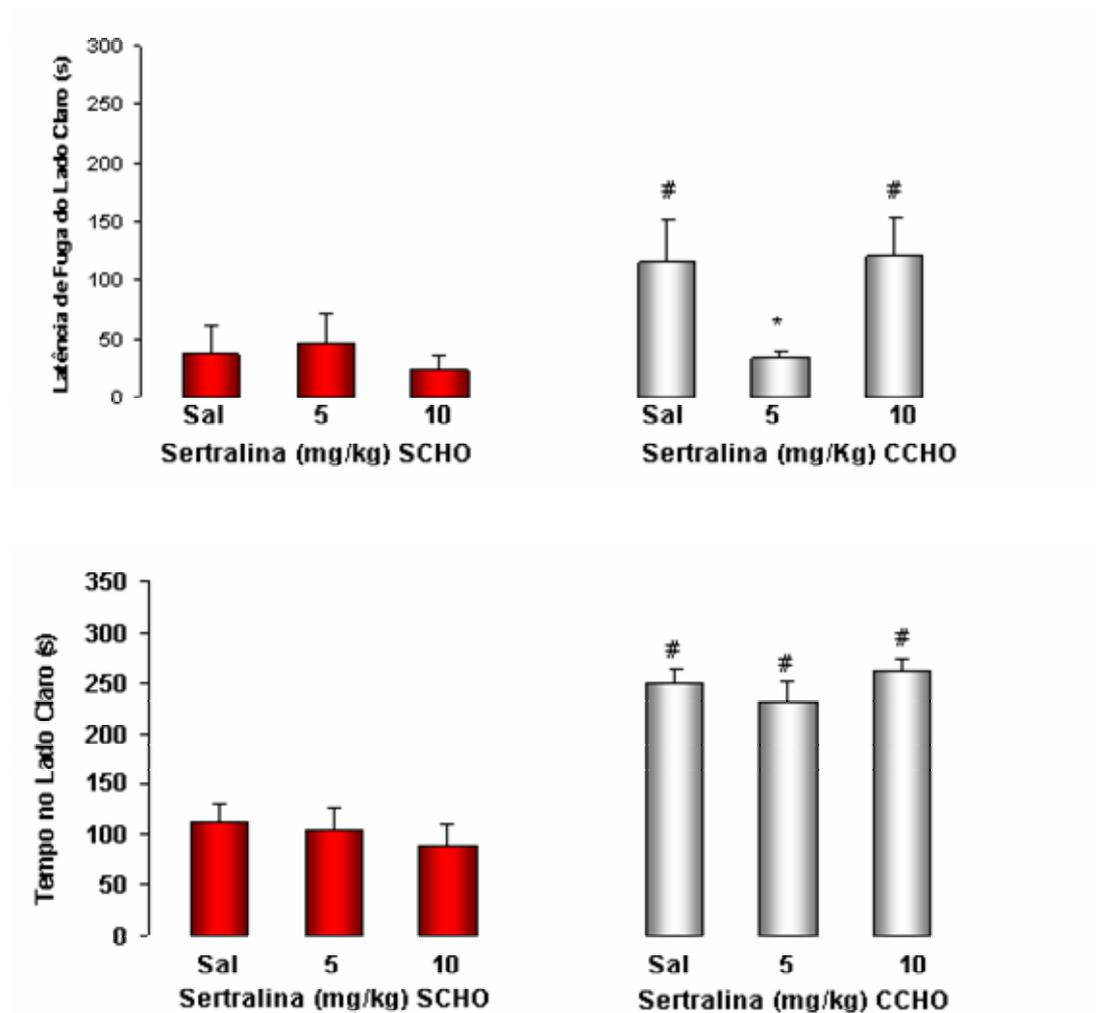


Figura 9. Efeito do tratamento com sertralina sobre a latência de fuga do ambiente claro (LF) e tempo gasto no compartimento claro (TC) do teste CE em camundongos ($n=12$). As colunas representam as médias e o erro padrão da média ($M+EPM$) da LF e tempo gasto no compartimento claro da caixa CE.

* $P < 0,05$ comparado ao grupo salina CCHO (ANOVA de duas vias seguido do teste de Duncan).

$P < 0,05$ comparado respectivamente ao grupo SCHO (ANOVA de duas vias seguido do teste de Duncan).

5. DISCUSSÃO

O presente estudo avaliou os efeitos comportamentais de um procedimento aversivo em longo prazo, em camundongos machos. Os resultados obtidos mostraram que o modelo de TEPT proposto para ratos, produz aumento da ansiedade em camundongos, e esta pode ser bloqueada quando os animais são reexpostos durante as situações de lembrança no ambiente que haviam recebido choque inescapável. O tratamento com midazolam produziu efeito ansiolítico, dependente da dose, no labirinto em cruz elevado (LCE) e ausência de efeito no teste claro-escuro (CE). A imipramina não apresentou efeito sobre os camundongos submetidos ao modelo de TEPT, e a sertralina (5,0 mg/kg), produziu efeito ansiolítico no teste CE.

Os nossos resultados, experimento 1, demonstram que um breve e único choque nas patas seguido de situações de lembranças induz alterações comportamentais por mais de um mês após o evento aversivo. Segundo o DSM- IV- TR (2000), na clínica, para o diagnóstico do transtorno de estresse pós-traumático (TEPT) em humanos, os sintomas devem estar presentes por mais de um mês (Stam, 2007b). O modelo animal de TEPT proposto neste experimento indica que o modelo parece ser sensível para o estudo deste distúrbio.

Os resultados apresentados mostram que o modelo de TEPT modificado de Louvart et al. (2005), com reexposição no lado claro (LC) da caixa CE, aumentaram os parâmetros convencionais de ansiedade avaliados no LCE, e no teste CE, sugerindo efeito ansiogênico do modelo sobre os camundongos. Resultados semelhantes foram observados anteriormente em outro estudo, em camundongos machos e ratos fêmeas (Louvart et al., 2005; Matar et al., 2006).

Entretanto os animais que foram reexpostos no lado escuro da caixa, durante as situações de lembrança, apresentaram extinção do aumento dos parâmetros de ansiedade avaliados no LCE e no teste CE, apenas para a medida de latência de fuga do LC, ou seja, ocorreu a perda do efeito ansiogênico do modelo. Os animais com SL no lado escuro da caixa, no teste CE não apresentaram extinção dos parâmetros de ansiedade, avaliados pelo tempo total de permanência no compartimento claro. Porém, a magnitude da resposta foi menor se comparada quando as reexposições ocorreram no lado claro da caixa no teste CE.

Os resultados também mostraram que a atividade locomotora avaliada no LCE no experimento 1 (Lister, 1987; File, 1992), não foi alterada, assim como observado em outros trabalhos (Pynnos et al., 1996). Porém, em outro estudo empregando o modelo de TEPT foi obtida redução da atividade locomotora em ratos fêmeas (Louvart et al., 2005).

Vários trabalhos da literatura têm demonstrado que durante a exposição ao LCE, roedores ingênuos, como por exemplo, ratos (Handley & Mithani, 1984; Pellow et al., 1985; File & Gonzalez, 1996; Rosa et al., 2000) e camundongos (Lister, 1987; Holmes & Rodgers, 1998; Nunes-de-Souza, 2000; Tucker et al., 2004) exibem comportamento caracterizado por evitação dos braços abertos e preferência pelos braços fechados do labirinto, sem alteração da atividade locomotora, caracterizada pelas entradas nos braços fechados.

No teste CE, camundongos geralmente gastam mais tempo no compartimento escuro do que no compartimento claro (Sanchez, 1996; Hascoet & Bourin 1998). Interessantemente em nosso estudo, 34 dias após o choque nas patas, os camundongos evitaram o compartimento escuro, indicando que a lembrança do estímulo aversivo causou resposta de fuga. Alguns autores têm demonstrado que o medo generalizado no contexto comportamental é intensificado quando estímulos condicionados são aumentados (Laxmi et al., 2003). Neste sentido, os nossos resultados corroboram a teoria que o medo apresenta a função de mover o animal para longe da fonte de perigo, podendo envolver fuga, luta ou congelamento e é insensível a drogas ansiolíticas (Gray, 1982; Mcnaughton & Corr, 2004).

Tentando distinguir os comportamentos relacionados com ansiedade e medo, alguns autores sugerem que quando o estímulo ou situação ameaçadora é real, os comportamentos desencadeados (fuga e luta) representariam medo, enquanto os que representam ansiedade (avaliação de risco) seriam desencadeados por estímulos ou situações apenas potencialmente ameaçadoras (Blanchard et al., 1993). Assim, os modelos animais de medo e ansiedade favoreceriam a expressão dos comportamentos defensivos frente a situações artificiais ou naturais de perigo, permitindo a compreensão das suas bases biológicas subjacentes.

No nosso estudo, a situação de lembrança no ambiente escuro (mesmo ambiente do choque) desencadeou o processo de dessensibilização, ou seja, extinção do efeito do choque nas patas, provavelmente ocorrido pelo fato dos animais terem sido reexpostos no LE, sem receber choque nas patas, o que não ocorreu no dia do treinamento. Este processo de extinção das alterações comportamentais que ocorreu nos testes do LCE e CE é semelhante ao que ocorre no “step down”, ou seja, à medida que os animais são reexpostos ao ambiente aversivo, sem receber estimulação elétrica, ocorre diminuição da latência de descida da plataforma, até que ocorra a extinção comportamental por completo (Hiramatsu et al., 1992; Roesler et al., 2000).

No experimento 2, o tratamento com midazolam nas doses de 1,0 e 2,0 mg/kg (i.p.), produziram efeito ansiolítico, em camundongos avaliados no LCE após a presença ou não do estímulo aversivo (choque). Estes efeitos foram seletivos para os índices de ansiedade, não

afetando a atividade locomotora dos camundongos, medida pela frequência de entradas nos braços fechados do LCE (Lister, 1987; File et al., 1992 a; Rodgers & Johnson, 1995; Rodgers et al., 1997). Já a dose de 0,5 mg/kg não alterou os índices convencionais de ansiedade avaliados no LCE, porém aumentou as entradas nos braços fechados, índice de atividade locomotora, nos dois grupos SCHO e CCHO. Apesar do possível efeito de sedação induzido pela droga nesta concentração, ser oposto ao aumento da atividade locomotora, neste estudo e em outros, doses maiores não produziram alterações das EBF no LCE (Lister, 1987; Nunes-de-Souza, 2000).

Vários estudos com roedores têm demonstrado que durante a exposição ao LCE, estes animais exibem um comportamento exploratório caracterizado por evitação dos braços abertos e preferência pelos braços fechados do labirinto (Lister, 1987; File, 1992; Rodgers & Johnson, 1995; Rodgers et al., 1997). Os benzodiazepínicos (BDZs) e outros compostos ansiolíticos são capazes de modificar este padrão comportamental em roedores, diminuindo os índices convencionais de ansiedade, ou seja, aumentando a porcentagem de entradas e o tempo gasto nos braços abertos do labirinto (Pellow et al., 1985; Lister, 1987; ; Rodgers & Cole, 1994; Holmes & Rodgers, 1999; Nunes-de-Souza et al., 2000).

No nosso estudo, a administração sistêmica de salina, tanto nos animais que não receberam o estímulo aversivo (choque nas patas) como para os que receberam, causou ausência de efeitos, ou seja, ocorreu a perda do efeito ansiogênico produzido pelo modelo. Provavelmente, o procedimento de administração farmacológica (intraperitoneal) no grupo controle pode ter sido aversivo no dia do teste, fazendo com que estes dois grupos distintos apresentassem resultados semelhantes. Na tentativa de minimizar este efeito, realizamos um estudo piloto onde os animais passaram por um período de habituação ao procedimento de administração, sem droga. Porém, permaneceu a ausência do efeito ansiogênico como observado no LCE no experimento 2 (resultados não publicados).

Outros trabalhos têm demonstrado que diferentes variáveis, tais como o tipo de alojamento dos animais, iluminação, temperatura, podem interferir na avaliação da resposta de ansiedade em diferentes modelos (Griebel, 1995; Martinez et al., 2007; Morato et al., 1989; Morato & Brandão, 1996; Salome et al., 2002), entretanto, provavelmente isso não ocorreu no nosso estudo. Também já está descrito na literatura que ocorre uma correlação entre o aumento do cortisol plasmático e o efeito ansiogênico obtido no LCE (Rodgers et al., 1999). Na clínica e no modelo animal descrito por Louvard et al. (2005), o TEPT promove hiporeatividade do eixo HPA e baixos níveis de cortisol plasmático (Yehuda et al., 1995). Porém no nosso estudo não foi realizado a medida de corticosterona.

Quando os camundongos foram avaliados no teste CE após a exposição ao LCE, o efeito ansiogênico do modelo foi mantido. Os animais que receberam tratamento com MDZ nas doses de 1,0 e 2,0 mg/kg no dia do teste CE, apresentaram aumento da latência de fuga e do tempo gasto no compartimento claro, sem alteração da atividade exploratória. O tratamento com MDZ na dose de 0,5 mg/kg aumentou apenas a atividade exploratória, representada pelo aumento no número de transições entre os dois compartimentos (dados não publicados).

Apesar das inconsistências encontradas na literatura (Yehuda & Harvey, 1997), outros trabalhos têm demonstrado que o sistema gabaérgico também tem sido implicado na fisiopatologia da ansiedade, depressão e insônia, que são distúrbios muitas vezes intrínsecos no TEPT (Vaiva et al., 2004), assim como a modulação do eixo HPA pelo GABA (Yehuda et al., 2000).

O LCE não interfere nos índices convencionais de ansiedade avaliados no teste CE, conforme demonstrado no experimento 3, ou seja, os animais testados no modelo de TEPT com tratamento farmacológico (MDZ), sem o LCE, apresentaram resultados semelhantes aos obtidos no experimento 2. Assim, apenas a dose de 0,5 mg/kg no experimento 3, reduziu a latência de fuga do ambiente claro e aumentou o número de transições entre os compartimentos. Provavelmente, isso ocorreu porque a exploração do lado escuro da caixa pelos camundongos evocou a lembrança aversiva do choque nas patas, produzindo o retorno imediato ao lado claro.

Outros autores encontraram resultados semelhantes no teste CE, ou seja, a administração de MDZ aumentou a atividade locomotora, caracterizada pelo aumento no número de transições entre os compartimentos, porém ocorreu o aumento do tempo no compartimento claro, em camundongos machos (Imaizumi et al., 1994), o que não foi observado no nosso estudo.

Como acontece na clínica onde os ansiolíticos atuam em apenas alguns dos sintomas do TEPT (Albucher & Liberzon, 2002; Stam, 2007a), neste experimento o MDZ alterou apenas um índice de ansiedade no teste CE, o que de certa forma reforça a hipótese do envolvimento do sistema gabaérgico na modulação do TEPT.

No experimento 4, as doses de 10 e 20 mg/kg aumentaram a atividade exploratória, porém nenhuma das três doses de imipramina foi capaz de alterar os índices convencionais de ansiedade dos animais que passaram pelo modelo de TEPT modificado. O teste CE continuou, produzindo efeito ansiogênico, caracterizado pelo aumento da latência de fuga e do tempo total gasto no ambiente claro. Segundo Costall et al., (1989), a iluminação do

ambiente claro é suficientemente aversiva, para fazer com que os animais retornem ao lado escuro da caixa. Porém, no nosso estudo, o efeito aversivo ao ambiente escuro, provocado pelo modelo de TEPT modificado, foi maior do que o efeito aversivo da iluminação. Desta forma, conforme esperávamos o tratamento com imipramina não foi capaz de inibir o efeito do modelo sobre o comportamento dos animais. Neste sentido, resultados da clínica têm demonstrado que o tratamento com os antidepressivos tricíclicos apresenta pouco ou nenhum efeito em humanos com TEPT, exceto para o sintoma de revivência. Por exemplo, um estudo com aplicação crônica de imipramina (300 mg/dia) por 8 semanas, produziu melhora significativa dos sintomas de revivência do trauma (Kosten et al., 1991). Entretanto, a utilização de desipramina, (200 mg/dia), melhorou alguns sintomas depressivos, mas não alterou nenhum dos sintomas que caracterizam o TEPT (Reist et al., 1989).

Outros autores também não encontraram efeito dos antidepressivos tricíclicos, tetracíclicos e inibidores seletivos da enzima monoamino oxidase no teste CE utilizando camundongos, porém nesses estudos não foi aplicado nenhum tipo de estímulo aversivo prévio. Neste sentido, nenhum efeito foi encontrado no teste CE, após a administração dos fármacos, amitriptilina, mianserina, fluoxetina e selegilina (Costall, et al., 1989; Griebel, 1995; Bourin, et al., 1996; De Angelis & Furlan, 2000). Entretanto, em outros trabalhos, a administração de imipramina e paroxetina, produziu efeito ansiolítico em camundongos machos (Bourin et al., 1996; Shimada et al., 1995; Hascoet et al. 2000).

No experimento 5, o tratamento agudo com o inibidor seletivo da recaptação de serotonina, sertralina na dose de 5,0 mg/kg, inibiu o efeito ansiogênico do modelo, representado pela latência de fuga do ambiente claro. Também aumentou a atividade exploratória, caracterizada pelo aumento no número de transições entre os compartimentos. Porém, a dose de 10 mg/kg não interferiu na resposta do modelo de TEPT modificado. Outros autores também encontraram evidências do efeito ansiolítico, ansiogênico e ausência de efeitos de agonistas e antagonistas de serotonina, no teste CE. Por exemplo, foi encontrado efeito ansiolítico utilizando buspirona que é um agonista dos receptores 5-HT_{1A}, efeito ansiogênico com infusão de ritanserina, antagonista dos receptores 5-HT₂ e ausência de efeito com mCPP, agonista 5-HT₂ (Costall et al., 1988; Griebel et al., 1991; Hascoet & Bourin, 1998).

O complexo papel da serotonina no controle dos estados de ansiedade pode estar relacionado ao tipo de medo, ou seja, condicionado ou incondicionado e também pelo local de ação da serotonina em diferentes regiões cerebrais (Deakin & Graeff, 1991; Handley, 1995; Graeff et al., 1996; Green & McGregor, 2002; Davidson, 2003). Dessa forma, segundo a

teoria de Deakin e Graeff, (1991), a serotonina pode atuar facilitando ou inibindo o comportamento defensivo, isso dependendo do sítio de ação e dos subtipos de receptores serotoninérgicos que atuam no sistema nervoso central. Assim, os núcleos da rafe disparam seus axônios para várias estruturas cerebrais. Porém, isso não implica necessariamente que a 5-HT exerça ação pró ou antiaversiva em todos os sítios pós-sinápticos. Assim, a serotonina pode apresentar um papel dual no sistema de defesa, atuando como ansiolítica ou ansiogênica, dependendo das características do estímulo aversivo (proximal ou distal, condicionado ou incondicionado).

No nosso trabalho, ambos os estímulos foram apresentados em momentos diferentes. Inicialmente, os animais receberam um estímulo aversivo incondicionado (choque nas patas), e posteriormente foram expostos ao estímulo condicionado (situações de lembrança). Apesar de estímulos diferentes estarem atuando no mesmo modelo, a sertralina, inibidor seletivo da recaptação da serotonina, provavelmente facilitou o aumento da concentração de serotonina na fenda sináptica, exercendo neste caso efeito ansiolítico no teste CE. Este resultado corrobora com diversos estudos clínicos, os quais têm mostrado que os inibidores seletivos de recaptação de serotonina, são recomendados como agentes farmacoterapêuticos de primeira escolha no tratamento agudo e crônico do TEPT (Zohar et al., 2002; Davidson, 2003; Davidson, 2004; Tucker et al., 2004).

6. CONCLUSÃO

Diante dos resultados obtidos neste estudo, concluímos que:

- O modelo de TEPT avaliado produz aumento da ansiedade em camundongos, e esta pode ser bloqueada quando os animais são reexpostos durante as situações de lembrança no ambiente que haviam recebido choque.
- O tratamento com midazolam produziu efeito ansiolítico dependente da dose no LCE, e ausência de efeito no teste CE. A dose mais baixa de midazolam reduziu a latência de fuga do ambiente claro e aumentou a atividade exploratória neste teste, sugerindo o envolvimento deste agonista GABA-benzodiazepínico na modulação do TEPT.
- Os comportamentos dos camundongos não foram alterados pelo tratamento com imipramina, fortalecendo resultados da literatura que mostram a ausência de efeito deste antidepressivo tricíclico nos sintomas do TEPT.
- O tratamento com sertralina (dose mais baixa) produziu efeito ansiolítico no teste CE, sugerindo o envolvimento deste inibidor seletivo da recaptação de serotonina na modulação do modelo de TEPT.

Portanto, o modelo proposto neste trabalho pode ser útil para futuros estudos dos distúrbios neurobiológicos do TEPT e ajudar na avaliação de novos agentes terapêuticos que possam amenizar ou inibir estes sintomas.

7. REFERÊNCIAS

ALBUCHER, R.C.; LIBERZON, I. Psychopharmacological treatment in PTSD: a critical review. **Journal of Psychiatric Research**, v. 36, p. 355-367, 2002.

AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION. **Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders: DSM-IV-TR** (4 TH, text revision. Ed.). Washington, DC: American Psychiatric Association, 2000.

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

BELZUNG, C.; MISSLIN R.; VOGEL, E.; DODD R.H.; CHAPOUTHIER G. Anxiogenic effects of methylcarboline-carboxylate in a light/dark choice situation. **Pharmac. B&hem. Behav.**, v. 28, p. 29-33, 1987.

BLANCHARD, R.J.; FLANNELLY, K.J.; BLANCHARD, D.C., Defensive reactions of laboratory and wild *Rattus norvegicus*. **J. Comp. Physiol. Psychol.**, v. 100, p. 101-107, 1986.

BLANCHARD R.J.; YUDKO, E.B.; RODGERS R.J.; BLANCHARD, D.C. Defense system psychopharmacology: an ethological approach to the pharmacology of fear and anxiety. **Behavioural Brain Research.**, v. 58, p.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. **Neurosci. Biobehav. Rev.**, v. 21, p. 783-789, 1997.

BLANCHARD, D.C.; GRIEBEL, G.; BLANCHARD, R.J. The mouse defense test battery: pharmacological and behavioral assays for anxiety and panic. **Eur. J. Pharmacol.**, v. 463, p. 97-116, 2003.

BOURIN M.; REDROBE J.P.; HASCOET M.; BAKER G.B.; COLOMBEL M.C. A schematic representation of the psychopharmacological profile of antidepressants. *Prog. Psychopharmacol.* **Biol. Psychiat.**, v. 20, p. 1389-1402, 1996.

BRANDÃO, M.L.; ANSELONI, V.Z.; PANDÓSSIO J.E.; DE ARAÚJO J.E.; CASTILHO, V.M. Neurochemical mechanisms of the defensive behavior in the dorsal midbrain. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, v. 23, p.863-75, 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**, v.25, p. 36-41, 2003.

BREMNER, D.; RANDALL, P.; SCOTT, T.M.; BRONEN, R.A.; SEIBYL, J.P.; SOUTHWICK, S.M. MRI-based measurement of hippocampal volume in patients with combat-related posttraumatic stress disorder. **Am. J. Psychiatry**, v. 154, p. 624-9, 1995.

CID-10: Classificação de transtornos mentais e de comportamento: descrições clínicas e diretrizes diagnósticas. Dorgival Caetano (Trad.). Porto Alegre: **Artmed**, 351, p.1993.

COHEN, H.; ZOHAR, J.; MATAR, M. The relevance of differential response to trauma in an animal model of posttraumatic stress disorder. **Biol. Psychiatry**, v.53, p.463–473, 2003.

COLE, J.C.; RODGERS, R.J. Ethological comparison of the effects of diazepam and acute chronic imipramine on the behavior of mice in the elevated plus-maze. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 52, n.3, p.473-478, 1995.

COSTALL, B.; KELLY, M.E.; NAYLOR, R.J.; ONAIVI, E.S. Actions of buspirone in a putative model of anxiety in the mouse. **J. Pharm. Pharmacol.**, v.40, p.494-500. 1988.

COSTALL, B.; JONES, B.J.; KELLY, M.E.; NAYLOR, R.J.; TOMKINS, D.M. Exploration of mice in a black and white test box: validation as a model of anxiety. **Pharmacol. Biochem. Behav.**, v.32, p.777–785, 1989.

COSTALL, B.; JONES, B.J.; KELLY, M.E.; NAYLOR, R.J.; ONAIVI, E.S.; TYERS M.B. Sites of action of ondansetron to inhibit withdrawal from drugs of abuse. **Pharmacol. Biochem. Behav.**, v.3, p.97-104, 1990.

CRAWLEY, J.N.; GOODWIN, F.K. Preliminary report of a simple animal behaviour for the anxiolytic effects of benzodiazepines. **Phannac. Biochem. Behav.**, v.13, p.167-170, 1980.

DAVIDSON, J. Drug therapy of post-traumatic stress disorder. **Br. J. Psychiatry.**, v.160, p.390-14, 1992.

DAVIDSON, J.R. Treatment of posttraumatic stress disorder: the impact of paroxetine. **Psychopharmacol. Bull.**, v.37, p.76–88, 2003.

DAVIDSON, J.R. Remission in post-traumatic stress disorder (PTSD): effects of sertraline as assessed by the Davidson Trauma Scale, Clinical Global Impressions and the Clinician-Administered PTSD scale. **Int. Clin. Psychopharmacol.**, v.19, p.85–87, 2004.

DE ANGELIS, L.; FURLAN, C. The anxiolytic like properties of two selective MAOIs, moclobemide and selegiline, in a standard and an enhanced light/dark aversion test. **Pharmac. Biochem. Behav.**, v.65, p.649-653, 2000.

DEAKIN, J.F.W. Depression and 5-HT. **Int. Clin. Psychopharmacol.**, v. 6, p. 23–28, 1991.

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

DRACTU, L.; LADER, M. Ansiedade: Conceito, Classificação e Biologia. Uma interpretação contemporânea de literatura. **J. Bras. Psiq.**, v. 42, p. 19-32, 1993.

FILE, S.E. Behavioural detection of anxiolytic action. In: Elliott J.M., Heal D.J., MARSDEN, C. A. **Experimental Approaches to Anxiety and Depression**. J. Wiley, Chichester, p. 25-44, 1992 b.

FILE, S.E.; ANDREWS, N.; WU, P.Y.; ZHARKOVSKY, A.; ZANGROSSI, H. Modification of chlordiazepoxide's neurochemical effects by handling and plus-maze experience. **European Journal of Pharmacology**, v.218, p.9-14, 1992 a.

FILE, S.E.; GONZALEZ, L.E. Anxiolytic effects in the plus-maze of 5-HT_{1A} receptor ligands in dorsal raphe and ventral hippocampus. *Pharmacol., Biochem Behav.*, v. 54, p. 123-128, 1996.

FOA, E.B.; ZINBARG, R.; ROTHBAUM, B.O. Uncontrollability and Unpredictability in post-traumatic stress disorder: an animal model. **Psychol. Bull.**, v.112, p.218-238, 1992.

FRIEDMAN, M.J. Toward rational pharmacotherapy for post-traumatic stress disorder: an interim report. **Am J Psychiatry**, v.145, p.281-5, 1988.

GRAEFF, F.G.; GUIMARÃES, F.S.; ANDRADE, T.G.C.S.; DEAKIN, J.F.W. Role of 5-HT in stress, anxiety, and depression. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v.54, n.1, p.129-141, 1996.

GRAHN, R.G.; KALMAN, B.A.; BRENNAN, F.X.; WATRINS, L.R.; MAIER, S.F. The elevated plus-maze is not sensitive to the effect of stressor controllability in Rats. **Pharmacol., Biochem. And Behavior**. v. 52 (3), p. 565-570, 1995.

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

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

GREEN, A.R.; MCGREGOR, I.S. On the anxiogenic and anxiolytic nature of long-term cerebral 5-HT depletion following MDMA. **Psychopharmacol.**, v. 162, p. 448–450, 2002.

GRIEBEL, G.; MISSLIN, J.R.; PAWLOWSKI, M.; VOGEL, E. m- Chlorophenylpiperazine enhances neophobic and anxious behaviour in mice. **Neuroreport**, v.2, p.627-629, 1991.

GRIEBEL, G. 5-Hydroxytryptamine-interacting drugs in animal models of anxiety disorders: more than 30 years of research. **Pharmacol. Ther. Fi.**, p.319-395, 1995.

GUIMARÃES, F.S.; Bases Neurais. In: GRAEFF, F.G.; GUIMARÃES, F.S. Fundamentos de Psicofarmacologia, São Paulo: **Editora Atheneu**, p. 53-68, 2001.

HAMILTON, M.; ZACHARKO, R. M.; ANISMAN, H. Influence of p-chloroamphetamine and methysergide on the escape deficits provoked by inescapable shock. **Psychopharmacology**, v. 90, p.203–206, 1986.

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

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

HASCOET M.; BOURIN M. A new approach to the light/dark procedure in mice. **Pharmacol. Biochem. Behav.** v.60, p.645-653, 1998.

HASCOET, M.; BOURIN, M.; COLOMBEL, M.C.; FIOCCO, A.J.; BAKER, G.B. Anxiolytic-like effects of antidepressants after acute administration in a four plate test in mice. **Pharmacol. B&hem. Behav.**, v. 67: 339-344, 2000.

HEINRICHS, S.C.; PICH, E.M.; MICZEK, K.A.; BRITTON, K.T.; KOOB, G.F. Corticotropin-releasing factor antagonist reduces emotionality in socially defeated rats via direct neurotropic action. **Brain Research.**, v. 581, p. 190-197, 1992.

HETEM, L.A.B., GRAEFF, F.G. **Transtornos de Ansiedade**. São Paulo: Editora Atheneu, 2004.

HIRAMATSU, M. ; KOIDE, T.; ISHIHARA, S.; SHIOTANI, T.; KAMEYAMA, T.; NABESHIMA, T. Involvement of the cholinergic system in the effects of nefiracetam (dm-9384) on carbon monoxide (co)-induced acute and delayed amnesia. **European Journal of Pharmacology**, v. 216, n.2, p.279-285, 1992.

HOGG, S. A review of the validity and reliability of the elevated plus-maze as a model of anxiety. **Pharmacology, Biochemistry & Behavior**, v.54, p.21-30, 1996.

HOLMES, A.; RODGERS, R.J. Responses of Swiss-Webster mice to repeated plus-maze experience: further evidence for qualitative shift in emotional state? **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**. v.60, p.473-488, 1998.

HOLMES, A.; RODGERS, R.J. Influence of spatial and temporal manipulations on the anxiolytic efficacy of chlordiazepoxide in mice previously exposed to the elevated plus maze.

Neuroscience and Biobehavioral Reviews. v.23, p.971-980, 1999.

IMAIZUMI M.; SUZUKI T.; MACHIDA H.; ONODERA K. A fully automated apparatus for a light/dark test measuring anxiolytic or anxiogenic effects of drugs in mice. **Jpn. J. Psychopharmacol.** v.14, p.83-91, 1994.

KARL, A.; SCHAEFER, M.; MALTA, L.S.; DORFEL, D.; ROHLEDER, N.; WERNER, A.

A meta-analysis of structural brain abnormalities in PTSD. **Neuroscience and Biobehavioural Reviews.** v 30, p.1004-1031, 2006.

KATZ, L.; FLEISHER, W.; KJERNISTED, K.; MILANESE P. A review of the psychobiology and pharmacotherapy of post-traumatic stress disorder. **Can. J. Psychiatry,**

v.41, p. 233-8, 1996.

KIM, J.; GORMAN, J. The psychobiology of anxiety. **Clinical Neuroscience Research,** v.4, p.335-47, 2005.

KOSTEN, T.R.; MASON, J.W.; GILLER E.L. Sustained urinary norepinephrine and epinephrine elevation in post-traumatic stress disorder. **Psychoneuroendocrinol,** v.12, p.13-

20, 1987.

KOSTEN, T.R.; FRANK, J.B.; DAN E. Pharmacotherapy for post-traumatic stress disorder using phenelzine or imipramine. **J Nerv Ment Dis.,** v.179, p.366-70, 1991.

LAXMI, T.R.; STORK, O.; PAPE, H.C. Generalisation of conditioned fear and its behavioural expression in mice. **Behav. Brain Res.,** v.145, p.89-98, 2003.

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

LOUVART, H.; MACCARI, S.; DUCROQ, E.; THOMAS P.; DARNAUDERY, M. Long-term behavioural alterations in female rats after a single intense footshock followed by situational reminders. **Psychoneuroendocrinology**, v.30, n.4, p. 316-24, 2005.

MARTINEZ, R.C.R.; GARCIA, A.M.B.; LAMPREA, M.R.; MORATO, S. Thermal stress decreases general motor activity of rats in the elevated plus-maze but does not alter aversion to the open arms. **Behavioural Brain Research**. v.182, p. 35-139, 2007.

MATAR, M.A.; COHEN, H.; KAPLAN Z.; ZOHAR, J. The Effect of Early Poststressor Intervention with Sertraline on Behavioral Responses in an Animal Model of Post-Traumatic Stress Disorder. **Neuropsychopharmacology**, v.31, p.2610–2618, 2006.

MCEWEN, B.S. The neurobiology of stress: from serendipity to clinical relevance. **Brain Res**, v.886, p.172– 89, 2000.

MCNAUGHTON, N.; CORR, P.J. A two-dimensional neuropharmacology of defense: fear/anxiety and defensive distance. **Neurosc. and Biobehav. Rev.**, v. 28, p. 285-305. 2004.

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

MORATO, S.; CASTRECHINEI, P. Effects of floor and enviromental illumination on exploratory activity in the elevated plus-maze. **Braz. J. Méd. Biol. Res.**, v. 22, p.707-10, 1989.

MORATO, S.; BRANDÃO, M.L. Transporting rats to the situation on a cart can modify rat exploratory behavior in the elevated plus-maze. **Psychobiology**, v. 24, p. 247-52, 1996.

NATIONAL CENTER FOR POSTTRAUMATIC STRESS DISORDER. Disponível em: < <http://www.ncptsd.va.gov/ncmain/index.jsp> >. Acesso em: 20 de novembro de 2007.

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. **Psychopharmacology**, v.150, p.300-310, 2000.

NUTT, D.J. The psychobiology of post-traumatic stress disorder. **J. Clin. Psychiatry**, v.61, n.5, p.24-9, 2000.

NUTT, D.J.; MALIZIA, A.L. Structural and function brain changes in posttraumatic stress disorder. **Journal of Clinical Psychiatry**, v. 65 (Suppl. 1), p.11-17, 2004.

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

PEREIRA, M.E.C. Mudanças no conceito de ansiedade. In: HETEM, L.A.B.; GRAEFF, F.G. **Transtornos de ansiedade**. São Paulo: Editora Científica Nacional Ltda, p. 13-47, 1997.

PYNNOS, R.S.; RITZMANN, R.F.; STEINBERG, A.M.; GOENJIAN, A.; PRISECARU, I. A behavioral animal model of post-traumatic stress disorder featuring repeated exposure to situational reminders. **Biol. Psychiatry**, n.39, p.129–134, 1996.

REIST, C.; KAUFFMANN, C.D.; HAIER R.J. ET AL.; SANGDAHL, C.; DEMET, E.M.; CHICZ-DEMET, A.; NELSON, J.N. A controlled trial of desipramine in 18 men with post-traumatic stress disorder. **Am. J. Psychiatry**, v.146, n.4, p.513-6, 1989.

RESNIK, H.S.; YEHUDA, R.; PITMAN, R.K.; FOY, D.W. Effect of previous trauma on acute plasma cortisol level following rape. **Am J Psychiatry**, v.152, p.1675-7, 1995.

RODGERS, R.J.; COLE, J.C. Anxiety enhancement in the murine elevated plus maze by immediate prior exposure to social stressors. **Physiology & Behavior**, v. 53, p. 383-388, 1993.

RODGERS, R.J.; COLE, J.C. The elevated plus-maze: pharmacology, methodology and ethology. **J. Wiley**, Chichester, p. 9-44, 1994.

RODGERS, R.J.; HALLER, J.; HOLMES, A.; HALASZ, J.; WALTON, T.J.; BRAIN PF. Corticosterone response to the plus-maze High correlation with risk assessment in rats and mice. **Physiology & Behavior**, v. 68, p. 47-53, 1999.

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**, v.52, p.297-303, 1995.

RODGERS, R.J.; CUTLER, M.G.; JACKSON, J.E. Behavioural effects in mice of subchronic buspirone, ondansetron and tianeptine: II. The elevated plus-maze. **Pharmacol Biochem Behav**, v.56, p.295-303, 1997.

ROESLER, R.; VIANNA, M.R.M.; DE-PARIS, F.; RODRIGUES, C.; SANT'ANNA, M.K.; QUEVEDO, J.; FERREIRA, M.C. NMDA receptor antagonism in the basolateral amygdala blocks enhancement of inhibitory avoidance learning in previously trained rats. **Behavioural Brain Research**, v.112, p.99–105, 2000.

ROSA, V.P.; VANDRESSEN, N.; CALIXTO, A.V.; KOVALESKI, D.F.; FARIA, M.S. Temporal analysis of the rat's behavior in the plus-maze: effect of midazolam. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**, v.67, p.177-182, 2000.

SALOME, N.; VILTART, O.; DARNAUDERY, M.; SALCHNER, P.; SINGEWALD, N.; LANDGRAF, R.; SEQUEIRA, H.; WIGGER, A. Reliability of high and low anxiety-related behaviour: influence of laboratory environment and multifactorial analysis. **Behav. Brain Res**, v.136, p.227–237, 2002.

SANCHEZ, C. 5HT (1A) receptors play an important role in modulation of behaviour of rats in a two-compartment black and white box. **Behav. Pharmacol.**, v.1, p.788-797, 1996.

SCHMITT, R.; KAPCZINSKI, F. Transtorno de Ansiedade Generalizada. In: HETEM, L.A.B., GRAEFF, F.G. **Transtornos de Ansiedade**. São Paulo: Editora Atheneu, p. 265-283, 2004.

SEGAL, M. Serotonergic innervation of the locus ceruleus from the dorsal raphe and action on responses to noxious stimuli. **J. Physiol.**, v.286, p.401-15, 1979.

SHIBASAKI, T.; TSUMORI, C.; HOTTA, M.; IMAKI, T.; YAMADA, K.; DEMURA, H. The response pattern of noradrenaline release to repeated stress in the hypothalamic paraventricular nucleus differs according to the form of stress in rats. **Brain Res.**, v.670, p.169– 72, 1995.

SHIMADA, T.; MATSUMOTO, K.; OSANAI, M.; MATSUDA, H.; TERASAWA, K.; WATANABE, H. The modified light/dark transition test in mice: evaluation of classic and putative anxiolytic and anxiogenic drugs. **Gen. Pharmac.**, v.2, p.205-210, 1995.

SHORT, R.R.; MAIER, S.F. Stressor controllability, social interaction and benzodiazepine systems. **Pharmacol. Biochem. Behav.**, v. 45, p. 827-835, 1993.

SMITH M.E. Bilateral hippocampal volume reduction in adults with post-traumatic stress disorder: a meta-analysis of structural MRI studies. **Hippocampus.**, p. 798-807, 2005.

SOUTHWICK, S.M.; KRYSTAL, J.H.; MORGAN, C.A. Yohimbine and m-chlorophenylpiperazine in PTSD. American Psychiatric Association Annual Meeting. **New Research Abstracts**, v.348, p.131-2, 1991.

SOUTHWICK, S.M.; KRYSTAL, J.H.; MORGAN C.A. ET AL.; JOHNSON, D. NAGY, L.M.; NICOLAOU, A.; HENINGER, G.R; CHARNEY, D.S. Abnormal noradrenergic function in posttraumatic stress disorder. **Arch. Gen. Psychiatry**, v.50, p.266-74, 1993.

STAM, R.; BRUIJNZEEL, A.W.; WIEGANT, V.M. Long-lasting stress sensitisation. **Eur. J. Pharmacol.**, v.405, p.217– 24, 2000.

STAM R. PTSD and stress sensitization: A tale of brain and body part 1: Human studies. **Neuroscience and Biobehavioural Reviews**, v. 31, p. 530-557, 2007a.

STAM, R. PTSD and stress sensitization: A tale of brain and body part 2: Animal models. **Neuroscience and Biobehavioural Reviews**, v. 31, p. 558-584, 2007b.

STEENBERGEN, H.L.; HEINSBROEK, R.P.W.; VAN HEST, A.; VAN DE POLL, N.E. Sex-dependent effects of inescapable shock administration on shuttlebox escape performance and elevated plus-maze behavior. **Physiol. Behav.**, v. 48, p. 571-576, 1990.

STEPHENS, D.N.; MELDRUM, B.S.; WEIDMANN, R.; SCHNEIDER, C.; GRUTZNER, M. Does the excitatory amino acid receptor antagonist 2-APH exhibit anxiolytic activity?. **Psychopharmacology**, v. 90, p. 166-169, 1986.

TUCKER, P.; RUWE, W.D.; MASTERS, B.; PARKER, D.E.; HOSSAIN, A.; TRAUTMAN, R.P.; WYATT, D.B. Neuroimmune and cortisol changes in selective serotonin reuptake inhibitor and placebo treatment of chronic posttraumatic stress disorder. **Biol Psychiatry**, v.56, p.121–128, 2004.

VAIVA, G.; THOMAS, P.; DUCROCQ, F.; FONTAINE, M.; BOSS, V.; DEVOS, P.; COTTENCIN, O.; BRUNET, A.; LAFFARGUE, P.; GOUDEMANT, M. Low posttrauma GABA plasma levels as a predictive factor in the development of acute posttraumatic stress disorder. **Biol Psychiatry**, v.55, n. 3, p. 250- 54, 2004.

VIOLA, J.; DITZLER, T.; BATZER, W.; HARAZIN, J.; ADAMS, D.; LETTICH, L.; BERIGAN, T. Pharmacological management of post-traumatic stress disorder: clinical summary of a five-year retrospective study, 1990-1995. **Military Medicine** v.9, p.616-9, 1997.

WALL, P.M.; MESSIER, C. Ethological confirmatory factor analysis of anxiety-like behaviour in the murine elevated plus-maze. **Behavioural Brain Research**, v.114, p.199–212, 2000.

WANG, J.; AKIRAV, I.; RICHTER-LEVIN, G. Short-term behavioral and electrophysiological consequences of underwater trauma. **Physiol. Behav.**, v.70, p.327–332, 2000.

WILNER, P. The validity of animal models of depression. **Psychopharmacology**, v. 83, p. 1-16, 1984.

YEHUDA, R.; ANTELMAN, S. M. Criteria for rationally evaluating animal models of post-traumatic stress disorder. **Bio. Psychiatry**, v.33, p.479-486, 1993.

YEHUDA, R.; KAHANA, B.; BINDER-BRYNES, K.; SOUTHWICK, S.M.; MASON, J.W.; GILLER, E.L. Low urinary cortisol in holocaust survivors with TEPT. **Am J Psychiatry**, v.152, p.982-6, 1995.

YEHUDA, R.; HARVEY H. Relevance of neuroendocrine alterations in PTSD to cognitive impairments of trauma survivors. In: Read D, Lindsay S, eds. *Recollections of trauma:*

scientific research and clinical practice. Dordrecht: **Kluwer Academic Publishers Group**. p.1-22. 1997.

YEHUDA, R.; BIERER, L.M.; SCHMEIDLER, J.; AFERIAT, D.H.; BRESLAU, I.; DOLAN, S. Low cortisol and risk for PTSD in adult offspring of holocaust survivors. **Am. J. Psychiatry**, v.157, p.1252-9. 2000.

YOUNG, R.; JOHNSON, D.N. A fully automated light/dark apparatus useful for comparing anxiolytic agents. *Pharmac. Biochem. Behav.*, v.40, p.739-743, 1991.

ZANGROSSI, H.; FILE, S.E. Behavioural consequences in animal tests of anxiety and exploration of exposure to cat odor. **Brain Res. Bull.**, v. 29, p. 381-388, 1992.

ZOHAR, J.; AMITAL, D.; MIODOWNIK, C.; KOTLER, M.; BLEICH, A.; LANE, R.M.; AUSTIN, C. Double-blind placebo-controlled pilot study of sertraline in military veterans with posttraumatic stress disorder. **J Clin Psychopharmacol.**, v.22, p.190–195, 2002.

8. APÊNDICE

Quadro 1: Registro das medidas convencionais em camundongos submetidos ao LCE após passarem pelo modelo de TEPT com reexposições no lado claro e escuro.

SCHO Reexposição no LE

sujeito	TE	EBA	EBF	TBA	TBF	TCe	%EBA	%EBF	%TBA	%TBF	%TC
1	18	4	14	37	117	146	23,22	77,78	12,20	39,06	48,74
2	12	1	11	19	197	84	9,33	91,67	6,30	66,69	28,00
3	14	2	12	35	142	124	15,28	85,71	11,52	47,27	41,20
4	13	4	9	42	114	144	31,76	69,23	13,99	37,96	48,04
5	17	2	15	16	188	96	12,76	86,24	5,37	62,73	31,89
6	12	2	10	43	168	89	17,66	83,33	14,22	56,15	29,62
7	9	2	7	46	109	145	23,22	77,78	15,30	36,35	48,35
8	9	0	9	0	168	132	1,00	100,00	0,00	55,98	44,02
9	14	4	10	54	122	124	29,57	71,43	18,14	40,64	41,21
10	18	1	17	1	170	129	6,55	94,44	0,47	56,66	42,87
11	18	3	15	31	146	123	17,66	83,33	10,45	48,64	40,90
12	12	0	12	0	178	122	1,0	100,0	0,00	59,48	40,51
Média	13,83	2,08	11,75	26,99	151,65	121,34	15,75	85,25	9,00	50,55	40,45
DPM	3,30	1,44	2,99	19,17	30,81	21,29	10,16	10,17	6,39	10,27	7,10
EPM	0,95	0,42	0,86	5,54	8,90	6,15	2,93	2,93	1,85	2,97	2,05

SCHO Reexposição no LC

sujeito	TE	EBA	EBF	TBA	TBF	TCe	%EBA	%EBF	%TBA	%TBF	%TC
1	8	2	6	38	201	62	26,00	75,00	12,50	66,88	20,61
2	13	0	13	0	175	125	1,00	100,00	0,00	58,45	41,55
3	13	4	9	44	91	164	31,76	69,23	14,78	30,41	54,80
4	19	6	13	56	140	105	32,57	68,42	18,53	46,59	34,87
5	13	1	12	24	140	136	8,69	92,31	8,16	46,63	45,20
6	10	0	10	0	200	100	1,00	100,00	0,00	66,61	33,38
7	11	1	10	2	170	128	10,09	90,91	0,70	56,56	42,74
8	18	2	16	27	156	117	12,11	88,89	8,87	52,02	39,11
9	15	7	8	63	156	81	47,66	53,33	21,07	52,01	26,92
10	14	4	10	43	161	96	29,57	71,43	14,43	53,61	31,95
11	15	4	11	52	120	128	27,66	73,33	17,32	39,88	42,80
Média	13,55	2,82	10,73	31,73	155,36	112,89	20,74	80,26	10,58	51,79	37,63
DPM	3,24	2,36	2,72	22,95	32,46	28,22	15,01	15,01	7,65	10,82	9,41
EPM	0,98	0,71	0,82	6,92	9,79	8,51	4,52	4,53	2,31	3,26	2,84

CCHO Reexposição no LE

sujeito	TE	EBA	EBF	TBA	TBF	TCe	%EBA	%EBF	%TBA	%TBF	%TC
1	17	3	14	27	174	99	18,64	82,35	8,96	57,99	33,04
2	4	2	2	37	246	16	51,00	50,00	12,38	82,16	5,45
3	13	0	13	0	236	64	1,00	100,00	0,00	78,61	21,38
4	9	2	7	43	120	137	23,22	77,78	14,47	39,96	45,57
5	14	6	8	57	134	109	57,62	57,14	18,87	44,69	36,44
6	6	0	6	0	164	136	1,00	100,00	0,00	54,55	45,45
7	11	4	7	60	146	94	37,36	63,64	20,01	48,63	31,36
8	10	3	7	39	129	132	31,00	70,00	13,10	42,92	43,98
9	7	1	6	11	165	124	15,28	85,71	3,79	54,91	41,29
10	17	2	15	20	198	82	12,76	88,24	6,64	66,05	27,30
11	10	0	10	0	182	118	1,00	100,00	0,00	60,50	39,49
12	5	0	12	0	174	126	1,00	100,00	0,00	58,11	41,88
Média	10,25	1,92	8,92	24,56	172,27	103,16	20,91	81,24	8,19	57,42	34,39
DPM	4,37	1,88	3,90	22,62	39,59	35,51	19,82	17,79	7,54	13,20	11,84
EPM	1,26	0,54	1,12	6,53	11,43	10,25	5,72	5,14	2,18	3,81	3,42

CCHO Reexposição no LC

sujeito	TE	EBA	EBF	TBA	TBF	TCe	%EBA	%EBF	%TBA	%TBF	%TC
1	11	0	11	0	197	103	1,00	100,00	0,00	65,55	34,45
2	6	1	5	3	158	139	17,66	83,33	0,88	52,75	46,37
3	17	0	17	0	213	87	1,00	100,00	0,00	71,08	28,92
4	18	0	18	0	161	139	1,00	100,00	0,00	53,55	46,44
5	16	4	12	38	117	145	26,00	75,00	12,61	39,09	48,29
6	10	0	10	0	124	176	1,00	100,00	0,00	41,27	58,73
7	7	0	7	0	123	177	1,00	100,00	0,00	41,03	58,96
8	8	0	8	0	83	217	1,00	100,00	0,00	27,72	72,28
9	10	0	10	0	146	154	1,00	100,00	0,00	48,68	51,32
10	8	1	7	10	164	127	13,50	87,50	3,30	54,51	42,19
11	10	2	8	39	110	152	21,00	80,00	12,85	36,54	50,60
12	1	0	1	0	274	26	1,00	100,00	0,00	91,48	8,51
Média	10,17	0,67	9,50	7,41	155,82	136,77	7,18	93,82	2,47	51,94	45,59
DPM	4,90	1,23	4,74	14,66	52,41	48,87	9,54	9,54	4,89	17,47	16,29
EPM	1,41	0,36	1,37	4,23	15,13	14,11	2,75	2,75	1,41	5,04	4,70

Quadro 2: Registro das medidas convencionais em camundongos submetidos ao teste CE após passarem pelo modelo de TEPT com reexposições no lado claro e escuro.

SCHO Reexposição no LE

Sujeito	LF	TE	TC
1	5	220	80
2	20	190	110
3	8	185	115
4	22	195	105
5	4	182	118
6	6	266	34
7	34	192	108
8	24	230	70
9	60	217	83
10	23	190	110
11	29	215	85
12	21	238	62
Média	21,3	210,0	90,0
DPM	15,7	25,7	25,7
EPM	4,5	7,4	7,4

SCHO Reexposição no LC

Sujeito	LF	TE	TC
1	15	75	225
2	3	198	102
3	25	150	150
4	34	187	113
5	5	220	80
6	13	280	20
7	15	280	20
8	5	250	50
9	120	25	275
10	6	50	250
11	3	120	180
Média	22,18	166,82	133,18
DPM	33,90	90,23	90,23
EPM	10,22	27,20	27,20

CCHO Reexposição no LE

Sujeito	LF	TE	TC
1	7	285	15
2	300	0	300
3	3	218	82
4	40	134	166
5	7	70	230
6	220	72	228
7	19	127	173
8	28	52	208
9	170	63	237
10	5	200	100
11	13	130	170
12	15	45	255
Média	68,917	116,3	180,33
DPM	101,61	83,18	81,148
EPM	29,333	24,01	23,425

CCHO Reexposição no LC

Sujeito	LF	TE	TC
1	180	23	277
2	210	16	284
3	300	0	300
4	300	0	300
5	90	27	273
6	180	6	294
7	160	18	282
8	300	0	300
9	150	27	273
10	90	70	230
11	55	35	265
12	300	0	300
Média	192,9	18,5	281,5
DPM	90,3	20,5	20,5
EPM	26,1	5,9	5,9

Quadro 3: Registro das medidas convencionais em camundongos submetidos ao LCE após passarem pelo modelo de TEPT e tratamento com midazolam nas doses de (0, 0,5, 1,0 e 2,0 mg/Kg, i.p.).

SCHO SALINA

sujeito	TE	EBA	EBF	TBA	TBF	TCe	%EBA	%EBF	%TBA	%TBF	%TC
1	11	3	9	39	184	77	25,00	75,00	12,98	61,45	25,56
2	10	2	8	21	232	47	20,00	80,00	7,11	77,19	15,70
3	8	2	6	65	134	101	25,00	75,00	21,72	44,67	33,61
4	5	0	5	1	251	49	0,00	100,00	0,00	83,75	16,24
5	10	3	7	32	201	68	30,00	70,00	10,60	66,89	22,51
6	10	2	8	54	210	36	20,00	80,00	18,09	69,97	11,93
7	8	1	7	19	232	49	12,50	87,50	6,35	77,37	16,28
8	2	1	1	87	200	13	50,00	50,00	29,02	66,71	4,26
9	12	6	6	74	86	140	50,00	50,00	24,63	28,67	46,70
10	10	1	9	14	175	111	10,00	90,00	4,74	58,41	36,84
11	6	0	6	1	82	218	1,00	100,00	1,00	27,41	72,58
Média	8,36	1,91	6,55	37,07	180,68	82,42	22,14	77,95	12,39	60,23	27,47
DPM	2,98	1,70	2,25	29,44	57,20	57,93	16,78	16,91	9,78	19,07	19,31
EPM	0,90	0,51	0,68	8,88	17,25	17,47	5,06	5,10	2,95	5,75	5,82

SCHO 0,5 mg/kg

sujeito	TE	EBA	EBF	TBA	TBF	TCe	%EBA	%EBF	%TBA	%TBF	%TC
1	8	1	8	1	263	37	1,00	100,00	1,00	87,71	12,28
2	20	3	17	22	177	101	15,00	85,00	7,47	58,85	33,67
3	17	10	7	120	121	58	58,82	41,18	40,15	40,38	19,46
4	8	1	7	10	225	65	12,50	87,50	3,31	75,12	21,57
5	17	3	14	50	186	64	17,64	82,36	16,83	61,83	21,34
6	12	1	11	3	188	109	8,33	91,67	1,05	62,72	36,23
7	16	1	16	1	246	54	1,00	100,00	1,00	82,15	17,85
8	16	3	13	47	200	53	18,75	81,25	15,72	66,63	17,64
9	10	3	7	58	177	65	30,00	80,00	19,34	58,97	21,69
10	7	2	5	44	209	47	28,57	71,43	14,64	69,56	15,80
11	20	12	8	139	115	46	60,00	40,00	46,24	38,28	15,48
12	16	12	4	155	66	80	75,00	25,00	51,52	21,97	26,50
13	16	4	12	41	140	118	25,00	75,00	13,79	46,76	39,45
14	13	5	8	51	164	86	38,46	65,54	16,87	54,50	28,62
15	14	10	4	173	42	85	71,42	28,58	57,64	14,07	28,28
Média	14,00	4,73	9,40	61,05	167,90	71,17	30,77	70,30	20,44	55,97	23,72
DPM	4,21	4,11	4,19	57,69	62,16	24,33	24,67	24,92	19,13	20,72	8,11
EPM	1,09	1,06	1,08	14,90	16,05	6,28	6,37	6,44	4,94	5,35	2,09

SCHO 1,0 mg/kg

sujeito	TE	EBA	EBF	TBA	TBF	TCe	%EBA	%EBF	%TBA	%TBF	%TC
1	7	0	7	1	236	64	1,00	100,00	1,00	78,81	21,18
2	37	31	6	223	49	28	83,78	16,22	74,42	16,23	9,35
3	15	4	11	59	157	84	26,66	73,34	19,61	52,49	27,90
4	16	8	8	108	123	69	50,00	50,00	36,03	41,00	22,96
5	5	2	3	262	33	5	40,00	60,00	67,25	10,91	1,83
6	21	10	11	89	158	53	47,61	52,39	29,60	52,73	17,67
7	20	10	10	68	99	134	50,00	50,00	22,58	32,84	44,58
8	15	7	8	66	175	59	46,66	53,34	21,86	58,36	19,77
9	10	2	8	20	182	98	20,00	80,00	6,79	60,58	32,62
10	14	8	6	59	147	94	57,14	42,86	19,66	48,97	31,37
11	13	8	6	98	147	55	57,14	42,86	32,79	48,87	18,33
12	3	1	2	36	37	226	33,33	66,67	12,15	12,43	75,41
Média	14,67	7,58	7,17	90,77	128,56	80,74	42,78	57,31	30,31	42,85	26,91
DPM	8,96	8,18	2,82	77,64	63,12	56,59	21,01	21,20	25,81	21,04	18,86
EPM	2,59	2,36	0,81	22,41	18,22	16,34	6,07	6,12	7,45	6,07	5,45

SCHO 2,0 mg/kg

sujeito	TE	EBA	EBF	TBA	TBF	TCe	%EBA	%EBF	%TBA	%TBF	%TC
1	8	3	5	45	174	81	37,50	62,50	15,00	58,06	26,93
2	17	10	7	150	87	63	58,82	41,18	50,00	28,91	21,08
3	10	2	8	24	220	56	20,00	80,00	7,94	73,25	18,80
4	19	6	13	71	156	73	31,57	68,43	23,71	52,00	24,28
5	11	4	7	58	157	84	36,36	63,64	19,48	52,44	28,08
6	17	12	5	169	69	63	70,58	29,42	56,20	22,90	20,90
7	15	3	12	28	205	67	20,00	80,00	9,25	68,32	22,42
8	12	6	6	87	153	60	50,00	50,00	29,04	51,11	19,84
9	21	13	8	144	96	60	61,90	38,10	47,89	31,99	20,12
Média	14,44	6,56	7,89	86,17	146,33	67,48	42,97	57,03	28,72	48,78	22,49
DPM	4,42	4,13	2,85	54,96	52,42	9,78	18,30	18,30	18,32	17,47	3,26
EPM	1,47	1,38	0,95	18,32	17,47	3,26	6,10	6,10	6,11	5,82	1,09

CCHO SALINA

sujeito	TE	EBA	EBF	TBA	TBF	TCe	%EBA	%EBF	%TBA	%TBF	%TC
1	10	3	7	35	186	80	30,00	70,00	11,55	61,90	26,53
2	6	1	6	1	265	35	1,00	100,00	1,00	88,22	11,77
3	5	1	4	2	258	40	20,00	80,00	0,71	85,98	13,29
4	19	6	13	35	129	136	31,57	68,43	11,65	42,93	45,42
5	4	1	4	1	124	176	1,00	100,00	1,00	41,26	58,73
6	8	3	5	23	199	78	37,50	62,50	7,58	66,32	26,08
7	12	3	9	57	194	50	25,00	75,00	18,83	64,61	16,55
8	16	2	14	27	210	63	12,50	88,50	8,98	69,92	21,08
9	14	4	10	39	105	156	28,57	72,43	13,02	34,97	52,00
10	10	3	7	30	208	62	30,00	70,00	10,08	69,34	20,58
11	10	1	9	9	150	142	10,00	90,00	2,92	49,90	47,17
12	10	5	5	35	167	98	50,00	50,00	11,74	55,58	32,68
13	12	3	9	41	119	141	25,00	75,00	13,51	39,59	46,89
Média	10,46	2,77	7,85	25,67	177,82	96,65	23,24	77,07	8,66	59,27	32,21
DPM	4,27	1,59	3,21	17,55	51,40	47,90	14,16	14,46	5,70	17,13	15,97
EPM	1,19	0,44	0,89	4,87	14,26	13,28	3,93	4,01	1,58	4,75	4,43

CCHO 0,5 mg/kg

sujeito	TE	EBA	EBF	TBA	TBF	TCe	%EBA	%EBF	%TBA	%TBF	%TC
1	17	6	11	42	112	147	35,29	64,71	13,89	37,18	48,92
2	7	1	7	1	254	46	1,00	100,00	1,00	84,56	15,43
3	15	2	13	18	251	30	13,33	86,67	6,09	83,82	10,07
4	18	10	8	74	177	49	55,55	45,45	24,66	58,99	16,33
5	12	3	9	73	180	48	25,00	75,00	24,25	59,88	15,85
6	22	8	14	63	133	104	36,36	63,64	21,07	44,34	34,57
7	10	2	8	25	150	125	20,00	80,00	8,30	50,03	41,66
8	21	8	13	37	147	116	38,09	61,91	12,35	49,04	38,59
9	14	4	10	35	107	158	28,57	71,43	11,76	35,60	52,62
10	22	10	12	73	129	98	45,45	55,55	24,32	43,08	32,58
11	20	9	11	89	89	122	45,00	55,00	29,72	29,76	40,50
12	17	5	12	34	142	124	29,41	70,59	11,19	47,40	41,40
Média	16,25	5,67	10,67	47,00	155,93	97,06	31,00	69,16	15,66	51,97	32,35
DPM	4,83	3,28	2,27	26,94	52,27	43,26	15,21	14,98	8,98	17,42	14,42
EPM	1,39	0,95	0,66	7,78	15,09	12,49	4,39	4,32	2,59	5,03	4,16

CCHO 1,0 mg/kg

sujeito	TE	EBA	EBF	TBA	TBF	TCe	%EBA	%EBF	%TBA	%TBF	%TC
1	10	6	4	233	51	16	60,00	40,00	77,64	16,94	5,41
2	9	1	9	1	198	102	1,00	100,00	1,00	65,94	34,05
3	14	5	9	42	158	100	35,71	64,29	13,90	52,71	33,38
4	17	7	10	58	90	152	41,17	58,83	19,36	29,89	50,73
5	16	8	8	117	104	79	50,00	50,00	38,88	34,81	26,30
6	19	11	8	43	93	164	57,89	42,11	14,49	30,88	54,62
7	15	8	7	92	138	69	53,33	46,67	30,78	46,14	23,07
8	17	10	7	127	109	64	58,82	41,18	42,66	36,28	21,24
9	11	5	6	73	190	37	45,45	55,55	24,35	63,38	12,26
10	7	7	1	247	1	53	100,00	1,00	82,47	1,00	17,52
11	17	6	11	74	146	80	35,29	64,71	24,70	48,72	26,56
12	2	1	2	1	23	277	1,00	100,00	1,00	7,61	92,39
13	14	4	10	51	133	117	28,57	71,43	16,89	44,25	38,85
14	18	12	6	175	52	73	66,66	33,34	58,30	17,42	24,28
Média	13,29	6,50	7,00	95,34	106,14	98,72	45,35	54,94	31,89	35,43	32,90
DPM	4,87	3,28	2,99	77,25	59,45	65,38	25,58	25,69	25,63	19,73	21,79
EPM	0,35	0,23	0,21	5,52	4,25	4,67	1,83	1,83	1,83	1,41	1,56

CCHO 2,0 mg/kg

sujeito	TE	EBA	EBF	TBA	TBF	TCe	%EBA	%EBF	%TBA	%TBF	%TC
1	23	11	12	95	105	100	47,82	52,28	31,71	34,90	33,38
2	10	1	9	5	214	81	10,00	90,00	1,73	71,19	27,07
3	7	4	3	210	75	16	57,14	42,86	69,84	24,94	5,20
4	14	11	3	208	39	53	78,57	21,43	69,33	13,00	17,66
5	19	14	5	160	80	59	73,68	26,32	53,48	26,77	19,73
6	19	14	5	160	80	59	73,68	26,32	53,49	26,78	19,73
7	14	8	6	59	175	71	57,14	42,86	19,51	58,32	23,55
8	8	3	5	49	132	119	37,50	62,50	16,34	44,00	39,65
9	11	5	6	53	121	126	45,45	54,55	17,69	40,38	41,93
Média	13,89	7,89	6,00	111,05	113,43	75,97	53,44	46,57	37,01	37,81	25,32
DPM	5,49	4,86	2,87	75,34	54,22	34,82	21,55	21,55	25,11	18,07	11,61
EPM	1,83	1,62	0,96	25,11	18,07	11,61	7,18	7,18	8,37	6,02	3,87

Quadro 4: Registro das medidas convencionais em camundongos submetidos ao teste CE após passarem pelo modelo de TEPT e tratamento com midazolam nas doses de (0, 0,5, 1,0 e 2,0 mg/Kg, i.p.).

SCHO SALINA

Sujeito	LF	TE	TC
1	20	157	143
2	5	165	135
3	2	240	60
4	5	152	148
5	3	256	44
6	230	70	230
7	20	120	170
8	2	180	120
9	22	278	22
10	2	164	136
11	5	295	5
Média	28,7	188,8	110,3
DPM	67,2	69,9	69,0
EPM	20,3	21,1	20,8

SCHO 0,5 mg/kg

Sujeito	LF	TE	TC
1	16	269	31
2	3	156	144
3	3	169	131
4	17	237	63
5	4	166	134
6	13	181	119
7	3	141	159
8	62	41	259
9	5	180	120
10	2	266	34
11	10	37	263
12	300	0	300
13	15	140	160
14	300	0	300
15	2	201	99
Média	50,3	145,9	154,9
DPM	102,5	88,5	88,6
EPM	25,6	22,1	22,2

SCHO 1,0 mg/kg

Sujeito	LF	TE	TC
1	10	180	120
2	4	232	68
3	2	120	180
4	4	203	97
5	2	298	2
6	25	275	25
7	2	180	120
8	2	240	60
9	6	170	130
10	3	201	99
11	180	105	195
12	5	295	5
Média	20,4	208,3	91,8
DPM	50,7	62,7	62,7
EPM	13,5	16,7	16,7

SCHO 2,0 mg/kg

Sujeito	LF	TE	TC
1	7	238	62
2	20	144	156
3	2	261	39
4	2	221	79
5	1	299	1
6	5	296	4
7	80	149	151
8	3	298	2
9	1	200	100
Média	12,3	240,7	60,1
DPM	24,5	60,6	60,7
EPM	6,1	15,2	15,2

CCHO SALINA

Sujeito	LF	TE	TC
1	68	22	278
2	300	0	300
3	300	0	300
4	60	28	272
5	165	37	263
6	300	0	300
7	300	0	300
8	120	33	267
9	80	61	239
10	28	20	280
11	200	16	286
12	300	0	300
13	100	36	264
Média	178,5	20,2	280,8
DPM	109,0	19,1	19,1
EPM	30,2	5,3	5,3

CCHO 0,5 mg/kg

Sujeito	LF	TE	TC
1	8	21	279
2	300	0	300
3	190	12	288
4	9	4	296
5	300	0	300
6	3	45	255
7	3	11	289
8	30	17	283
9	120	36	264
10	15	5	295
11	300	0	300
12	300	0	300
Média	131,5	13,2	287,6
DPM	136,3	15,1	14,9
EPM	39,3	4,3	4,3

CCHO 1,0 mg/kg

Sujeito	LF	TE	TC
1	300	0	300
2	300	0	300
3	44	38	262
4	300	0	300
5	7	4	296
6	200	36	264
7	60	37	263
8	20	54	246
9	300	0	300
10	10	18	282
11	200	21	279
12	300	0	300
13	300	0	300
14	44	39	261
Média	170,4	18,5	282,4
DPM	130,6	19,5	19,6
EPM	34,9	5,2	5,2

CCHO 2,0 mg/kg

Sujeito	LF	TE	TC
1	300	0	300
2	10	91	209
3	300	0	300
4	300	0	300
5	300	0	300
6	121	31	269
7	220	32	268
8	100	2	298
9	300	0	300
Média	216,8	17,9	283,1
DPM	111,9	30,3	30,3
EPM	37,3	10,1	10,1

Quadro 5: Registro das medidas convencionais em camundongos submetidos ao CE, após passarem pelo modelo de TEPT sem LCE e tratamento com midazolam nas doses de (0, 0,5, 1,0 e 2,0 mg/Kg, i.p.).

SCHO SALINA

Sujeito	LF	TE	TC
1	10	214	66
2	20	230	70
3	13	177	123
4	5	233	67
5	7	268	32
6	6	210	90
Média	10,2	222,0	78,0
DPM	5,6	30,1	30,1
EPM	2,3	12,3	12,3

SCHO 0,5 mg/kg

Sujeito	LF	TE	TC
1	10	155	145
2	26	192	108
3	12	235	65
4	23	217	83
5	5	60	240
6	12	200	100
Média	14,7	176,5	123,5
DPM	8,1	63,1	63,1
EPM	3,3	25,7	25,7

SCHO 1,0 mg/kg

Sujeito	LF	TE	TC
1	25	195	105
2	51	207	93
3	28	210	90
4	12	269	31
5	12	217	83
6	15	205	95
Média	23,8	217,2	89,5
DPM	14,9	26,4	11,6
EPM	6,1	10,8	4,7

SCHO 2,0 mg/kg

Sujeito	LF	TE	TC
1	12	111	189
2	10	257	43
3	130	150	150
4	3	279	21
5	100	126	174
6	5	255	45
Média	43,3	196,3	103,7
DPM	56,4	75,3	75,3
EPM	23,0	30,7	30,7

CCHO SALINA

Sujeito	LF	TE	TC
1	300	0	300
2	300	0	300
3	235	8	292
4	300	0	300
5	260	5	295
6	250	11	289
Média	274,2	4,5	296,0
DPM	29,4	4,3	4,8
EPM	12,0	1,7	1,9

CCHO 0,5 mg/kg

Sujeito	LF	TE	TC
1	23	98	202
2	140	23	277
3	300	0	300
4	300	0	300
5	65	15	285
6	10	93	207
Média	139,7	39,2	261,8
DPM	132,2	45,3	45,3
EPM	54,0	18,5	18,5

CCHO 1,0 mg/kg

Sujeito	LF	TE	TC
1	300	0	300
2	300	0	300
3	240	4	296
4	200	37	263
5	300	0	300
6	16	86	214
Média	226,0	22,2	278,8
DPM	110,8	34,9	34,9
EPM	45,2	14,3	14,3

CCHO 2,0 mg/kg

Sujeito	LF	TE	TC
1	300	0	300
2	300	0	300
3	300	0	300
4	5	43	257
5	80	31	269
6	300	0	300
Média	197,0	285,4	15,6
DPM	143,5	20,5	20,5
EPM	58,6	8,4	8,4

Quadro 6: Registro das medidas convencionais em camundongos submetidos ao CE, após passarem pelo modelo de TEPT e tratamento com imipramina nas doses de (0, 5,0, 10,0 e 20,0 mg/Kg, i.p.).

SCHO SALINA

Sujeito	LF	TE	TC
1	4	210	90
2	4	180	120
3	4	170	130
4	11	100	200
5	2	230	70
6	3	35	265
7	60	191	109
8	300	0	300
9	3	190	110
10	90	104	196
11	6	200	100
12	25	170	130
Média	42,7	148,3	151,7
DPM	85,7	72,5	72,5
EPM	24,7	20,9	20,9

SCHO 5,0 mg/kg

Sujeito	LF	TE	TC
1	60	60	240
2	3	240	60
3	17	90	210
4	5	185	115
5	29	135	165
6	2	246	54
7	15	180	120
8	10	124	176
9	4	181	119
10	29	120	180
11	10	180	120
12	5	60	240
Média	15,8	150,1	149,9
DPM	16,8	62,5	62,5
EPM	4,8	18,0	18,0

SCHO 10,0 mg/kg

Sujeito	LF	TE	TC
1	2	120	180
2	30	65	235
3	10	25	275
4	5	196	104
5	4	170	130
6	6	145	155
7	3	180	120
8	38	185	115
9	3	90	210
10	2	155	145
11	16	150	150
12	6	180	120
Média	10,4	138,4	161,6
DPM	11,8	53,4	53,4
EPM	3,4	15,4	15,4

SCHO 20,0 mg/kg

Sujeito	LF	TE	TC
1	12	106	194
2	25	275	25
3	9	96	204
4	9	120	180
5	36	87	213
6	18	240	60
7	300	0	300
8	38	240	60
9	8	185	115
10	6	170	130
11	80	60	140
12	20	156	144
Média	46,8	144,6	147,1
DPM	82,4	81,7	77,3
EPM	23,8	23,6	22,3

CCHO SALINA

Sujeito	LF	TE	TC
1	300	0	300
2	35	126	174
3	120	11	289
4	300	0	300
5	210	3	297
6	300	0	300
7	100	17	283
8	140	48	152
9	300	0	300
10	300	0	300
11	120	101	199
12	270	17	283
Média	207,9	27,5	265,2
DPM	99,0	42,0	55,3
EPM	28,6	12,4	16,0

CCHO 5,0 mg/kg

Sujeito	LF	TE	TC
1	110	11	289
2	90	101	199
3	300	0	300
4	120	6	294
5	300	0	300
6	300	0	300
7	190	21	279
8	60	141	159
9	300	0	300
10	180	11	289
11	23	4	296
12	10	118	282
Média	165,3	35,1	274,3
DPM	112,7	52,5	45,4
EPM	32,5	15,1	13,1

CCHO 10,0 mg/kg

Sujeito	LF	TE	TC
1	300	0	300
2	300	0	300
3	135	26	274
4	20	121	179
5	90	81	219
6	300	0	300
7	300	0	300
8	300	0	300
9	300	0	300
10	300	0	300
11	300	0	300
12	120	16	284
Média	230,4	21,0	280,0
DPM	106,2	39,1	39,1
EPM	30,7	11,3	11,3

CCHO 20,0 mg/kg

Sujeito	LF	TE	TC
1	300	0	300
2	300	0	300
3	300	0	300
4	135	3	297
5	120	2	298
6	12	58	242
7	25	53	247
8	300	0	300
9	300	0	300
10	3	33	267
11	230	21	279
12	140	39	261
Média	180,4	18,3	262,7
DPM	122,6	22,5	22,5
EPM	35,4	6,5	6,5

Quadro 7: Registro das medidas convencionais em camundongos submetidos ao CE, após passarem pelo modelo de TEPT e tratamento com sertralina nas doses de (0, 5,0 e 10,0 mg/Kg, i.p.).

SCHO SALINA

Sujeito	LF	TE	TC
1	16	180	120
2	20	198	102
3	4	180	120
4	4	254	46
5	7	216	84
6	10	204	96
7	16	187	113
8	24	180	120
9	300	0	300
10	25	200	100
11	16	220	80
12	6	240	60
Média	37,3	188,3	111,8
DPM	83,0	63,9	63,9
EPM	24,0	18,4	18,4

SCHO 5,0 mg/kg

Sujeito	LF	TE	TC
1	24	236	64
2	46	193	107
3	20	265	35
4	4	200	100
5	3	150	150
6	2	206	94
7	110	150	150
8	11	250	50
9	13	169	131
10	300	0	300
11	4	286	14
12	12	230	70
Média	45,8	194,7	104,5
DPM	85,6	75,1	74,8
EPM	24,7	21,7	21,6

SCHO 10,0 mg/kg

Sujeito	LF	TE	TC
1	11	203	97
2	9	230	70
3	20	227	73
4	6	225	75
5	12	218	82
6	4	20	280
7	13	180	120
8	9	203	97
9	34	260	40
10	150	149	151
11	10	240	60
12	5	293	7
Média	23,6	204,1	89,3
DPM	40,6	68,5	70,1
EPM	11,7	19,8	20,2

CCHO SALINA

Sujeito	LF	TE	TC
1	300	0	300
2	10	120	180
3	60	120	180
4	3	50	250
5	300	0	300
6	300	0	300
7	70	100	200
8	86	74	226
9	26	35	265
10	30	60	240
11	210	5	295
12	4	28	272
Média	116,6	49,3	250,7
DPM	123,8	45,9	45,9
EPM	35,7	13,3	13,3

CCHO 5,0 mg/kg

Sujeito	LF	TE	TC
1	2	18	282
2	90	28	272
3	35	91	209
4	53	240	60
5	40	41	259
6	3	38	262
7	48	65	235
8	3	180	120
9	50	30	270
10	12	30	270
11	29	11	289
12	36	48	252
Média	33,4	68,3	231,7
DPM	26,0	70,7	70,7
EPM	7,5	20,4	20,4

CCHO 10,0 mg/kg

Sujeito	LF	TE	TC
1	300	0	300
2	95	30	270
3	120	33	267
4	30	140	160
5	72	65	235
6	15	10	290
7	35	72	228
8	300	0	300
9	125	37	263
10	17	40	260
11	40	31	269
12	300	0	300
Média	120,8	38,2	261,8
DPM	114,2	39,9	39,9
EPM	33,0	11,5	11,5