

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE FILOSOFIA, CIÊNCIAS E LETRAS DE RIBEIRÃO PRETO
DEPARTAMENTO DE PSICOLOGIA E EDUCAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PSICOBIOLOGIA

**Modulação por mecanismos serotoninérgicos do comportamento
exploratório de ratos submetidos ao teste e reteste no labirinto em
cruz elevado**

Lucas Albrechet de Souza

RIBEIRÃO PRETO

2006

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE FILOSOFIA, CIÊNCIAS E LETRAS DE RIBEIRÃO PRETO
DEPARTAMENTO DE PSICOLOGIA E EDUCAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PSICOBIOLOGIA

**Modulação por mecanismos serotoninérgicos do comportamento
exploratório de ratos submetidos ao teste e reteste no labirinto em
cruz elevado**

Lucas Albrechet de Souza

Dissertação apresentada à Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto – USP, para a obtenção do título de Mestre em Ciências. Área de Concentração: Psicobiologia.

Orientador: Prof. Dr. Marcus Lira Brandão

RIBEIRÃO PRETO

2006

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTES TRABALHOS, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO OU PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

FICHA CATALOGRÁFICA

Souza, Lucas Albrechet de
Modulação por mecanismos serotoninérgicos do comportamento exploratório de ratos submetidos ao teste e reteste no labirinto em cruz elevado. Ribeirão Preto, 2006.

76p. : il. ; 30cm

Dissertação de Mestrado, apresentada à Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto/USP – Área de Concentração: Psicobiologia.

Orientador: Brandão, Marcus Lira

1. Labirinto em cruz elevado.
2. *One-trial tolerance*.
3. Serotonina.
4. Cetanserina.
5. Fluoxetina.
6. Desipramina.
7. Corticosterona.

*A minha mãe
e meu pai*

MEUS SINCEROS AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Marcus Lira Brandão, exemplo de mestre, pela amizade e orientação impecável.

Ao Prof. Dr. Celso Rodrigues Franci, por permitir a realização das dosagens hormonais em seu laboratório.

Ao Prof. Dr. Victor Molina, pelas sugestões, críticas e claro, pelas gargalhadas.

À Banca Examinadora, pela atenção dispensada na leitura desse trabalho.

À Sueli Masson, por sua ajuda técnica sempre paciente e minuciosa.

À Sônia Zanon, por sua eficiência e disponibilidade em me auxiliar na realização dos ensaios.

Ao Carlos Eduardo de Macedo, pela ajuda nos experimentos e pelos “cafés filosóficos”.

À Karina Genaro Borelli, pela leitura desse trabalho e pelas críticas construtivas entre um capuccino e outro.

Aos amigos do laboratório, pelo apoio e por tornar o ambiente de trabalho sempre tão agradável.

Aos meus amigos de república, Carlos, Daniel e Patrick, pela amizade sincera.

Aos meus pais, pelo amor incondicional.

À CAPES, pelo suporte financeiro.

“Se pude ver mais longe, foi por estar apoiado sobre o ombro de gigantes”.

Isaac Newton

“Até o mais intenso dos medos pode ser, a princípio, um poderoso estimulante. Um homem ou animal levado do terror ao desespero adquire uma força impressionante, e é sabidamente perigosíssimo”.

Charles Darwin, 1872

RESUMO

O labirinto em cruz elevado (LCE) é um dos testes de ansiedade mais empregados na atualidade. Uma característica intrigante desse modelo é a abolição dos efeitos ansiolíticos dos benzodiazepínicos como resultado de uma única experiência prévia no labirinto. Este fenômeno, chamado “one-trial tolerance” (OTT), tem recebido considerável atenção e dentre as diversas hipóteses sugeridas para explicá-lo, podemos citar uma alteração no estado emocional do animal, perda do conflito motivacional e habituação do comportamento exploratório. A descoberta de que benzodiazepínicos reduzem a atividade de neurônios serotoninérgicos, associada a resultados obtidos em testes de conflito que mostram que antagonistas serotoninérgicos podem causar efeitos ansiolíticos comparáveis aos benzodiazepínicos, levaram à noção de que a serotonina (5-HT) é o principal neurotransmissor envolvido na ansiedade. No entanto, com o uso de outros modelos animais, o envolvimento da 5-HT tem sido questionado, ao mesmo tempo em que outras aminas biogênicas, como a noradrenalina (NA), têm sido implicadas na modulação da ansiedade. Nesse estudo procedemos uma análise etofarmacológica de ratos tratados com o antagonista serotoninérgico cetanserina e os antidepressivos fluoxetina e desipramina submetidos ao teste e reteste no LCE. Esses antidepressivos aumentam os níveis sinápticos de 5-HT e NA, respectivamente. Além disso, foram medidas as concentrações plasmáticas de corticosterona - considerada um índice confiável de medo e estresse - de ratos expostos à sessão única ou repetida no LCE. As drogas administradas antes da reexposição ao labirinto não produziram efeitos ansiolíticos, replicando o fenômeno da OTT comumente associado aos benzodiazepínicos. Por outro lado, a cetanserina administrada antes da primeira sessão produziu um efeito ansiolítico, mas o tratamento subcrônica com fluoxetina e desipramina não alterou o comportamento exploratório dos animais no LCE. Ratos submetidos à sessão única ou repetida no labirinto apresentaram um aumento similar dos níveis plasmáticos de corticosterona, indicando que a reexposição ao LCE apresenta propriedades aversivas e a OTT deve estar mais relacionada à uma alteração no estado emocional do animal do que à habituação do comportamento exploratório.

ABSTRACT

The elevated plus-maze (EPM) is currently one of the most used test of anxiety. An intriguing feature of this model is the abolition of the anxiolytic effect of benzodiazepines by a single previous experience with the maze. This phenomenon, termed one-trial tolerance (OTT), has received considerable attention and among the several hypotheses suggested to explain it, we can listed a shift in the animal emotional state, lack of motivational conflict and exploratory behavior habituation. The discovery that benzodiazepines reduce the activity of serotonergic neurons, associated with results obtained in conflict tests showing that serotonergic antagonists may cause anxiolytic-like effects comparable to the benzodiazepines, has led to the notion that the serotonin (5-HT) is the most important neurotransmitter involved in the anxiety. Nevertheless, with the use of other animal models, the 5-HT involvement has been questioned, at the same time that other biogenic amines, such as noradrenalin (NA), have been implicated in the anxiety modulation. In this study, we carried out an ethopharmacological analysis of rats under treatment with the serotonergic antagonist ketanserin and the antidepressants fluoxetine and desipramine submitted to the test and retest in the EPM. These antidepressants increase the synaptic levels of 5-HT and NA, respectively. Besides, plasma corticosterone concentrations - considered a reliable index of fear and stress - of rats exposed once or twice to the EPM were measured. The drugs injected before the retest in the EPM did not produce anxiolytic effects, replicating the OTT phenomenon generally associated with the benzodiazepines. On the other hand, ketanserin injected before the first session produced an anxiolytic effect but the subchronic treatment with fluoxetine and desipramine did not change the exploratory behavior of the animals in the EPM. Naive and experienced rats show a similar increase in the plasma corticosterone levels when submitted to the EPM, indicating that the retest to EPM has aversive properties and the OTT may be more related to a change in the emotional state of the animal than to a habituation of the exploratory behavior.

SUMÁRIO

RESUMO	7
ABSTRACT	8
1. INTRODUÇÃO.....	11
1.1. Comportamentos defensivos	11
1.2. Medo e Ansiedade.....	12
1.3. Resposta hormonal ao estresse.....	13
1.4. Papel dual da serotonina na ansiedade	14
1.5. Tratamento farmacológico dos transtornos de ansiedade	16
1.6. Labirinto em cruz elevado e “one-trial tolerance”	18
2. OBJETIVOS.....	21
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	23
3.1. Sujeitos	23
3.2. Labirinto em cruz elevado.....	23
3.3. Radioimunoensaio.....	24
3.4. Drogas	25
3.5. Procedimento.....	26
3.5.1. Tratamento agudo com cetanserina	26
3.5.2. Tratamento subcrônico com fluoxetina	26
3.5.3. Tratamento subcrônico com desipramina	27
3.5.4. Dosagem de corticosterona	27
3.6. Medidas comportamentais.....	28
3.7. Análise estatística.....	30
4. RESULTADOS	32
4.1. Cetanserina.....	32
4.2. Fluoxetina.....	34
4.3. Desipramina	36
4.4. Corticosterona	38
5. DISCUSSÃO	47
6. CONCLUSÕES	53
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	55
APÊNDICE	63

INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

1.1. Comportamentos defensivos

Em ambientes naturais, os sinais de ameaça nem sempre se apresentam de forma facilmente localizável. Algumas vezes indicam ameaça distante, como odores ou vestígios do oponente e mesmo ambientes desconhecidos e espaços abertos. Nesses casos, um padrão comportamental de avaliação de risco é iniciado com estado de alerta e exploração cautelosa do ambiente, até que a fonte de perigo seja localizada (BLANCHARD; BLANCHARD, 1987; FANSELOW, 1991). Em outras situações, como ruídos ou movimentos inesperados, os sinais de ameaça indicam perigo próximo. Neste caso, há o predomínio de comportamentos defensivos mais vigorosos, com expressiva ativação comportamental (BRANDÃO et al., 1999; GRAEFF, 1990).

As estratégias defensivas são organizadas, assim, em função da distância entre o predador e a presa e da disponibilidade de fuga. O comportamento de congelamento é a resposta expressa quando o animal percebe o perigo e se caracteriza como paralisação dos movimentos. Por outro lado, quando o animal detecta a presença de um predador a uma pequena distância, as respostas de fuga ou luta prevalecem (BLANCHARD; BLANCHARD, 1987).

No livro “A expressão das emoções no homem e nos animais”, publicado inicialmente em 1872, Charles Darwin descreve essas estratégias defensivas:

Quando um animal está em estado de alerta, ele quase sempre fica parado por um instante, aguçando seus sentidos para descobrir de onde vem o perigo, ou para não ser descoberto. Mas logo segue-se uma fuga desatinada, sem economia de energia, como numa luta, e o animal continua fugindo enquanto houver perigo, até que uma prostração absoluta - com respiração e

circulação irregulares, tremores musculares e suor difuso - torna a fuga impossível.

Nesse livro, Darwin propõe que as posturas e movimentos usados na expressão das emoções estão sujeitos às mesmas leis de hereditariedade que governam a transmissão das características físicas ao longo das gerações. Com esta perspectiva, mais recentemente, a experimentação em laboratório associou a observação sistemática do comportamento ao estudo das emoções no homem.

1.2. Medo e Ansiedade

O medo e a ansiedade têm suas raízes nas reações de defesa dos animais, verificadas em resposta aos perigos comumente encontrados no ambiente em que vivem. Assim, quando um animal é confrontado com uma ameaça à sua integridade física ou à própria sobrevivência, ele apresenta um conjunto de respostas comportamentais, neurovegetativas e neuroendócrinas que caracterizam a reação de medo. O estímulo ameaçador pode ser inato, como um predador, ou aprendido, como um ambiente associado a um perigo. Neste caso, por meio da associação repetida com a dor ou outras sensações desagradáveis, o estímulo adquire propriedades aversivas condicionadas (GRAEFF, 1996).

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

As respostas comportamentais de medo e ansiedade são acompanhadas de intensa alteração endócrina e autonômica. Esta última não é importante apenas do ponto de vista fisiológico e comportamental, uma vez que, a percepção dessas respostas parece acentuar a sensação de ansiedade, conforme sugeriram William James e Carl Lange, no século XIX. Em relação às alterações hormonais, o medo e a ansiedade são condições estressantes e, por conseguinte, são acompanhados da mobilização do eixo hipotálamo-pituitária-adrenal (GRAEFF, 1996).

1.3. Resposta hormonal ao estresse

Muitas das alterações induzidas pelo estresse são mediadas pelo hormônio de liberação de corticotrofina (CRH), que aciona o eixo hipotálamo-pituitária-adrenal. Os corpos celulares dos neurônios que secretam esse neuropeptídeo localizam-se principalmente no núcleo paraventricular do hipotálamo. Esse núcleo recebe numerosas conexões do sistema límbico e porções inferiores do tronco encefálico. O CRH é secretado no sistema porta-hipofisário e transportado a seguir até a hipófise anterior, onde induz a secreção de corticotrofina (ACTH). Este hormônio é liberado na circulação sistêmica e estimula o córtex da adrenal a secretar os glicocorticóides - corticosterona em roedores e cortisol em primatas - considerados importantes indicadores de estresse (GUYTON; HALL, 2002; TODOROVIC et al., 2005).

Os hormônios glicocorticóides regulam muitas facetas da homeostase dos organismos, incluindo respostas às alterações ambientais (MATEO; CAVIGELLI, 2005). Eles têm um importante papel na gliconeogênese, pois estimulam o fígado a converter gordura e proteínas em glicose. Os glicocorticóides também potencializam a síntese e ação da adrenalina liberada pela medula adrenal durante a resposta ao estresse. Essa catecolamina também estimula a

gliconeogênese e a lipólise, mobilizando energia para comportamentos mais vigorosos, do tipo luta e fuga (MATTERI; CARROL; DYER, 2000).

As alterações causadas pelos glicocorticóides têm um alto valor adaptativo e são essenciais para a sobrevivência dos animais em situações de perigo. De fato, se um animal está fugindo de um predador, ele necessita de uma grande e rápida mobilização de energia para os músculos esqueléticos que ele utilizará em sua fuga. Assim, um aumento dos batimentos cardíacos, da pressão sanguínea e da frequência respiratória permite que a glicose e o oxigênio tornem-se rapidamente disponíveis para esses músculos. Por outro lado, comportamentos não relacionados à sobrevivência imediata do animal, que requerem um longo tempo e um grande gasto energético, são inibidos, o que possibilita uma maior mobilização de energia para o comportamento de fuga. Essa inibição ocorre com o sistema imunológico e com os processos de digestão, crescimento e reprodução (SAPOLSKY, 1999, 2000).

1.4. Papel dual da serotonina na ansiedade

Os neurônios do sistema nervoso central contendo serotonina (5-HT) estão concentrados na linha média da região da rafe do tronco encefálico. Os núcleos pontinos e bulbares projetam-se para a medula espinhal, onde a 5-HT está envolvida com a percepção dolorosa, a regulação visceral e o controle motor. Os núcleos mesencefálicos - particularmente o núcleo dorsal da rafe e o núcleo mediano da rafe - inervam o prosencéfalo e provavelmente regulam funções cognitivas, afetivas e neuroendócrinas (GRAEFF, 1997).

A grande variedade de funções da 5-HT é atribuída à existência de múltiplos receptores no sistema nervoso central. Esses receptores possuem perfis farmacológicos distintos e, até mesmo, papéis fisiológicos específicos. A classificação elaborada por

Humphrey, Hartig e Hoyer (1993), divide os receptores serotoninérgicos em três famílias: 5-HT₁, 5-HT₂ e 5-HT₃. A família 5-HT₁ divide-se em cinco subtipos: 5-HT_{1A}, 5-HT_{1B}, 5-HT_{1D}, 5-HT_{1E} e 5-HT_{1F}. A família de receptores 5-HT₂ subdivide-se em 5-HT_{2A}, 5-HT_{2B} e 5-HT_{2C}. Martin e Humphrey (1994), acrescentaram ainda os receptores 5-HT_{5A}, 5-HT_{5B}, 5-HT₆ e 5-HT₇. Do ponto de vista funcional, todos os receptores serotoninérgicos agrupam-se em duas classes: os receptores ionotrópicos, cujo único representante é o tipo 5-HT₃, e os receptores metabotrópicos, que engloba todos os demais tipos e subtipos (LEE et al., 2004).

Desde as primeiras demonstrações de que antagonistas da neurotransmissão serotoninérgica, como a ritanserina, promoviam efeitos ansiolíticos comparáveis aos dos benzodiazepínicos em testes de conflito (GRAEFF; SCHOENFELD, 1970), o papel da 5-HT na ansiedade vem sendo amplamente investigado. Esses resultados, associados à constatação de que ansiolíticos benzodiazepínicos diminuam a atividade de neurônios serotoninérgicos, levaram à preposição da teoria serotoninérgica clássica da ansiedade, a qual atribui um papel ansiogênico à 5-HT (STEIN; WISE; BERGER, 1973). Há, porém, muitas contradições em relação à natureza exata do envolvimento da 5-HT. Os efeitos comportamentais de drogas que reduzem a atividade do sistema serotoninérgico central são frequentemente mais variáveis do que os efeitos de outros ansiolíticos e nem sempre estão de acordo com essa teoria. De fato, em algumas ocasiões esses compostos apresentam efeitos contrários aos benzodiazepínicos, sugerindo uma ação ansiolítica à 5-HT (GRIEBEL, 1995).

Graeff e Deakin (1991), visando conciliar essas evidências aparentemente contraditórias, propuseram uma hipótese que sugere um papel dual da 5-HT na modulação de respostas defensivas. Levando em consideração as diferenças anatômicas e funcionais das vias serotoninérgicas e os diferentes subtipos de receptores envolvidos, esses autores enfatizaram o papel ansiogênico da 5-HT na amígdala e sua ação ansiolítica na substância cinzenta periaquedutal dorsal.

A atuação dual da 5-HT teria um importante sentido adaptativo, pois para níveis de ameaça potencial ou distal é conveniente inibir comportamentos intempestivos, como os de fuga ou luta, possibilitando ao animal adotar estratégias mais adequadas, como a exploração cautelosa do ambiente. Essa contenção de reações primitivas permite ainda que o animal se recorde de experiências semelhantes e selecione repertórios aprendidos, permitindo-lhe formular um plano eficaz de fuga ou evitação do perigo (GRAEFF, 1996).

1.5. Tratamento farmacológico dos transtornos de ansiedade

Em relação aos seres humanos, admite-se que certo nível de ansiedade motive o desempenho de tarefas motoras e cognitivas, impulsionando-os na realização de mudanças e na busca de novas soluções para os problemas cotidianos. Quando provoca resposta exacerbada, a ansiedade passa, porém a interferir nas habilidades e funções do indivíduo, perturbando acentuadamente seu desempenho (DRATCU; LADER, 1993; GRAEFF, 1996; PRATT, 1992; SANDFORD; ARGYROPOULOS; NUTT, 2000). Assim, desde a pré-história, o homem vem produzindo substâncias químicas que atenuam as manifestações comportamentais e neurovegetativas desse estado emocional.

Dentre as drogas ansiolíticas, a mais popular é o álcool etílico ou etanol. Mesmo as culturas mais primitivas desenvolveram a tecnologia necessária para a obtenção do etanol por meio da fermentação de açúcares contido nas plantas. Somente no fim do século XIX, contudo, iniciou-se a utilização de substâncias sintéticas na terapêutica médica, com a finalidade explícita de acalmar pacientes portadores de neuroses ou que apresentassem um componente importante de tensão emocional associado a distúrbios orgânicos. Os primeiros compostos empregados com essa finalidade foram os brometos, drogas pouco eficazes e com alta capacidade de intoxicação.

No início do século XX surgiram ansiolíticos mais eficazes e de baixo custo, derivados do ácido barbitúrico. Esses compostos, no entanto, produzem sedação e dependência, fatores que determinaram a busca por novas drogas para substituí-los. Um avanço considerável ocorreu no início dos anos sessenta com a introdução dos benzodiazepínicos, que por sua eficácia, relativa seletividade de efeitos e baixa toxicidade tornaram-se amplamente distribuídos (GRAEFF, 1989). Somente mais tarde, descobriu-se o potencial de dependência dessa classe de drogas e o uso de antidepressivos vem sendo uma alternativa eficiente (HASCOËT et al., 2000).

Estudos clínicos têm demonstrado que alguns antidepressivos, como inibidores seletivos da recaptção de 5-HT (ISRS) são efetivos no tratamento de uma ampla variedade de transtornos psiquiátricos, como pânico (WESTENBERG; DEN BOER, 1988), fobia social (WESTENBERG, 1992), transtorno obsessivo-compulsivo (INSEL et al., 1985) e depressão ansiosa (SHEEHAN; DUNBAR; FUELL, 1992). Além disso, os ISRS apresentam pequena incidência de efeitos colaterais (COPLAN; LYDIARD, 1998; KENT; COPLAN; GORMAN, 1998).

A noradrenalina (NA) também tem sido implicada na modulação da ansiedade. De fato, o tratamento crônico com o antidepressivo tricíclico desipramina, que aumenta a disponibilidade de NA na fenda sináptica por bloquear sua recaptção, mostrou-se mais eficaz do que os benzodiazepínicos no tratamento dos transtornos de ansiedade generalizada (BEAUFOUR et al., 1999). Em roedores, contudo, os efeitos dos ISRS e dos antidepressivos tricíclicos são contraditórios (SÁNCHEZ; MÉIER, 1997), variando possivelmente com o modelo utilizado, a dose e a via de administração da droga e entre as espécies (DURAND et al, 1999).

1.6. Labirinto em cruz elevado e “one-trial tolerance”

O labirinto em cruz elevado (LCE) se baseia na medida de todas as categorias comportamentais que refletem o conflito resultante da tendência dos animais de explorar ambientes desconhecidos e evitar situações potencialmente perigosas. Sua utilização envolve mecanismos aversivos condicionados, inatos, proximais e distais, de maneira que os sinais aversivos detectados à distância podem funcionar como um estímulo que ativa o sistema de medo e mantém o organismo distante do perigo representado pelos braços abertos do labirinto (GRAEFF; DEAKIN, 1991).

Esse modelo foi validado por Pellow et al. (1985), e tem sido um dos testes mais empregados na atualidade como modelo animal de ansiedade. Sua ampla utilização é resultado da eficiência e facilidades desse teste, pois além de detectar efeitos de drogas ansiolíticas e ansiogênicas, o LCE inclui um procedimento simples e rápido, baseado no comportamento espontâneo do animal, e não necessita de treinamento, uso de estímulos nociceptivos e privação de água ou alimento.

Estudos realizados previamente mostraram que enquanto benzodiazepínicos injetados em ratos antes da exposição ao LCE produzem aumento da porcentagem de entradas e do tempo de permanência nos braços abertos do labirinto, uma única experiência prévia no LCE, sem qualquer droga, torna essa classe de compostos ineficazes (ALBRECHET-SOUZA et al., 2005; CRUZ-MORALES; SANTOS; BRANDÃO, 2002; FILE; MABBUTT; HITCHCOTT, 1990). Esse fenômeno, conhecido como “one-trial tolerance” (OTT), foi inicialmente descrito por Lister (1987).

Na tentativa de explicar a perda da ação ansiolítica dos benzodiazepínicos, diversas hipóteses vêm sendo sugeridas. Inicialmente o fenômeno da OTT foi associado a uma alteração qualitativa do estado emocional do animal. A idéia básica é que a exposição inicial

ao LCE pode representar a aquisição de respostas relacionadas à fobia aos braços abertos do labirinto. Dessa maneira, a perda dos efeitos ansiolíticos dos benzodiazepínicos, na reexposição ao LCE, pode ser relacionada à bem retratada insensibilidade dos comportamentos fóbicos à ação ansiolítica dos benzodiazepínicos (BERTOGLIO; CAROBREZ, 2000; CRUZ-MORALES; SANTOS; BRANDÃO, 2002; FILE; MABBUTT; HITCHCOTT, 1990; FILE; ZANGROSSI JÚNIOR, 1993; NUTT, 1990).

Rodgers e Shepherd (1993), atribuíram o fenômeno da OTT à relativa ausência do conflito aproximação/evitação que ocorre na reexposição ao LCE. De acordo com essa idéia, o conhecimento prévio do LCE deve reduzir a tendência do animal de explorar áreas naturalmente aversivas, diminuindo assim o conflito e conseqüentemente eliminando a possibilidade de resposta aos benzodiazepínicos. Finalmente, Dawson et al. (1994), sugeriram que a OTT é resultado da habituação do comportamento exploratório no LCE após exposições repetidas.

A investigação dos mecanismos neurais subjacentes ao fenômeno da OTT não é importante apenas para o entendimento do LCE *per se*, mas também para o progresso dos modelos animais de ansiedade (HOLMES; RODGERS, 1999). Nesse contexto, o presente trabalho procura elucidar esse fenômeno por meio da utilização de drogas que atuam, por diferentes mecanismos de ação, no sistema serotoninérgico. Esse enfoque na atuação da 5-HT difere da maior parte dos estudos com OTT realizados até então, que restringem os efeitos da reexposição ao LCE ao uso de agentes benzodiazepínicos. Adicionalmente, foram medidos os níveis plasmáticos de corticosterona em ratos submetidos à sessão única ou repetida no LCE. Essa medida é de grande importância, uma vez que estudos anteriores descreveram um aumento nas concentrações plasmáticas de corticosterona como expressão fisiológica do medo no LCE (PELLOW et al., 1985; TREIT; MENARD; ROYAN, 1993).

OBJETIVOS

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

A caracterização farmacológica dos efeitos da reexposição de camundongos e ratos ao LCE tem sido focalizada principalmente nos compostos benzodiazepínicos. Nesse contexto, o objetivo desse trabalho é estudar o envolvimento do sistema serotoninérgico no comportamento defensivo de ratos submetidos à sessão única ou repetida no LCE.

2.2. Objetivos Específicos

➤ Avaliar os efeitos da administração aguda periférica de cetanserina, um antagonista de receptores 5-HT_{2A/2C}, no comportamento exploratório de ratos submetidos à sessão única ou repetida no LCE;

➤ Investigar os efeitos da administração subcrônica periférica do antidepressivo fluoxetina, que inibe a recaptação neuronal de 5-HT, no comportamento exploratório de ratos submetidos ao teste ou reteste no LCE. Para fins comparativos, também foi utilizado o antidepressivo desipramina, que inibe principalmente a recaptação neuronal de NA;

➤ Medir os níveis plasmáticos de corticosterona de ratos submetidos à sessão única ou repetida no LCE.

MATERIAIS E MÉTODOS

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Sujeitos

Foram utilizados 188 ratos Wistar machos pesando entre 200 e 290 gramas, provenientes do biotério central da Universidade de São Paulo do *campus* de Ribeirão Preto. Os animais foram alojados, em grupos de quatro ou cinco, em gaiolas-viveiro (40 x 33 x 17 cm) de polietileno, e mantidos em condições controladas de temperatura ($23 \pm 1^\circ\text{C}$) e luz (ciclo de claro-escuro de 12:12 horas, luzes acesas às 07:00) por 72 horas antes do início das sessões experimentais. Todos eles tiveram livre acesso a alimento e água.

3.2. Labirinto em cruz elevado

O LCE seguiu as especificações de Pellow et al. (1985), consistindo de dois braços abertos e opostos (50 x 10 cm cada um), e outros dois braços opostos do mesmo tamanho fechados com paredes laterais de 40 cm de altura. Os braços abertos e fechados, elevados 50 cm do solo, cruzam-se perpendicularmente formando uma cruz, delimitada por uma área central de 10 x 10 cm. Nas laterais dos braços abertos foi fixada uma pequena borda de acrílico transparente (1 cm de altura), com o objetivo de evitar a queda dos animais.

O labirinto foi mantido no interior de uma sala com 60 lux de iluminação e, com exceção dos animais em que foram realizadas as dosagens de corticosterona, toda a fase experimental foi realizada entre 13:00 e 17:00 horas. Cada animal era colocado individualmente na área central do labirinto, com a cabeça direcionada para um dos braços fechados e podia explorar livremente o equipamento por 5 minutos. Entre um animal e outro era realizada a assepsia do labirinto com algodão e álcool a 20 %.

As sessões experimentais foram monitoradas e gravadas por uma vídeo-câmera montada verticalmente acima do labirinto e conectada a um aparelho de TV e a um vídeo-cassete, instalados em uma sala adjacente à sala experimental. A fita com a sessão experimental de cada animal foi analisada posteriormente com o auxílio de um programa computacional de análises comportamentais (OBSERVER, Noldus Inf. Co.).

3.3. Radioimunoensaio

A partir dos anos cinquenta, os ensaios utilizando radioligantes tornaram-se amplamente utilizados para se medir substâncias presentes nos fluidos biológicos. A grande vantagem desse método foi o aumento na sensibilidade de detecção de baixas concentrações em comparação com seus antecessores. Essa sensibilidade é relacionada principalmente à detecção de radioatividade. Outra principal característica da metodologia é a sua especificidade, uma vez que se baseia na capacidade dos receptores de reconhecer a configuração externa e se acoplar a um composto particular presente nos fluidos biológicos. A técnica de radioimunoensaio combina, assim, a sensibilidade dos métodos de medida de radioatividade com a especificidade das reações ligante-receptor.

Para a realização do ensaio utiliza-se um receptor específico - um anticorpo que distingue com alta especificidade o ligante a ser medido. Para produzi-lo, o ligante é injetado em uma espécie animal que o reconhece como uma substância exógena e produz um anticorpo específico contra esse ligante. O radioligante, por sua vez, é produzido adicionando-se uma partícula radioativa, que funciona como um marcador, ao ligante de interesse.

O ensaio radioimunobiológico explora o fato do ligante não-marcado a ser medido competir com o ligante marcado para se unir ao número limitado de sítios de ligação. Desta forma, como resultado desta competição inibidora, a porcentagem de ligante marcado ligado

ao anticorpo diminui gradativamente à medida que a concentração do ligante não-marcado aumenta progressivamente na amostra. Isso pode ser considerado uma diluição progressiva do radioligante acoplado ao receptor ou uma diluição progressiva do material radioativo com o material não-radioativo.

Nestas condições, mantendo-se constante a quantidade do anticorpo e do ligante marcado, a quantidade do complexo anticorpo-ligante marcado formada será inversamente proporcional à quantidade de ligante não marcado presente na amostra. Dessa forma, a dosagem do ligante de interesse é possível desde que se construa uma curva-padrão empregando-se quantidades crescentes e conhecidas do ligante não-marcado e medindo-se a radioatividade gerada pela % de ligação entre anticorpo e ligante marcado resultante. A partir dessa curva-padrão a quantidade do ligante de interesse em uma amostra pode ser estimada (THORELL; LARSON, 1978).

3.4. Drogas

Foram utilizados o antagonista serotoninérgico de receptores 5-HT_{2A/2C} tartarato de cetanserina (Sigma, EUA), nas doses de 0,25 e 0,5 mg/Kg, o inibidor de recaptação serotoninérgica cloridrato de fluoxetina (Galena, Brasil), nas doses de 5,0 e 10,0 mg/Kg e o antidepressivo tricíclico cloridrato de desipramina (Sigma, EUA) que inibe principalmente a recaptação de NA, nas doses de 5,0 e 10,0 mg/Kg.

Todas as drogas foram diluídas em salina estéril imediatamente antes das sessões experimentais e injetadas intraperitonealmente (IP). A escolha das doses foi baseada em relatos da literatura (BEAUFOUR et al., 1999; BORELLI et al., 2004; DURAND et al., 1999; HASCOËT et al., 2000; MARTIJENA et al., 2005; MOTTA et al., 1992; SANTOS, 2005).

3.5. Procedimento

3.5.1. Tratamento agudo com cetanserina

Um lote de 30 animais não submetidos a qualquer procedimento experimental foi dividido em 3 grupos: 10 receberam uma injeção de salina, 10 receberam uma injeção de 0,25 mg/Kg de cetanserina e 10 uma injeção de 0,5 mg/Kg de cetanserina. Depois de 30 minutos cada animal foi submetido individualmente ao LCE.

Trinta animais adicionais foram expostos ao LCE sem qualquer tratamento com drogas e, vinte e quatro horas depois, 10 deles receberam uma injeção de salina, 10 receberam uma injeção de 0,25 mg/Kg de cetanserina e 10 uma injeção de 0,5 mg/Kg de cetanserina. Depois de 30 minutos, cada animal foi novamente submetido ao LCE.

3.5.2. Tratamento subcrônico com fluoxetina

Os animais receberam salina, 5,0 ou 10,0 mg/Kg de fluoxetina de acordo com o tratamento subcrônico descrito por Porsolt, Le Pichon e Jafre (1977). Esse tratamento consiste na aplicação da droga em um esquema de três administrações: a primeira 24 horas antes do teste, a segunda 5 horas antes e a terceira 1 hora antes do teste. Esse procedimento reproduz os efeitos da administração crônica por duas semanas de drogas que bloqueiam a recaptação de aminas biogênicas, como mostrado no teste do nado forçado (PORSOLT; LE PICHON; JAFRE, 1977) e no reflexo de sobressalto (SANTOS; MARTINEZ; BRANDÃO, 2006). Além disso, ele permite a utilização do intervalo de vinte e quatro horas entre as sessões teste e reteste no LCE, normalmente empregado no estudo da OTT (ALBRECHET-SOUZA et al., 2005; CRUZ-MORALES; SANTOS; BRANDÃO, 2002; FILE; MABBUTT; HITCHCOTT, 1990).

Os animais foram submetidos a esse procedimento antes da exposição (n = 30) ou da reexposição (n = 30) ao LCE. O intervalo entre as sessões experimentais foi de vinte e quatro horas.

3.5.3. Tratamento subcrônico com desipramina

Os animais receberam 5,0 ou 10,0 mg/Kg de desipramina também de acordo com o tratamento subcrônico descrito por Porsolt, Le Pichon e Jafre (1977). Os animais foram submetidos a esse procedimento antes da exposição (n = 20) ou da reexposição (n = 20) ao LCE. Os grupos controles, que receberam apenas injeções de salina, foram os mesmos utilizados no tratamento com a fluoxetina. O intervalo entre as sessões experimentais foi de vinte e quatro horas.

3.5.4. Dosagem de corticosterona

Para a realização das dosagens plasmáticas de corticosterona foram utilizados ratos tratados com salina e submetidos à sessão única ou repetida no LCE. Os experimentos ocorreram no período da manhã, entre 9:00 e 11:00 horas.

Os animais submetidos à sessão única receberam uma injeção IP de salina e, após 15 minutos, foram expostos ao LCE. Depois do teste permaneceram isolados em uma caixa por 20 minutos e em seguida foram sacrificados por decapitação (n = 8). Os animais controle não foram submetidos ao LCE (n = 6). Os vinte minutos transcorridos entre a exposição ao LCE e a decapitação é o tempo necessário para que os níveis de corticosterona atinjam o pico após a exposição ao estímulo aversivo (HENNESSY; LEVINE, 1979; FILE, 1980).

Em relação aos animais submetidos à sessão repetida no LCE, no primeiro dia do teste todos eles receberam uma injeção IP de salina quinze minutos antes de serem submetidos ao labirinto e, após o teste, retornaram às gaiolas-viveiro. No segundo dia de teste, os animais

receberam outra injeção IP de salina e 15 minutos depois foram reexpostos ao LCE. Logo após o teste permaneceram isolados em uma caixa por 20 minutos e foram então sacrificados por decapitação (n = 8). Os animais controle não foram submetidos à reexposição ao LCE (n = 6).

Após a decapitação, foi coletada uma amostra de sangue de cada um dos animais em tubos de vidro heparinizados. As amostras foram centrifugadas numa velocidade de 3000 rpm, à 4°C, durante 15 minutos. O plasma foi então separado e congelado à -20°C até o momento da realização das dosagens. A extração de corticosterona foi realizada com etanol e a concentração foi determinada por radioimunoensaio. Todas as amostras foram medidas no mesmo ensaio utilizando-se anticorpo (Sigma, EUA) e corticosterona-H³ (Amersham Biosciences). O limite mínimo de detecção foi 0,08 ng/ml e o coeficiente de variação intra-ensaio foi de 5%.

3.6. Medidas comportamentais

O comportamento exploratório dos animais foi medido segundo quatro parâmetros “tradicionais”:

- Número de entradas nos braços abertos: o número de entradas nos braços abertos foi registrado contando-se o número de vezes que o animal atravessava com as quatro patas para o interior desses braços;
- Número de entradas nos braços fechados: o número de entradas nos braços fechados foi registrado contando-se o número de vezes que o animal atravessava com as quatro patas para o interior desses braços;
- Porcentagem de entradas nos braços abertos: obtida através da relação entre o número de entradas nos braços abertos e do total de entradas no labirinto:

$$\% \text{ Entradas} = \frac{100 \times \text{Número de entradas nos braços abertos}}{\text{Número total de entradas}}$$

➤ Porcentagem de tempo nos braços abertos: obtida através da relação entre o tempo despendido nos braços abertos do labirinto pelo tempo total do teste (5 minutos):

$$\% \text{ Tempo} = \frac{100 \times \text{Tempo nos braços abertos}}{\text{Tempo total do teste}}$$

Além disso, oito categorias comportamentais tidas como “novas” foram utilizadas para se avaliar a atividade exploratória dos animais: exploração da extremidade aberta do labirinto, esquadrinhamento, mergulho da cabeça, levantamento, espreitamento, esticamento, rastejamento e autolimpeza (ANSELONI; BRANDÃO, 1997):

- Exploração da extremidade aberta: postura exploratória da extremidade do braço aberto do labirinto;
- Esquadrinhamento: projeção da cabeça sobre as laterais dos braços, farejando em qualquer direção;
- Mergulho da cabeça: movimento exploratório de cabeça/ombros nas laterais ou extremidades do labirinto, em direção ao ‘precipício’;
- Levantamento: consiste na postura bípede do rato, apoiando-se com as patas posteriores no assoalho do labirinto, estando completamente ereto ou semi-arqueado;
- Espreitamento: projeção da cabeça/ombros dos braços fechados para o centro, sendo que as quatro patas permanecem no braço fechado;
- Esticamento: uma postura exploratória na qual o animal se estica e em seguida retoma a posição original, sem se locomover para frente;

- Rastejamento: locomoção exploratória onde o animal se estica e cuidadosamente move-se para frente;
- Autolimpeza: é a seqüência de autolimpeza da espécie, começando pelo focinho, indo às orelhas e terminando pela limpeza do corpo inteiro.

3.7. Análise estatística

Os resultados estão expressos como média + EPM. Os dados comportamentais foram submetidos a uma análise de variância de duas vias (ANOVA), com o tratamento (salina e drogas) como um fator e as sessões como outro fator. Para as análises *post-hoc* foi utilizado o teste de Newman-Keuls. Os valores das concentrações hormonais foram submetidos ao teste *t* de Student. Em todos os casos, $p < 0,05$ foi considerado significativo.

RESULTADOS

4. RESULTADOS

4.1. Cetanserina

Na figura 1 estão ilustrados os efeitos da salina (controle) e cetanserina (0,25 e 0,5 mg/Kg) injetadas em uma única aplicação em ratos submetidos ao teste ou reteste no LCE. A análise de variância de duas vias mostrou que os tratamentos não produziram efeitos estatisticamente significativos no número de entradas nos braços abertos, no número de entradas nos braços fechados, na porcentagem de entradas nos braços abertos e na porcentagem de tempo nos braços abertos ($F_{2,54} = 0,49; 1,90; 1,56$ e $2,01$, respectivamente; $p > 0,05$ em todos os casos).

Entre as sessões, efeitos estatisticamente significativos foram detectados no número de entradas nos braços abertos, na porcentagem de entradas nos braços abertos e na porcentagem de tempo nos braços abertos ($F_{1,54} = 42,73; 54,04$ e $36,90$, respectivamente; $p < 0,05$ em todos os casos), mas não no número de entradas nos braços fechados ($F_{1,54} = 2,27$; $p > 0,05$).

A interação entre tratamentos e sessões mostrou diferenças estatisticamente significativas no número de entradas nos braços abertos, na porcentagem de entradas nos braços abertos e na porcentagem de tempo nos braços abertos ($F_{2,54} = 4,01; 6,88$ e $4,61$, respectivamente; $p < 0,05$ em todos os casos), mas não no número de entradas nos braços fechados ($F_{2,54} = 2,35$; $p > 0,05$).

As análises *post-hoc* revelaram que a dose de 0,5 mg/Kg de cetanserina provocou um aumento significativo no número de entradas nos braços abertos do labirinto, na porcentagem de entradas nos braços abertos e no tempo em que os animais testados uma única vez permaneceram nesses braços. A dose de 0,25 mg/Kg produziu aumento significativo na porcentagem de entradas nos braços abertos e no tempo despendido nesses braços por esses animais. Em relação aos animais reexpostos ao LCE, a cetanserina não produziu qualquer

alteração na exploração, sendo que, de maneira geral, os grupos controle e tratados mostraram uma reduzida exploração dos braços abertos.

Os gráficos da figura 2 ilustram os efeitos da administração aguda de salina (controle) e cetanserina (0,25 e 0,5 mg/Kg) sobre as categorias comportamentais “novas” utilizadas para avaliar ratos submetidos ao teste ou reteste no LCE. A análise de variância de duas vias mostrou que os tratamentos produziram efeitos estatisticamente significativos nas frequências de esquadrinhamentos, de espreitamentos e de esticamentos ($F_{2,54} = 3,25; 4,46$ e $6,40$, respectivamente; $p < 0,05$ em todos os casos), mas não nas frequências de exploração das extremidades abertas, de mergulhos da cabeça, de levantamentos, de rastejamentos e de autolimpeza ($F_{2,54} = 0,46; 0,91; 1,91; 0,53$ e $0,44$, respectivamente; $p > 0,05$ em todos os casos).

Entre as sessões, diferenças estatisticamente significativas foram detectadas nas frequências de exploração das extremidades abertas do labirinto, de esquadrinhamentos, de mergulhos da cabeça e de autolimpeza ($F_{1,54} = 30,72; 27,98; 62,13$ e $6,14$, respectivamente; $p < 0,05$ em todos os casos), mas não nas frequências de levantamentos, espreitamentos, esticamentos e rastejamentos ($F_{1,54} = 0,01; 0,34; 0,13$ e $0,38$, respectivamente; $p > 0,05$ em todos os casos).

A interação entre tratamentos e sessões apresentou diferenças estatisticamente significativas nas frequências de levantamentos, de esticamentos e de rastejamentos ($F_{2,54} = 4,06; 4,43$ e $3,74$, respectivamente; $p < 0,05$ em todos os casos), mas não nas frequências de exploração das extremidades abertas, de esquadrinhamentos, de mergulhos da cabeça, de espreitamentos e de autolimpeza ($F_{2,54} = 2,82; 1,86; 1,25; 0,50; 0,30$, respectivamente, $p > 0,05$ em todos os casos).

As análises *post-hoc* mostraram que o tratamento com 0,25 e 0,5 mg/Kg de cetanserina produziu uma redução na frequência de esticamentos nos animais submetidos uma única vez ao LCE. Em relação aos animais reexpostos, o tratamento com 0,5 mg/Kg de cetanserina provocou uma redução da frequência de esquadrinhamentos.

4.2. Fluoxetina

Na figura 3 estão ilustrados os efeitos da salina (controle) e fluoxetina (5,0 e 10,0 mg/Kg), injetadas 3 vezes (tratamento subcrônico), em ratos submetidos ao teste ou reteste no LCE. A análise de variância de duas vias mostrou que os tratamentos produziram efeitos estatisticamente significativos no número de entradas nos braços fechados ($F_{2,54} = 7,89$; $p < 0,05$), mas não no número de entradas nos braços abertos, na porcentagem de entradas nos braços abertos e na porcentagem de tempo nos braços abertos ($F_{2,54} = 1,05$; 0,13 e 1,08, respectivamente; $p > 0,05$ em todos os casos).

Entre as sessões, efeitos estatisticamente significativos foram detectados no número de entradas nos braços abertos, na porcentagem de entradas nos braços abertos e na porcentagem de tempo nos braços aberto ($F_{1,54} = 25,52$; 17,52 e 29,20, respectivamente; $p < 0,05$ em todos os casos), mas não no número de entradas nos braços fechados ($F_{1,54} = 1,63$; $p > 0,05$).

A interação entre tratamentos e sessões não mostrou diferenças estatisticamente significativas no número de entradas nos braços abertos, no número de entradas nos braços fechados, na porcentagem de entradas nos braços abertos e na porcentagem de tempo nos braços aberto ($F_{2,54} = 0,30$; 0,64; 0,45 e 0,79, respectivamente; $p > 0,05$ em todos os casos).

As análises *post-hoc* revelaram que a administração subcrônica de 5,0 e 10,0 mg/Kg de fluoxetina promoveu, em animais reexpostos ao labirinto, uma redução no número de

entradas nos braços fechados. Além disso, os grupos controle e tratados mostraram uma menor exploração das extremidades abertas do labirinto, quando comparados aos animais submetidos à uma única exposição.

Os gráficos da figura 4 ilustram os efeitos da salina (controle) e fluoxetina (5,0 e 10,0 mg/Kg), injetadas 3 vezes (tratamento subcrônico), nas categorias comportamentais “novas” utilizadas para avaliar ratos submetidos ao teste ou reteste no LCE. A análise de variância de duas vias mostrou que os tratamentos produziram efeitos estatisticamente significativos nas frequências de esquadrinhamentos, de levantamentos e de espreitamentos ($F_{2,54} = 17,62; 10,34$ e $3,57$, respectivamente; $p < 0,05$ em todos os casos), mas não nas frequências de exploração das extremidades abertas, de mergulhos da cabeça, de esticamentos, de rastejamentos e de autolimpeza ($F_{2,54} = 0,88; 1,17; 0,16; 0,19$ e $1,40$, respectivamente; $p > 0,05$ em todos os casos).

Entre as sessões, diferenças estatisticamente significativas foram detectadas na frequência de exploração das extremidades abertas do labirinto, de mergulhos da cabeça, de levantamentos e de autolimpeza ($F_{1,54} = 17,75; 51,87; 4,71$ e $4,84$, respectivamente; $p < 0,05$ em todos os casos), mas não nas frequências de esquadrinhamentos, de espreitamentos, de esticamentos e de rastejamentos ($F_{1,54} = 2,46; 0,26; 0,93$ e $1,79$, respectivamente; $p > 0,05$ em todos os casos).

A interação entre tratamentos e sessões mostrou diferenças estatisticamente significativas nas frequências de esquadrinhamentos e de autolimpeza ($F_{2,54} = 20,80$ e $3,36$, respectivamente; $p < 0,05$ em ambos os casos), mas não nas frequências de exploração das extremidades abertas do labirinto, de mergulhos da cabeça, de levantamentos, de espreitamentos, de esticamentos e de rastejamentos ($F_{2,54} = 0,66; 1,20; 0,17; 0,73, 1,31$ e $1,21$, respectivamente; $p > 0,05$ em todos os casos).

As análises *post-hoc* mostraram que, em animais submetidos uma única vez ao LCE, o tratamento com 5,0 e 10,0 mg/Kg de fluoxetina promoveu um aumento significativo na frequência de esquadrinhamentos, acompanhado por uma redução na frequência de levantamentos produzida pela dose de 10,0 mg/Kg. Em relação aos animais reexpostos, o tratamento com 10,0 mg/Kg de fluoxetina provocou redução na frequência de levantamentos.

4.3. Desipramina

Na figura 5 estão ilustrados os efeitos da salina (controle) e desipramina (5,0 e 10,0 mg/Kg), injetadas 3 vezes (tratamento subcrônico), em ratos submetidos ao teste ou reteste no LCE. A análise de variância de duas vias mostrou que os tratamentos produziram efeitos estatisticamente significativos no número de entradas nos braços fechados ($F_{2,54} = 9,28$; $p < 0,05$), mas não no número de entradas nos braços abertos, na porcentagem de entradas nos braços abertos e na porcentagem de tempo nos braços abertos ($F_{2,54} = 0,36$; 0,71 e 0,27, respectivamente; $p > 0,05$, em todos os casos)

Entre as sessões, diferenças estatisticamente significativas foram detectadas no número de entradas nos braços abertos, na porcentagem de entradas nos braços abertos e na porcentagem de tempo nos braços abertos ($F_{1,54} = 31,68$; 25,98 e 36,39, respectivamente; $p < 0,05$, em todos os casos), mas não no número de entradas nos braços fechados ($F_{1,54} = 1,03$; $p > 0,05$).

A interação entre tratamentos e sessões não mostrou diferenças estatisticamente significativas no número de entradas nos braços abertos, no número de entradas nos braços fechados, na porcentagem de entradas nos braços abertos e na porcentagem de tempo nos braços abertos ($F_{2,54} = 0,38$; 0,47; 0,81 e 0,32, respectivamente; $p > 0,05$, em todos os casos)

As análises *post-hoc* revelaram que a administração subcrônica de 5,0 e 10,0 mg/Kg de desipramina promoveu, em animais testados e retestados, redução no número de entradas nos braços fechados do labirinto. Além disso, os ratos reexpostos mostraram uma redução geral na exploração dos braços abertos, quando comparados aos animais expostos uma única vez ao LCE.

Os gráficos da figura 6 ilustram os efeitos da salina (controle) e desipramina (5,0 e 10,0 mg/Kg), injetadas 3 vezes (tratamento subcrônico), nas categorias comportamentais “novas” utilizadas para avaliar ratos submetidos ao teste ou reteste no LCE. A análise de variância de duas vias mostrou que os tratamentos produziram efeitos estatisticamente significativos nas frequências de esquadrinhamentos, de levantamentos, de espreitamentos e de autolimpeza ($F_{2,54} = 15,26; 9,85; 4,67$ e $4,44$, respectivamente; $p < 0,05$ em todos os casos), mas não nas frequências de exploração das extremidades abertas, de mergulhos da cabeça, de esticamentos e de rastejamentos ($F_{2,54} = 1,18; 0,70; 2,33$ e $0,62$, respectivamente; $p > 0,05$ em todos os casos).

Entre as sessões, diferenças estatisticamente significativas foram detectadas nas frequências de exploração das extremidades abertas do labirinto, de mergulhos da cabeça e de esticamentos ($F_{1,54} = 15,96; 54,85$ e $3,81$, respectivamente; $p < 0,05$ em todos os casos), mas não nas frequências de esquadrinhamentos, de levantamentos, de espreitamentos, de rastejamentos e de autolimpeza ($F_{1,54} = 1,54; 1,57; 0,77; 0,59$ e $0,44$, respectivamente; $p > 0,05$ em todos os casos).

A interação entre tratamentos e sessões mostrou diferenças estatisticamente significativas nas frequências de esquadrinhamentos e de espreitamentos ($F_{2,54} = 22,88$ e $3,44$, respectivamente; $p < 0,05$ em ambos os casos), mas não nas frequências de exploração das extremidades abertas do labirinto, de mergulhos da cabeça, de levantamentos, de

esticamentos, de rastejamentos e de autolimpeza ($F_{2,54} = 0,79; 1,07; 0,45; 2,73; 0,18$ e $0,12$, respectivamente; $p > 0,05$ em todos os casos).

As análises *post-hoc* mostraram que o tratamento com 5,0 e 10,0 mg/Kg de desipramina promoveu, em ratos expostos uma única vez ao labirinto, um aumento significativo na frequência de esquadrinhamentos e uma redução na frequência de levantamentos. Em relação aos ratos reexpostos, a dose de 5,0 mg/Kg de desipramina provocou redução das frequências de levantamentos, espreitamentos e esticamentos.

4.4. Corticosterona

Na figura 7 estão ilustradas as concentrações plasmáticas de corticosterona medidas em ratos tratados com salina e submetidos à sessão única ou repetida no LCE. O teste *t* de Student mostrou que os animais submetidos à sessão única (T-1) diferiram estatisticamente dos animais controle (C-0), que não foram expostos ao LCE ($t = 2,64; p < 0,05$). Também os animais submetidos a sessões repetidas no labirinto (T-2) diferiram estatisticamente dos animais controle (C-1), que foram submetidos uma única vez ao LCE ($t = 3,64; p < 0,05$). Não houve diferença significativa entre os grupos controle ($t = 0,89; p > 0,05$), nem entre os grupos expostos e reexpostos ($t = 0,64; p > 0,05$).

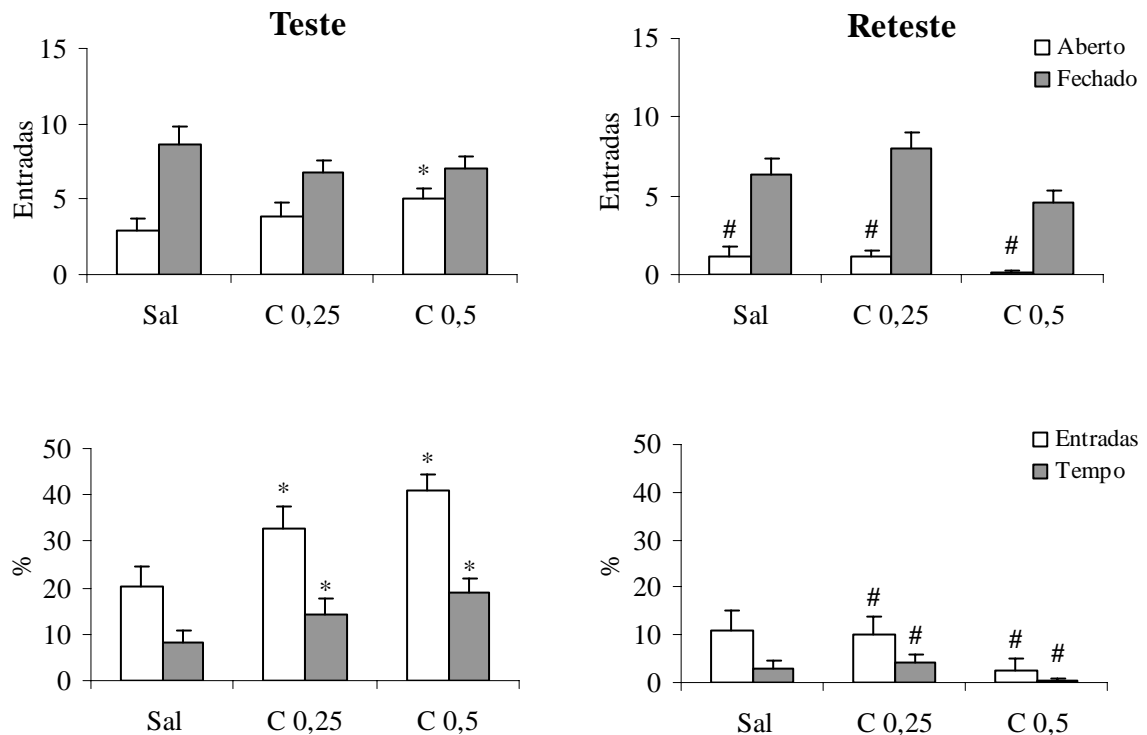


Fig.1. Efeitos da salina, 0,25 e 0,5 mg/Kg de cetanserina (C) administradas IP 30 minutos antes da sessão experimental sobre o comportamento exploratório de ratos submetidos ao teste ou reteste no LCE. Acima: número de entradas em ambos os tipos de braços. Embaixo: % de entradas e tempo de permanência nos braços abertos em relação ao total. Os dados são apresentados como médias + EPM. * diferente do grupo salina na mesma sessão; # diferente do tratamento correspondente no grupo de animais submetidos à sessão única no LCE ($p < 0,05$, teste Newman-Keuls). $n = 10$ animais em cada grupo.

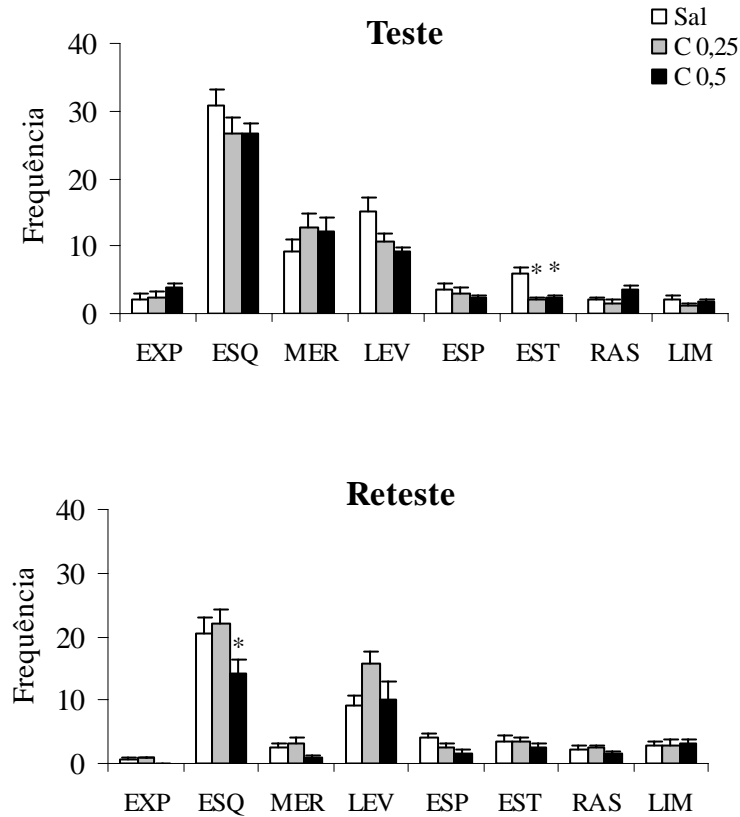


Fig.2. Efeitos da salina, 0,25 e 0,5 mg/Kg de cetanserina (C) administradas IP 30 minutos antes da sessão experimental sobre as categorias comportamentais utilizadas para a avaliação de ratos submetidos ao teste ou reteste no LCE. EXP = exploração da extremidade aberta; ESQ = esquadrinhação; MER = mergulho da cabeça; LEV = levantamento; ESP = espreitamento; EST = esticamento; RAS = rastejamento; LIM = autolimpeza. Os dados são apresentados como médias + EPM. * diferente do grupo salina na mesma sessão ($p < 0,05$, teste Newman-Keuls). $n = 10$ animais em cada grupo.

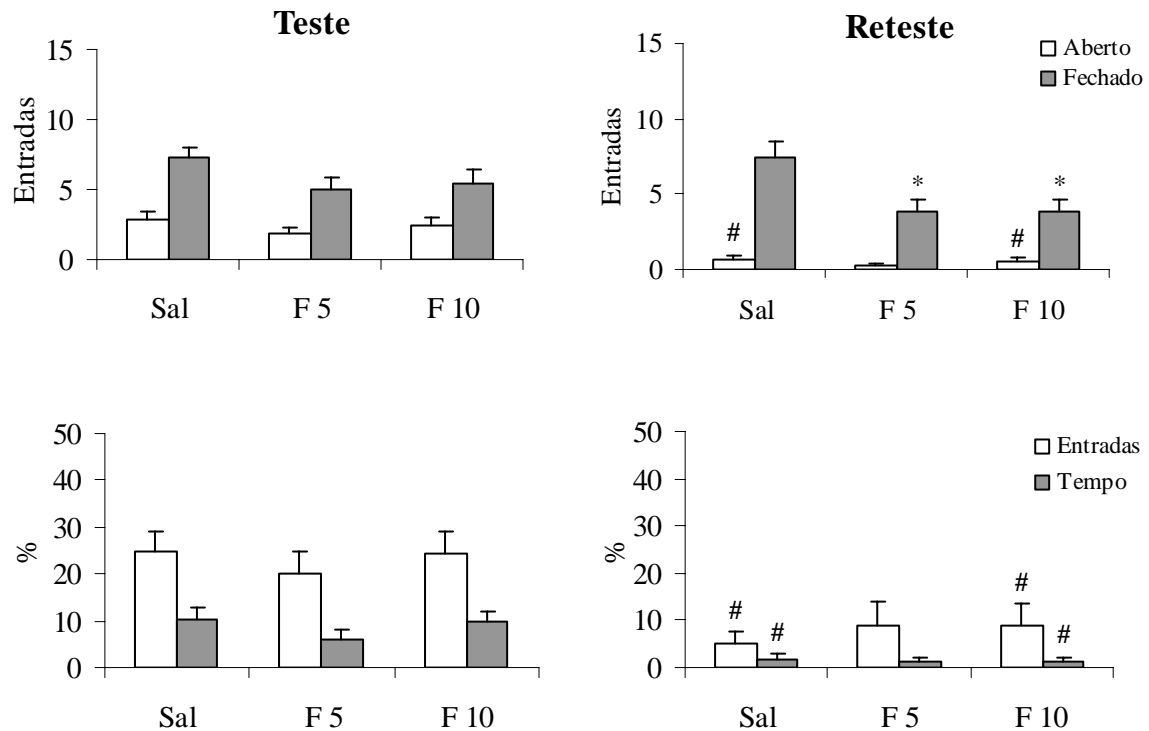


Fig.3. Efeitos do tratamento subcrônico com salina, 5,0 e 10,0 mg/Kg de fluoxetina (F) administradas via IP 24, 5 e 1 hora antes do teste, sobre o comportamento exploratório de ratos submetidos ao teste ou reteste no LCE. Acima: número de entradas em ambos os tipos de braços. Embaixo: % de entradas e tempo de permanência nos braços abertos em relação ao total. Os dados são apresentados como médias + EPM. * diferente do grupo salina na mesma sessão; # diferente do tratamento correspondente no grupo de animais submetidos à sessão única no LCE ($p < 0,05$, teste Newman-Keuls). $n = 10$ animais em cada grupo.

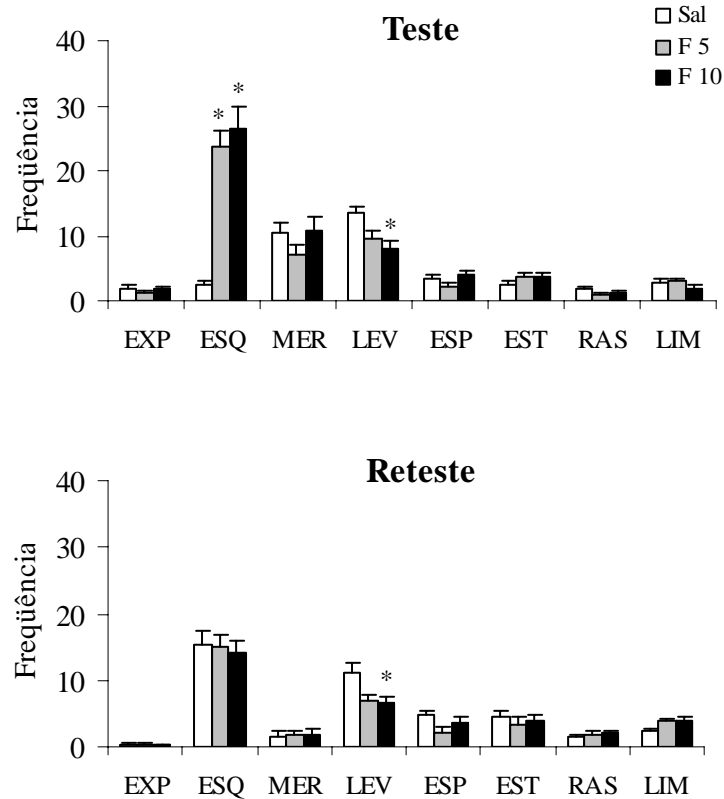


Fig.4. Efeitos do tratamento subcrônico com salina, 5,0 e 10,0 mg/Kg de fluoxetina (F) administradas via IP 24, 5 e 1 hora antes do teste, sobre as categorias comportamentais utilizadas para a avaliação de ratos submetidos ao teste ou reteste no LCE. EXP = exploração da extremidade aberta; ESQ = esquadrinamento; MER = mergulho da cabeça; LEV = levantamento; ESP = espreitamento; EST = esticamento; RAS = rastejamento; LIM = autolimpeza. Os dados são apresentados como médias + EPM. * diferente do grupo salina na mesma sessão ($p < 0,05$, teste Newman-Keuls). $n = 10$ animais em cada grupo.

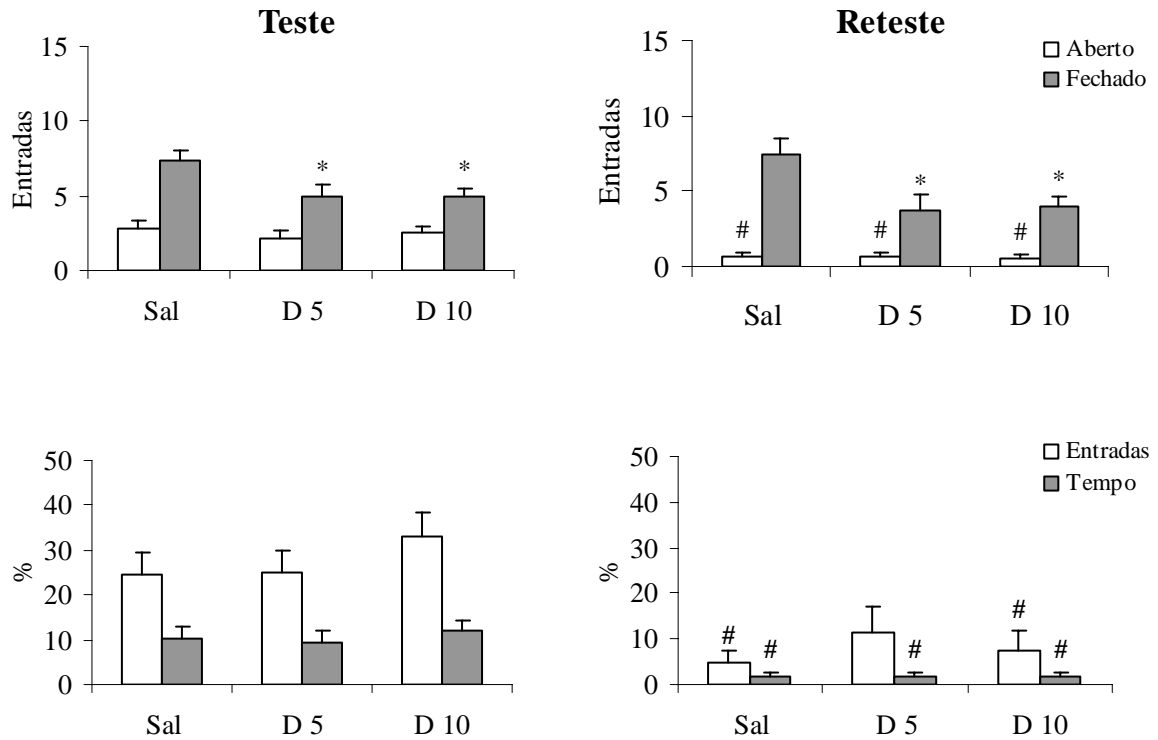


Fig.5. Efeitos do tratamento subcrônico com salina, 5,0 e 10,0 mg/Kg de desipramina (D), administradas via IP 24, 5 e 1 hora antes do teste, sobre o comportamento exploratório de ratos submetidos ao teste ou reteste no LCE. Acima: número de entradas em ambos os tipos de braços. Embaixo: % de entradas e tempo de permanência nos braços abertos em relação ao total. Os dados são apresentados como médias + EPM. * diferente do grupo salina na mesma sessão; # diferente do tratamento correspondente no grupo de animais submetidos à sessão única no LCE ($p < 0,05$, teste Newman-Keuls). $n = 10$ animais em cada grupo.

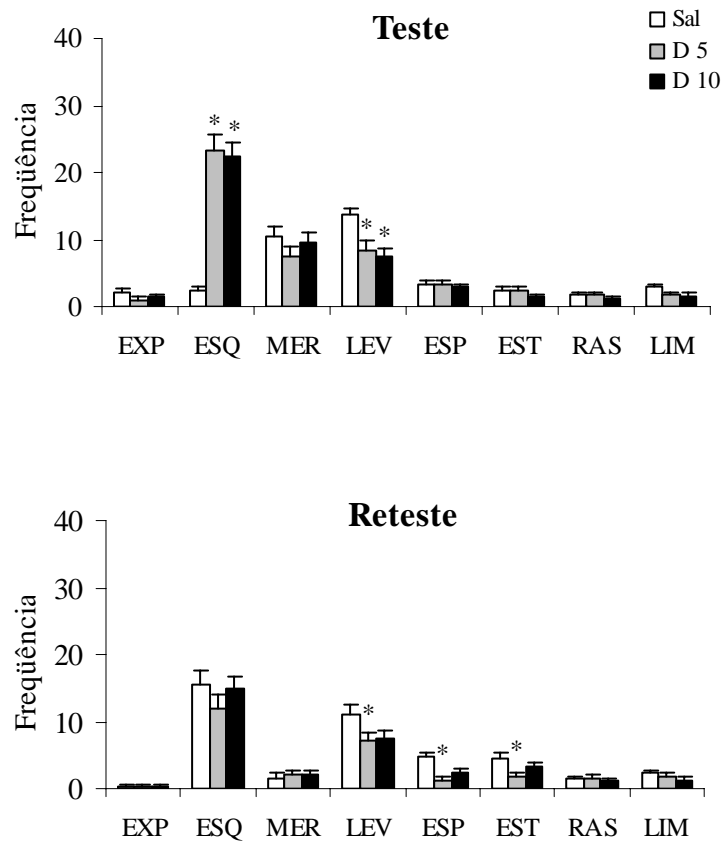


Fig.6. Efeitos do tratamento subcrônico com salina, 5,0 e 10,0 mg/Kg de desipramina (D) administradas via IP 24, 5 e 1 hora antes do teste, sobre as categorias comportamentais utilizadas para a avaliação de ratos submetidos ao teste ou reteste no LCE. EXP = exploração da extremidade aberta; ESQ = esquadrinha; MER = mergulho da cabeça; LEV = levantamento; ESP = espreitamento; EST = esticamento; RAS = rastejamento; LIM = autolimpeza. Os dados são apresentados como médias + EPM. * diferente do grupo salina na mesma sessão ($p < 0,05$, Teste Newman-Keuls). $n = 10$ animais em cada grupo.

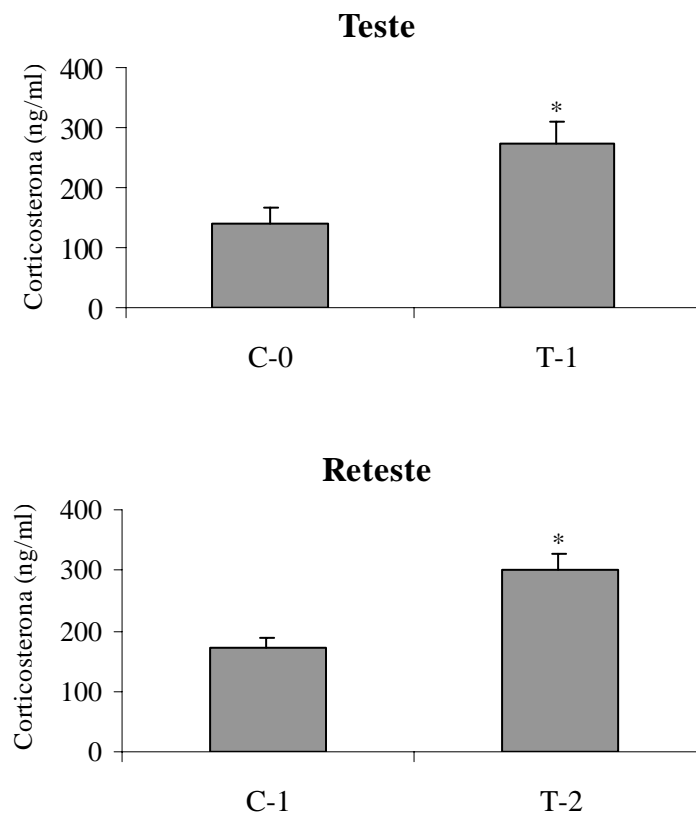


Fig.7. Efeitos da exposição ao LCE nos níveis plasmáticos de corticosterona em ratos submetidos ao teste ou reteste no LCE. Todos os animais receberam uma injeção IP de salina quinze minutos antes das sessões experimentais. Os animais foram submetidos à sessão única (T-1) ou repetida (T-2) no LCE e os grupos controles não foram expostos ao labirinto (C-0) ou foram expostos uma única vez (C-1). Os dados são apresentados como médias + EPM. * diferente do grupo controle na mesma sessão ($p < 0,05$, teste t de Student). $n = 6$ animais em cada grupo controle e 8 animais em cada grupo submetido ao LCE vinte minutos antes das medidas de corticosterona plasmática.

DISCUSSÃO

5. DISCUSSÃO

As drogas utilizadas neste trabalho, de modo geral, quando administradas em animais reexpostos ao LCE, não produziram aumento da exploração dos braços abertos nem do tempo de permanência dos animais nesses braços. No entanto, a administração de fluoxetina e desipramina promoveu uma redução no número de entradas nos braços fechados do labirinto.

Em relação às categorias comportamentais tidas como “novas”, os animais reexpostos tratados com 0,5 mg/Kg de cetanserina tiveram uma redução da frequência de esquadrinhamentos, a administração subcrônica de fluoxetina causou redução da frequência de levantamentos e a administração de desipramina produziu redução nas frequências de levantamentos, espreitamentos e esticamentos.

Essa ausência de efeito anti-aversivo das drogas em animais reexpostos ao LCE pode estar relacionada ao desenvolvimento da OTT. Esse fenômeno tem recebido considerável atenção e diversas hipóteses têm sido sugeridas, como alteração do estado emocional do animal, com aquisição de fobia (BERTOGLIO; CAROBREZ, 2000; CRUZ-MORALES; SANTOS; BRANDÃO, 2002; FILE; MABBUTT; HITCHCOTT, 1990; FILE; ZANGROSSI JÚNIOR, 1993; NUTT, 1990), perda do conflito motivacional (RODGERS; SHEPHERD, 1993) e habituação do comportamento exploratório (DAWSON et al., 1994). Nesse trabalho apresentamos evidências contrárias à hipótese de que a OTT seja resultado da habituação do animal à exposição repetida ao LCE. Como discutiremos a seguir, os animais apresentaram uma alteração emocional importante, como avaliado pelos elevados níveis de corticosterona plasmática, considerada um indicador confiável de estresse e medo (GRAEFF, 1996; PELLOW et al., 1985; TODOROVIC et al., 2005; TREIT; MENARD; ROYAN, 1993).

No início dos estudos com o LCE, Pellow et al. (1985), mostraram que ratos confinados aos braços abertos ou fechados do labirinto, apresentavam um aumento significativo da concentração plasmática de corticosterona em relação aos animais controles

não submetidos ao teste. Adicionalmente, ratos confinados aos braços abertos apresentaram uma elevação das concentrações plasmáticas de corticosterona significativamente maior do que aqueles confinados aos braços fechados.

Este trabalho, corroborando outros existentes (FILE; JOHNSTON; BALDWIN, 1988; FILE et al., 1994), mostrou que uma exposição única, por 5 minutos ao LCE mesmo sem qualquer confinamento, é suficiente para elevar significativamente as concentrações plasmáticas de corticosterona em ratos que não haviam passado por qualquer procedimento experimental. Esse aumento é atribuído tanto à novidade quanto aos estímulos estressantes presentes no teste (PELLOW et al., 1985). Ratos reexpostos ao LCE, da mesma forma, apresentaram um aumento dos níveis plasmáticos de corticosterona similar àquele mostrado por ratos expostos uma única vez. Este achado contrasta com a habituação que essa resposta apresenta, após a reexposição, em outros modelos animais de ansiedade, como o teste da interação social e do odor de predadores (FILE; PEET, 1980; FILE; JOHNSTON; BALDWIN, 1988). Além disso, esses resultados são compatíveis com a noção de que a reexposição ao LCE, diferentemente do proposto por alguns autores, apresenta propriedades aversivas, de modo que o fenômeno da OTT deve estar mais relacionado a uma alteração no estado emocional do animal do que à simples habituação do comportamento exploratório (FILE; MABBUTT; HITCHCOTT, 1990; FILE; ZANGROSSI JÚNIOR, 1993; FILE et al., 1994).

Alguns estudos demonstraram que alterações na atividade serotoninérgica, dependendo da dose utilizada da droga, podem produzir tanto efeitos ansiogênicos quanto efeitos ansiolíticos em testes de conflito (HJORT; SÖDERPALM; ENGEL, 1987). Nesse contexto, Motta et al (1992), mostraram um efeito bifásico da cetanserina no comportamento de ratos submetidos ao teste do LCE: doses baixas, como 0,5 mg/Kg, causavam uma redução da aversão aos braços abertos e doses maiores, como 1,0 mg/Kg, causavam uma redução

inespecífica da atividade geral dos animais. Confirmando esses resultados, o presente trabalho mostrou que a administração aguda de doses baixas de cetanserina, 0,25 e 0,5 mg/Kg, promove efeito ansiolítico em ratos submetidos uma única vez ao LCE, aumentando a exploração dos braços abertos, assim como a porcentagem de tempo despendida nesses braços, sem aumentar a atividade dos animais nos braços fechados do labirinto. Em relação às categorias comportamentais “novas”, tanto a dose de 0,25 mg/Kg, quanto a de 0,5 mg/Kg de cetanserina promoveram redução da frequência de esticamentos.

Embora esses resultados sejam de difícil interpretação, uma vez que essas injeções sistêmicas alteram os níveis de 5-HT em todas as áreas do sistema nervoso central, é possível que os efeitos ansiolíticos da cetanserina ocorram principalmente devido à sua atuação na amígdala, como sugerido por alguns autores (DEAKIN, 1989; MOTTA et al., 1992). Resultados controversos, porém, foram observados em estudos que utilizaram estimulação elétrica da substância cinzenta periaquedutal dorsal (JENCK; BROEKKAMP; VAN DELFT, 1989) ou mesmo injeções locais em núcleos distintos da amígdala (ZANGROSSI JÚNIOR; GRAEFF, 1994). Essa heterogeneidade de resultados se deve, em parte, à atuação da cetanserina como antagonista tanto de receptores do tipo 5-HT_{2A} quanto 5-HT_{2C}, ambos implicados na regulação de transtornos afetivos, porém diferentemente distribuídos no sistema nervoso central.

O subtipo 5-HT_{2A} está presente, em altas concentrações, no córtex frontal, gânglios da base e, em menor densidade, em alguns componentes do sistema límbico, como hipocampo, septo e amígdala (POMPEIANO; PALACIOS; MENGOD, 1994). A distribuição corticolímbica desses receptores sugere um papel crítico na neuropatologia e tratamento de uma variedade de transtornos psiquiátricos, incluindo ansiedade (NIC DHONNCHADHA; BOURIN; HASCÖET, 2003). Os receptores 5-HT_{2C} apresentam distribuição variada em diferentes áreas encefálicas, como núcleo septal lateral, núcleo subtalâmico, amígdala,

hipocampo, substância nigra, substância cinzenta e cerebelo (ABRAMOWSKI et al., 1995; SHARMA; PUNHANI; FONE, 1997). Estes receptores têm sido implicados na modulação de distúrbios alimentares, enxaqueca, ansiedade e na regulação endócrina (FOZARD; GRAY, 1989; KENNETT et al., 1989; KENNETT; CURZON, 1991; KING et al., 1989).

A administração subcrônica de fluoxetina, por sua vez, não provocou alterações significativas no número de entradas nas extremidades abertas do labirinto, nem no tempo de permanência dos animais nesses braços, mostrando-se inteiramente inefetiva em reverter a “ansiedade” da primeira exposição ou o “medo” da segunda exposição ao LCE. Esses resultados corroboram outros obtidos anteriormente que mostram que o tratamento crônico com fluoxetina não altera significativamente a exploração das extremidades abertas do labirinto (DURAND et al., 1999; SILVA; BRANDÃO, 2000). Além disso, essa ausência de efeito ansiolítico da fluoxetina em animais submetidos uma única vez ao LCE é condizente com a baixa eficácia dos ISRS no tratamento dos transtornos de ansiedade generalizada, embora eles sejam amplamente utilizados no tratamento da depressão e dos distúrbios do pânico.

Um quadro semelhante ao da fluoxetina foi produzido pela administração subcrônica de desipramina. A droga não promoveu alterações significativas no número de entradas nas extremidades abertas do labirinto, nem no tempo de permanência dos animais nesses braços. Houve, contudo, redução significativa no número de entradas nos braços fechados do labirinto. A desipramina produziu em ratos expostos uma única vez ao LCE aumento na frequência de esquadrinamentos e redução na frequência de levantamentos. Embora essa ausência de efeitos específicos tenha sido reportada por outros autores (CHOPIN; BRILEY, 1987; FILE, 1985), não deve ser excluída a possibilidade das doses utilizadas e do tratamento subcrônico não serem suficientes para produzirem concentrações encefálicas da droga capazes de causar modificações neurobiológicas responsáveis por efeitos ansiolíticos. Como

apresentado por alguns estudos, esses resultados parecem ser obtidos apenas em tratamentos crônicos (SURANYI-CADOTTE; BODNOFF; WELNER, 1990).

Embora pesquisas clínicas tenham revelado resultados promissores a respeito da utilização de antidepressivos no tratamento da ansiedade, resultados obtidos de modelos animais são variáveis e controversos. Essa variedade de resultados ocorre devido a vários fatores, dentre eles o fato dos efeitos ansiolíticos não serem causados por todos os antidepressivos e também por nem todos os modelos animais de ansiedade serem sensíveis à ação antidepressiva de drogas. Na realidade, a maioria desses modelos, incluindo o LCE, foram otimizados para detectar efeitos ansiolíticos dos benzodiazepínicos e compostos relacionados (HASCOËT et al., 2000). O desenvolvimento de novos modelos animais de ansiedade - que sejam sensíveis aos efeitos ansiolíticos de outras classes de compostos - pode ser assim um passo importante na nossa busca da compreensão dos mecanismos neurais subjacentes à “one-trial tolerance”.

CONCLUSÕES

6. CONCLUSÕES

- O antagonista serotoninérgico cetanserina produziu efeitos anti-aversivos em ratos submetidos a uma única sessão no LCE;

- As drogas utilizadas neste estudo não produziram aumento da exploração dos braços abertos do LCE em animais reexpostos ao teste. Essa ausência de efeito anti-aversivo deve estar relacionada ao desenvolvimento da OTT, indicando que esse fenômeno não é associado exclusivamente aos compostos benzodiazepínicos, mas ocorre também com drogas que atuam no sistema serotoninérgico;

- A administração subcrônica de fluoxetina revelou-se inteiramente inefetiva em reverter a “ansiedade” da primeira exposição ou o “medo” da segunda exposição ao LCE. Essa ausência de efeito ansiolítico é condizente com a baixa eficácia dos ISRS no tratamento dos transtornos de ansiedade generalizada;

- A administração subcrônica de desipramina também não promoveu alterações significativas na exploração dos braços abertos do labirinto;

- O aumento dos níveis plasmáticos de corticosterona em ratos submetidos à sessão repetida no LCE, similar àquele mostrado por ratos submetidos à sessão única, sugere que a reexposição, diferentemente do proposto por alguns autores, apresenta propriedades aversivas, de modo que, o fenômeno da OTT deve estar mais relacionado a uma alteração no estado emocional do animal do que à simples habituação do comportamento exploratório.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABRAMOWSKI, D.; RIGO, M.; DUC, D.; HOYER, D.; STAUFENBIEL, M. Localization of the 5-hydroxytryptamine_{2C} receptor protein in human and rat brain using specific antisera. **Neuropharmacology**, v.34, p.1635-1645, 1995.

ALBRECHET-SOUZA, L.; OLIVEIRA, A. R.; DeLUCA, M. C. Z.; TOMAZINI, F. M.; SANTOS, N. R.; BRANDÃO, M. L. A comparative study with two types of elevated plus-maze (transparent vs. opaque walls) on the effects of midazolam, one-trial tolerance and fear-induced analgesia. **Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry**, v.29, p.571-579, 2005.

ANSELONI, V. C. Z.; BRANDÃO, M. L. Ethopharmacological analysis of behavior of rats using variations of the elevated plus-maze. **Behavioral Pharmacology**, v.8, p.533-540, 1997.

BEAUFOUR, C. C.; BALLON, N.; LE BIHAN, C.; HAMON, M.; THIÉBOT, M. H. Effects of chronic antidepressants in an operant conflict procedure of anxiety in the rat. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**, v.62, p.591-599, 1999.

BERTOGLIO, L. J.; CAROBREZ, A. P. Previous maze experience required to increase open arms avoidance in rats submitted to the elevated plus-maze model of anxiety. **Behavioral Brain Research**, v.108, p.197-203, 2000.

BLANCHARD, R. J.; BLANCHARD, D. C. An ethoexperimental approach to the study of fear. **Psychology Research**, v.37, p.305-316, 1987.

BORELLI, K. G.; NOBRE, M. J.; BRANDÃO, M. L.; COIMBRA, N. C. Effects of acute and chronic fluoxetine and diazepam on freezing behavior induced by electrical stimulation of dorsolateral and lateral columns of the periaqueductal gray matter. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**, v.77, p.557-566, 2004.

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 Biobehavioural Reviews**, v.23, p.863-875, 1999.

CHOPIN, P.; BRILEY, M. Animal models of anxiety: the effects of compounds that modify 5-HT neurotransmission. **Trends in Pharmacological Sciences**, v.8, p.383-389, 1987.

COPLAN, J.; LYDIARD, R. B. The neurobiology of anxiety disorders: brain circuits in panic disorder. **Biological Psychiatry**, v.44, p.1264-1276, 1998.

CRUZ-MORALES, S. E.; SANTOS, N. R.; BRANDÃO, M. L. One-trial tolerance to midazolam is due to enhancement of fear and reduction of anxiolytic-sensitive behaviors in the elevated plus-maze retest in the rat. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**, v.72, p.973-978, 2002.

DARWIN, C. **A expressão das emoções no homem e nos animais**. São Paulo: Companhia das Letras, 2000. 384p.

DAWSON, G. R.; CRAWFORD, S. P.; STANHOPE, K. J.; IVERSEN, S. D.; TRICKLEBANK, M. D. One-trial tolerance to the effects of chlordiazepoxide on the elevated plus-maze may be due to locomotor habituation, not repeated drug exposure. **Psychopharmacology**, v.113, p.570-572, 1994.

DEAKIN, J. K. W. 5-HT receptor subtypes in depression. In: BEVAN, P.; COOLS, A. R.; ARCHER, T. **Behavioral pharmacology of 5-HT**. New Jersey: Lawrence Erlbaum, Hillsdale, 1989, p.179-204.

DRATCU, L.; LADER, M. Ansiedade: conceito, classificação e biologia. **Jornal Brasileiro de Psiquiatria**, v.42, p.19-32, 1993.

DURAND, M.; BERTON, O.; AGUERRE, S.; EDNO, L.; COMBOURIEU, I.; MORMÈDE, P.; CHAOULOFF, F. Effects of repeated fluoxetine on anxiety-related behaviours, central serotonergic systems, and the corticotropic axis in SHR and WKY rats. **Neuropharmacology**, v.38, p.893-907, 1999.

FANSELOW, M. S. The midbrain periaqueductal gray as a coordinator of action in response to fear and anxiety. In: DEPAULIS, A.; BANDLER, R. **The midbrain periaqueductal gray matter: functional, anatomical and immunohistochemical organization**. New York: Plenum Publishing Corporation, 1991, p.151-173.

FILE, S. E. The use of social interaction as a method for detecting the anxiolytic activity of chlordiazepoxide-like drugs. **Journal of Neuroscience Methods**, v.2, p.219-238, 1980.

FILE, S. E. ; PEET, L. A. Sensitivity of the rat corticosterone response to environmental manipulations and to chronic chlordiazepoxide treatment. **Physiology and Behaviour**, v.25, p.753-758, 1980.

FILE, S. E. Animal models for predicting clinical efficacy of anxiolytic drugs: social behavior. **Neuropsychobiology**, v.13, p.55-62, 1985.

FILE, S. E.; JOHNSTON, A. L.; BALDWIN, H. A. Anxiolytic and anxiogenic drugs: changes in behaviour and endocrine responses. **Stress Medicine**, v.4, p.221-230, 1988.

FILE, S. E.; MABBUTT, P.S.; HITCHCOTT, P. K. Characterization of phenomenon of one-trial tolerance to the anxiolytic effect of chlordiazepoxide in the elevated plus-maze. **Psychopharmacology**, v.102, p.98-101, 1990.

FILE, S. E.; ZANGROSSI JÚNIOR, H. One-trial tolerance to the anxiolytic actions of benzodiazepine in the elevated plus-maze, or the development of a phobic state? **Psychopharmacology**, v.110, p.240-244, 1993.

FILE, S. E.; ZANGROSSI JÚNIOR, H.; SANDERS, F. L.; MABBUTT, P. S. Raised corticosterone in the rat after exposure to the elevated plus-maze. **Psychopharmacology**, v.113, p.543-546, 1994.

FOZARD, J. R.; GRAY, J. A. 5-HT_{1C} receptor activation: a key step in the initiation of migraine? **Trends in Pharmacological Sciences**, v.10, p.307-309, 1989.

GRAEFF, F. G.; SCHOENFELD, R. I. Tryptamine mechanisms in punished and non punished behavior. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutic**, v.173, p.277-283, 1970.

GRAEFF, F. G. Ansiolíticos. In: _____. **Drogas psicotrópicas e seu modo de ação**. 2^a ed. São Paulo: EPU, 1989. cap.5, p.61-83.

_____. Brain defense system and anxiety. In: BURROWS, G. D.; ROTH, M.; NYERS JÚNIOR, R. **Handbook of anxiety: the neurobiology of anxiety**. Amsterdam: Elsevier Sciences Publishers, 1990. v.3, p.307-354.

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

GRAEFF, F. G. Ansiedade. In: GRAEFF, F. G.; BRANDÃO, M. L. **Neurobiologia das doenças mentais**. 3^a ed. São Paulo: Lemos, 1996. cap. 5, p.109-144.

_____. Serotonergic systems. **Neuropsychiatry**, v.20, p.723-739, 1997.

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

GUYTON, A. C.; HALL, J. E. Tratado de fisiologia médica. In: _____. **Os hormônios adrenocorticais**. 10^a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. cap 77, p.813-826.

HASCOËT, 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. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**, v.65, p.339-344, 2000.

HENNESSY, J. W.; LEVINE, S. Stress, arousal and the pituitary-adrenal system: a psychoendocrine hypothesis. In: SPRANGUE, J. M.; EPSTEIN, A. N. **Progress in Psychobiology and Physiological Psychology**. New York: Academic Press, 1979. v.8, p.133-178.

HOLMES, A.; RODGERS, R. G. 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.

HUMPHREY, P. P. A.; HARTIG, P.; HOYER, D. A proposed new nomenclature for 5-HT receptors. **Comment-TIPS**, v.14, p.233-236, 1993.

INSEL, T. R.; MUELLER, E. A.; ALTERMAN, I.; LINNOILA, M.; MURPHY, D. L. obsessive-compulsive disorder and serotonin: is there a connection? **Biological Psychiatry**, v.20, p.1174-1188, 1985.

JENCK F.; BROEKKAMP C. L.; VAN DELFT, A. M. Effects of serotonin receptor antagonists on PAG stimulation induced aversion: different contributions of 5HT₁, 5HT₂ and 5HT₃ receptors. **Psychopharmacology**, v.4, p.489-495, 1989.

KENNETT, G. A.; WHITTON, P.; SHAH, K.; CURZON, G. Anxiogenic-like effects of mCPP and TFMPP in animal models are opposed by 5-HT_{1C} antagonists. **European Journal of Pharmacology**, v.164, p.445-454, 1989.

KENNETT, G. A.; CURZON, G. Potencies of antagonists indicate that 5-HT_{1C} receptors mediate 1-2(chlorophenyl)piperazine-induced hypophagia. **British Journal of Pharmacology**, v.103, p.2016-2020, 1991.

KENT, J. M.; COPLAN, J. D.; GORMAN, J. M. Clinical utility of the selective serotonin reuptake inhibitors in the spectrum of anxiety. **Biological Psychiatry**, v.44, p.812-824, 1998.

KING, B. H.; BRAZELL, C.; DOURISH, C. T.; MIDDLEMISS, D. N. MK-212 increases rat plasma ACTH concentrations by activation of the 5-HT_{1C} receptor subtype. **Neuroscience Letters**, v.105, p.174-176, 1989.

LEE, M. G.; KOLLARIK, M.; CHUAYCHOO, B.; UNDEM, B. J. Iontropic and metabotropic receptor mediated airway sensory nerve action. **Pulmonary Pharmacology & Therapeutics**, v.17. p.355-360, 2004.

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

MARTIJENA, I. D.; BUSTOS, S. G.; BERTOTTO, M. E.; MOLINA, V. A. Antidepressants attenuate both the enhanced ethanol intake and ethanol-induced anxiolytic effects in diazepam withdrawn rats. **European Neuropsychopharmacology**, v.15, p.119-130, 2005.

MARTIN, G. R.; HUMPHREY, P. P. A. Receptors for 5-hydroxytryptamine: current perspectives on classification and nomenclature. **Neuropharmacology**, v.33, p.261-273, 1994.

MATEO, J. M.; CAVIGELLI, A. S. A validation of extraction methods for noninvasive sampling of glucocorticoids in free-living ground squirrels. **Physiological and Biochemical Zoology**, v.78, p.1069-1084, 2005.

MATTERI, R. L.; CARROLL, J. A.; DYER, C. J. Neuroendocrine responses to stress. In: MOBERG, G. P.; MENCH, J. A. **The biology of animal stress: basic principles and implications for animal welfare**. New York: CABI Publishing, 2000. p.43-76.

MOTTA, V.; MAISONNETTE, S.; MORATO, S.; CASTRECHINI, P.; BRANDÃO, M. L. Effects of 5-HT₂ receptors and activation of 5-HT_{1A} receptors on the exploratory of rats in the elevated plus-maze. **Psychopharmacology**, v.107, p.135-139, 1992.

NIC DHONNCHADHA, B. A.; BOURIN, M.; HASCÖET, M. Anxiolytic-like effects of 5-HT₂ ligands on three mouse models of anxiety. **Behavioral Brain Research**, v.140, p.203-214, 2003.

NUTT, D. J. The pharmacology of human anxiety. **Pharmacology and Therapeutics**, v.47, p.233-236, 1990.

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

POMPEIANO, M.; PALACIOS, J. M.; MENGOD, G. Distribution of the serotonin 5-HT₂ receptor family mRNAs: comparison between 5-HT_{2A} and 5-HT_{2C} receptors. **Molecular Brain Research**, v.23, p.163-178, 1994.

PORSOLT, R. D.; LE PICHON, M.; JAFRE, M. Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments. **Nature**, v.226, p.730-732, 1977.

PRATT, J. A. The neuroanatomical basis of anxiety. **Pharmacology & Therapeutics**, v.55, p.149-181, 1992.

RODGERS, R. J.; SHEPHERD, J. K. Influence of prior maze experience on behaviour and responses to diazepam in the elevated plus-maze and light/dark tests of anxiety in mice. **Psychopharmacology**, v.113, p.237-242, 1993.

SÁNCHEZ, C.; MEIER, E. Behavioral profile of SSRIs in animals models of depression, anxiety and aggression. **Psychopharmacology**, v.129, p.197-2005, 1997.

SANDFORD, J. J.; ARGYROPOULOS, S. V.; NUTT, D. J. The psychobiology of anxiolytic drugs. Part 1: basic neurobiology. **Pharmacology & Therapeutics**, v.88, p.197-212, 2000.

SANTOS, J. M. **Dissociação farmacológica com midazolam e fluoxetina do medo moderado e intenso avaliado pelo teste do sobressalto potencializado pelo contexto aversivo**. 2005. 52 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2005.

SANTOS, J. M.; MARTINEZ, R. C. R.; BRANDÃO, M. L. Effects of acute and subchronic treatments with fluoxetine and desipramine on the memory of fear in moderate and high intensity contextual conditioning. **European Journal of Pharmacology**. Article in Press.

SAPOLSKY, R. M. Glucocorticoids, stress, and their adverse neurological effects: relevance to aging. **Experimental Gerontology**, v.34, p.721-732, 1999.

_____. Stress hormones: good and bad. **Neurobiology of Disease**. v.7, p.540-542, 2000.

SHARMA, A.; PUNHANI, T.; FONE, K. C. F. Distributon of the 5-hydroxytryptamine_{2C} receptor protein in adult rat brain and spinal cord determined using a receptor-directed antibody: effect of 5,7-dihydroxytryptamine. **Synapse**, v.27, p.45-56, 1997.

SHEEHAN, M. B.; DUNBAR, G. C.; FUELL, D. L. The effects of paroxetine on anxiety and agitation associated with depression. **Psychopharmacology Bulletin.**, v.28, p.139-143, 1992.

SILVA, R. C. B.; BRANDÃO, M. L. Acute and chronic effects of gespiron and fluoxetine in rats tested in the elevated plus-maze: an ethological analysis. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**, v.65, p.209-216, 2000.

STEIN, L.; WISE, C. D.; BERGER, B. D. Antianxiety actions of benzodiazepines: decrease in activity of serotonin neurons in the punishment systems. In: GRATINI, S.; MUSSINI, E.; RANDELL, L. O. **Benzodiazepines**. New York: Raven Press, 1973. p.299-326.

SURANYI-CADOTTE, B. E.; BODNOFF, S. R.; WELNER, S. A. Antidepressant-anxiolytic interactions: involvement of the benzodiazepine-GABA and serotonin systems. **Progress in Neuropsychopharmacology and Biological Psychiatry**, v.14, p.633-654, 1990.

THORELL, J. I.; LARSON, S. M. **Radioimmunoassay and related techniques: methodology and clinical applications**. Saint Louis: C. V. Mosby Company, 1978. 298p.

TODOROVIC, C.; JAHN, O.; TEZVAL, H.; HIPPEL, C.; SPIESS, J. The role of CRF receptors in anxiety and depression: implications of the novel CRF1 agonist cortagine. **Neuroscience Biobehavioural Reviews**, v.29, p.1323-1333, 2005.

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

WESTENBERG, H. G. M.; DEN BOER, J. A. Clinical and biochemical effects of selective serotonin-uptake inhibitors in anxiety disorders. **Advances in Biological Psychiatry**, v.17, p.84-99, 1988.

WESTENBERG, H. G. M. Serotonin in anxiety and related disorders. **Second International Symposium on Serotonin**. Houston, TX, USA, v.24, p.15-18, 1992.

ZANGROSSI JUNIOR H.; GRAEFF F. G. Behavioral effects of intra-amygdala injections of GABA and 5-HT acting drugs in the elevated plus-maze. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v.10, p.2453-2456, 1994.

APÊNDICE

Tabela 1 – Resultados individuais do comportamento exploratório (“medidas tradicionais”) de ratos submetidos à sessão única no LCE sob tratamento agudo com salina ou cetanserina (0,25 e 0,5 mg/Kg). EBA = número de entradas nos braços abertos; EBF = número de entradas nos braços fechados; %EBA = porcentagem de entradas nos braços abertos; %TBA = porcentagem de tempo nos braços abertos.

SALINA	EBA	EBF	%EBA	%TBA
Rato 1	0	2	0	0
Rato 2	5	12	29,4	13,7
Rato 3	3	11	21,4	5,5
Rato 4	7	10	41,2	25,3
Rato 5	0	4	0	0
Rato 6	2	9	18,2	5,4
Rato 7	2	9	18,2	3,1
Rato 8	2	5	28,6	4,5
Rato 9	2	9	18,2	7,5
Rato 10	6	15	28,6	15,7
MÉDIA	2,9	8,6	20,4	8,1
EPM	0,75	1,24	4,08	2,51
CET 0,25	EBA	EBF	%EBA	%TBA
Rato 1	0	4	0	0
Rato 2	1	6	14,3	2,0
Rato 3	2	4	33,3	6,7
Rato 4	9	11	45,0	35,8
Rato 5	4	5	44,4	15,5
Rato 6	4	5	44,4	13,2
Rato 7	6	7	46,2	23,2
Rato 8	5	11	31,3	15,3
Rato 9	5	7	41,7	20,1
Rato 10	3	8	27,3	11,6
MÉDIA	3,9	6,8	32,8	14,4
EPM	0,82	0,81	4,86	3,33
CET 5,0	EBA	EBF	%EBA	%TBA
Rato 1	4	5	44,4	13,5
Rato 2	5	6	45,5	19,7
Rato 3	4	9	30,8	13,3
Rato 4	6	7	46,2	23,7
Rato 5	6	5	54,5	29,4
Rato 6	1	4	20,0	1,8
Rato 7	8	8	50,0	32,5
Rato 8	6	6	50,0	15,3
Rato 9	5	12	29,4	17,7
Rato 10	6	9	40,0	23,8
MÉDIA	5,1	7,1	41,1	19,1
EPM	0,59	0,77	3,47	2,81

Tabela 2 – Resultados individuais do comportamento exploratório (“medidas novas”) de ratos submetidos à sessão única no LCE sob tratamento agudo com salina ou cetanserina (0,25 e 0,5 mg/Kg). EXP = exploração da extremidade aberta; ESQ = esquadrinamento; MER = mergulho da cabeça; LEV = levantamento; ESP = espreitamento; EST = esticamento; RAS = rastejamento; LIM = autolimpeza.

SALINA	EXP	ESQ	MER	LEV	ESP	EST	RAS	LIM
Rato 1	0	24	4	10	4	12	1	2
Rato 2	5	32	7	11	1	7	2	2
Rato 3	0	35	8	19	6	5	4	3
Rato 4	7	34	19	10	2	3	0	4
Rato 5	0	19	5	6	2	6	2	1
Rato 6	2	25	6	12	8	5	2	2
Rato 7	0	35	9	29	6	9	3	5
Rato 8	2	22	8	12	2	2	0	1
Rato 9	2	38	10	17	4	8	5	1
Rato 10	4	43	17	24	1	2	1	1
MÉDIA	2,2	30,7	9,3	15,0	3,6	5,9	2,0	2,2
EPM	0,77	2,46	1,56	2,27	0,76	1,02	0,52	0,44
CET 0,25	EXP	ESQ	MER	LEV	ESP	EST	RAS	LIM
Rato 1	0	18	2	14	7	2	2	2
Rato 2	0	27	7	12	4	4	2	4
Rato 3	1	14	7	5	2	2	0	0
Rato 4	8	41	25	13	1	2	2	1
Rato 5	2	26	11	15	1	2	0	2
Rato 6	2	27	10	15	1	3	2	2
Rato 7	4	28	17	10	4	1	2	0
Rato 8	3	27	14	7	4	1	4	0
Rato 9	3	33	17	8	4	3	1	1
Rato 10	2	27	16	8	3	1	1	0
MÉDIA	2,5	26,8	12,6	10,7	3,1	2,1	1,6	1,2
EPM	0,73	2,32	2,08	1,14	0,60	0,31	0,37	0,42
CET 0,5	EXP	ESQ	MER	LEV	ESP	EST	RAS	LIM
Rato 1	3	26	11	11	1	3	1	2
Rato 2	4	29	17	9	3	2	2	1
Rato 3	3	24	8	9	5	2	5	2
Rato 4	3	30	13	12	4	1	6	3
Rato 5	6	31	20	5	0	4	2	0
Rato 6	0	19	5	8	1	5	3	2
Rato 7	6	32	22	7	2	1	0	1
Rato 8	4	23	9	10	2	1	5	1
Rato 9	4	27	3	12	2	3	3	3
Rato 10	5	27	14	8	3	1	8	2
MÉDIA	3,8	26,8	12,2	9,1	2,3	2,3	3,5	1,7
EPM	0,55	1,26	1,97	0,71	0,47	0,45	0,78	0,30

Tabela 3 – Resultados individuais do comportamento exploratório (“medidas tradicionais”) de ratos submetidos a sessões repetidas no LCE sob tratamento agudo com salina ou cetanserina (0,25 e 0,5 mg/Kg). EBA = número de entradas nos braços abertos; EBF = número de entradas nos braços fechados; %EBA = porcentagem de entradas nos braços abertos; %TBA = porcentagem de tempo nos braços abertos.

SALINA	EBA	EBF	%EBA	%TBA
Rato 1	0	4	0	0
Rato 2	0	3	0	0
Rato 3	0	5	0	0
Rato 4	2	7	22,2	1,3
Rato 5	0	2	0	0
Rato 6	1	10	9,1	2,4
Rato 7	6	9	40,0	19,5
Rato 8	2	6	25,0	4,8
Rato 9	1	7	12,5	0,7
Rato 10	0	11	0	0
MÉDIA	1,2	6,4	10,9	2,9
EPM	0,59	0,95	4,44	1,91
CET 0,25	EBA	EBF	%EBA	%TBA
Rato 1	0	7	0	0
Rato 2	3	7	30,0	6,9
Rato 3	0	9	0	0
Rato 4	2	7	22,2	6,3
Rato 5	3	11	21,4	15,0
Rato 6	2	8	20,0	9,8
Rato 7	1	12	7,7	4,9
Rato 8	0	12	0	0
Rato 9	0	6	0	0
Rato 10	0	1	0	0
MÉDIA	1,1	8,0	10,1	4,3
EPM	0,41	1,04	3,78	1,66
CET 5,0	EBA	EBF	%EBA	%TBA
Rato 1	0	3	0	0
Rato 2	0	3	0	0
Rato 3	0	4	0	0
Rato 4	0	9	0	0
Rato 5	0	2	0	0
Rato 6	1	3	25,0	1,1
Rato 7	0	5	0	0
Rato 8	0	5	0	0
Rato 9	0	9	0	0
Rato 10	0	3	0	0
MÉDIA	0,1	4,6	2,5	0,1
EPM	0,10	0,79	2,50	0,40

Tabela 4 – Resultados individuais do comportamento exploratório (“medidas novas”) de ratos submetidos a sessões repetidas no LCE sob tratamento agudo com salina ou cetanserina (0,25 e 0,5 mg/Kg). EXP = exploração da extremidade aberta; ESQ = esquadrinhamento; MER = mergulho da cabeça; LEV = levantamento; ESP = espreitamento; EST = esticamento; RAS = rastejamento; LIM = autolimpeza.

SALINA	EXP	ESQ	MER	LEV	ESP	EST	RAS	LIM
Rato 1	0	19	0	8	4	2	3	1
Rato 2	0	17	3	7	3	1	2	1
Rato 3	0	17	1	15	4	2	1	2
Rato 4	0	20	2	7	5	10	0	6
Rato 5	0	13	3	4	4	0	1	3
Rato 6	1	35	7	20	3	6	1	2
Rato 7	3	30	5	10	4	4	4	4
Rato 8	2	12	2	5	0	2	1	1
Rato 9	0	18	2	5	4	3	6	4
Rato 10	0	25	0	11	9	5	3	5
MÉDIA	0,6	20,6	2,5	9,2	4,0	3,5	2,2	2,9
EPM	0,34	2,32	0,69	1,59	0,70	0,92	0,57	0,57
CET 0,25	EXP	ESQ	MER	LEV	ESP	EST	RAS	LIM
Rato 1	0	22	0	21	2	5	1	6
Rato 2	1	23	7	14	0	5	1	2
Rato 3	0	27	1	24	1	5	1	3
Rato 4	2	23	1	13	3	2	4	1
Rato 5	2	31	7	19	0	3	4	1
Rato 6	2	20	9	7	4	4	4	1
Rato 7	1	27	1	24	2	2	3	1
Rato 8	0	23	1	16	6	3	4	1
Rato 9	0	17	3	8	2	3	1	3
Rato 10	0	9	0	11	4	4	2	9
MÉDIA	0,8	22,2	3,0	15,7	2,4	3,6	2,5	2,8
EPM	0,29	1,92	1,06	1,96	0,60	0,37	0,45	0,85
CET 0,5	EXP	ESQ	MER	LEV	ESP	EST	RAS	LIM
Rato 1	0	10	0	7	0	3	0	4
Rato 2	0	5	0	2	1	1	0	2
Rato 3	0	16	1	10	2	5	2	1
Rato 4	0	22	1	11	1	6	2	1
Rato 5	0	12	2	4	3	4	0	0
Rato 6	0	13	2	5	4	1	3	8
Rato 7	0	16	2	12	3	2	1	3
Rato 8	0	11	1	6	0	3	3	3
Rato 9	0	28	0	35	2	0	2	6
Rato 10	0	10	0	8	1	1	3	2
MÉDIA	0	14,3	0,9	10,0	1,7	2,6	1,6	3,0
EPM	0	2,09	0,28	2,95	0,42	0,62	0,40	0,77

Tabela 5 – Resultados individuais do comportamento exploratório (“medidas tradicionais”) de ratos submetidos à sessão única no LCE sob tratamento subcrônico com salina ou fluoxetina (5,0 e 10,0 mg/Kg). EBA = número de entradas nos braços abertos; EBF = número de entradas nos braços fechados; %EBA = porcentagem de entradas nos braços abertos; %TBA = porcentagem de tempo nos braços abertos.

SALINA	EBA	EBF	%EBA	%TBA
Rato 1	3	9	25,0	10,5
Rato 2	4	9	30,8	11,2
Rato 3	1	4	20,0	1,5
Rato 4	0	9	0	0
Rato 5	4	6	40,0	17,6
Rato 6	4	8	33,3	13,6
Rato 7	3	8	27,3	12,9
Rato 8	5	7	41,7	16,5
Rato 9	4	10	28,6	20,5
Rato 10	0	3	0	0
MÉDIA	2,8	7,3	24,7	10,4
EPM	0,57	0,73	4,59	2,37
FLU 5,0	EBA	EBF	%EBA	%TBA
Rato 1	1	4	20,0	4,6
Rato 2	0	3	0	0
Rato 3	0	1	0	0
Rato 4	1	5	16,7	3,5
Rato 5	3	10	23,1	7,6
Rato 6	2	4	33,3	7,4
Rato 7	4	7	36,4	19,4
Rato 8	0	3	0	0
Rato 9	3	6	33,3	10,2
Rato 10	4	7	36,4	9,1
MÉDIA	1,8	5,0	19,9	6,2
EPM	0,51	0,82	4,84	1,91
FLU 10,0	EBA	EBF	%EBA	%TBA
Rato 1	1	3	25,0	4,4
Rato 2	3	8	27,3	14,2
Rato 3	2	6	25,0	13,9
Rato 4	0	1	0	0
Rato 5	0	3	0	0
Rato 6	2	6	25,0	8,8
Rato 7	3	5	37,5	8,7
Rato 8	2	6	25,0	10,1
Rato 9	4	6	40,0	14,1
Rato 10	7	11	38,9	23,1
MÉDIA	2,4	5,5	24,4	9,7
EPM	0,65	0,89	4,50	2,25

Tabela 6 – Resultados individuais do comportamento exploratório (“medidas novas”) de ratos submetidos à sessão única no LCE sob tratamento subcrônico com salina ou fluoxetina (5,0 e 10,0 mg/Kg). EXP = exploração da extremidade aberta; ESQ = esquadrinamento; MER = mergulho da cabeça; LEV = levantamento; ESP = espreitamento; EST = esticamento; RAS = rastejamento; LIM = autolimpeza.

SALINA	EXP	ESQ	MER	LEV	ESP	EST	RAS	LIM
Rato 1	2	0	13	13	3	0	0	2
Rato 2	2	1	13	15	1	1	4	3
Rato 3	0	3	4	16	4	3	1	4
Rato 4	0	5	7	16	5	5	1	3
Rato 5	1	1	13	11	2	1	1	4
Rato 6	4	1	16	11	3	1	2	5
Rato 7	3	3	15	18	5	3	3	1
Rato 8	4	4	13	12	6	4	1	1
Rato 9	4	1	10	13	0	1	1	2
Rato 10	0	5	1	8	5	5	3	4
MÉDIA	2,0	2,4	10,5	13,3	3,4	2,4	1,7	2,9
EPM	0,54	0,58	1,57	0,94	0,62	0,58	0,40	0,43
FLU 5,0	EXP	ESQ	MER	LEV	ESP	EST	RAS	LIM
Rato 1	1	22	7	8	3	3	0	3
Rato 2	0	16	0	9	1	3	0	2
Rato 3	0	8	0	3	0	2	0	3
Rato 4	0	20	5	5	3	5	0	4
Rato 5	2	30	12	11	4	1	1	3
Rato 6	1	31	8	15	1	6	2	4
Rato 7	2	29	11	9	3	4	3	2
Rato 8	0	21	7	8	4	5	1	3
Rato 9	2	29	10	14	2	2	1	4
Rato 10	3	31	12	14	2	7	1	2
MÉDIA	1,1	23,7	7,2	9,6	2,3	3,8	0,9	3,0
EPM	0,35	2,43	1,40	1,25	0,42	0,61	0,31	0,26
FLU 10,0	EXP	ESQ	MER	LEV	ESP	EST	RAS	LIM
Rato 1	0	23	10	10	5	4	3	1
Rato 2	2	35	15	12	4	4	1	1
Rato 3	2	27	11	6	4	5	0	2
Rato 4	0	11	1	3	3	2	0	0
Rato 5	0	13	2	6	2	5	2	2
Rato 6	1	27	8	5	3	7	2	5
Rato 7	2	22	10	6	3	1	1	2
Rato 8	1	37	12	12	6	6	2	3
Rato 9	4	27	15	4	8	2	1	2
Rato 10	5	44	25	15	1	2	0	1
MÉDIA	1,7	26,6	10,9	7,9	3,9	3,8	1,2	1,9
EPM	0,54	3,24	2,16	1,28	0,64	0,63	0,33	0,43

Tabela 7 – Resultados individuais do comportamento exploratório (“medidas tradicionais”) de ratos submetidos a sessões repetidas no LCE sob tratamento subcrônico com salina ou fluoxetina (5,0 e 10,0 mg/Kg). EBA = número de entradas nos braços abertos; EBF = número de entradas nos braços fechados; %EBA = porcentagem de entradas nos braços abertos; %TBA = porcentagem de tempo nos braços abertos.

SALINA	EBA	EBF	%EBA	%TBA
Rato 1	0	3	0	0
Rato 2	0	9	0	0
Rato 3	3	11	21,4	4,9
Rato 4	0	3	0	0
Rato 5	2	11	15,4	10,4
Rato 6	0	9	0	0
Rato 7	0	5	0	0
Rato 8	1	7	12,5	1,4
Rato 9	0	9	0	0
Rato 10	0	8	0	0
MÉDIA	0,6	7,5	4,9	1,7
EPM	0,34	0,93	2,60	1,09
FLU 5,0	EBA	EBF	%EBA	%TBA
Rato 1	0	3	0	0
Rato 2	0	2	0	0
Rato 3	0	6	0	0
Rato 4	1	7	12,5	2,5
Rato 5	0	1	0	0
Rato 6	1	1	50,0	7,8
Rato 7	0	1	0	0
Rato 8	1	3	25,0	1,9
Rato 9	0	7	0	0
Rato 10	0	7	0	0
MÉDIA	0,3	3,8	8,8	1,2
EPM	0,15	0,84	5,29	0,79
FLU 10,0	EBA	EBF	%EBA	%TBA
Rato 1	0	9	0	0
Rato 2	0	4	0	0
Rato 3	0	1	0	0
Rato 4	1	6	14,3	0,2
Rato 5	0	1	0	0
Rato 6	0	5	0	0
Rato 7	0	4	0	0
Rato 8	0	2	0	0
Rato 9	2	4	33,3	6,2
Rato 10	2	3	40,0	6,6
MÉDIA	0,5	3,9	8,8	1,3
EPM	0,27	0,77	4,88	0,85

Tabela 8 – Resultados individuais do comportamento exploratório (“medidas novas”) de ratos submetidos a sessões repetidas no LCE sob tratamento subcrônico com salina ou fluoxetina (5,0 e 10,0 mg/Kg). EXP = exploração da extremidade aberta; ESQ = esquadrinamento; MER = mergulho da cabeça; LEV = levantamento; ESP = espreitamento; EST = esticamento; RAS = rastejamento; LIM = autolimpeza.

SALINA	EXP	ESQ	MER	LEV	ESP	EST	RAS	LIM
Rato 1	0	8	0	3	2	0	0	1
Rato 2	0	13	2	10	7	5	1	3
Rato 3	1	21	2	15	5	5	2	3
Rato 4	0	6	0	4	0	0	1	2
Rato 5	3	24	7	14	6	10	5	2
Rato 6	0	13	0	10	8	4	0	1
Rato 7	0	14	1	16	6	4	1	3
Rato 8	0	22	1	15	3	5	2	3
Rato 9	0	23	3	10	7	8	1	3
Rato 10	0	10	0	14	3	4	1	4
MÉDIA	0,4	15,4	1,6	11,1	4,7	4,5	1,4	2,5
EPM	0,31	2,09	0,69	1,46	0,82	0,97	0,45	0,31
FLU 5,0	EXP	ESQ	MER	LEV	ESP	EST	RAS	LIM
Rato 1	0	8	0	6	0	0	1	3
Rato 2	0	18	3	7	1	5	2	7
Rato 3	0	17	1	6	3	4	3	4
Rato 4	1	20	4	5	2	8	3	4
Rato 5	0	6	0	4	1	0	0	4
Rato 6	1	13	6	6	0	0	0	2
Rato 7	0	11	0	5	0	1	1	5
Rato 8	1	18	0	11	6	1	1	4
Rato 9	0	18	3	9	6	8	6	2
Rato 10	0	22	1	11	3	7	1	4
MÉDIA	0,3	15,1	1,8	7,0	2,2	3,4	1,8	3,9
EPM	0,15	1,68	0,66	0,79	0,73	1,08	0,57	0,46
FLU 10,0	EXP	ESQ	MER	LEV	ESP	EST	RAS	LIM
Rato 1	0	20	1	8	2	10	2	4
Rato 2	0	11	1	3	1	4	0	1
Rato 3	0	10	0	6	1	3	1	5
Rato 4	0	17	3	11	0	6	1	6
Rato 5	0	5	0	0	4	2	2	0
Rato 6	0	22	7	9	5	6	1	2
Rato 7	0	11	2	6	7	2	3	5
Rato 8	0	10	0	6	2	2	2	7
Rato 9	2	22	3	10	10	3	5	6
Rato 10	0	12	2	7	4	2	3	3
MÉDIA	0,2	14,0	1,9	6,6	3,6	4,0	2,0	3,9
EPM	0,20	1,85	0,67	1,03	0,98	0,83	0,45	0,74

Tabela 9 – Resultados individuais do comportamento exploratório (“medidas tradicionais”) de ratos submetidos à sessão única no LCE sob tratamento subcrônico com salina ou desipramina (5,0 e 10,0 mg/Kg). EBA = número de entradas nos braços abertos; EBF = número de entradas nos braços fechados; %EBA = porcentagem de entradas nos braços abertos; %TBA = porcentagem de tempo nos braços abertos.

SALINA	EBA	EBF	%EBA	%TBA
Rato 1	3	9	25,0	10,5
Rato 2	4	9	30,8	11,2
Rato 3	1	4	20,0	1,5
Rato 4	0	9	0	0
Rato 5	4	6	40,0	17,6
Rato 6	4	8	33,3	13,6
Rato 7	3	8	27,3	12,9
Rato 8	5	7	41,7	16,5
Rato 9	4	10	28,6	20,5
Rato 10	0	3	0	0
MÉDIA	2,8	7,3	24,7	10,4
EPM	0,57	0,73	4,59	2,37
DES 5,0	EBA	EBF	%EBA	%TBA
Rato 1	3	4	42,9	12,1
Rato 2	1	2	33,3	3,3
Rato 3	4	8	33,3	12,5
Rato 4	0	1	0	0
Rato 5	2	5	28,6	8,1
Rato 6	5	8	38,5	26,9
Rato 7	0	4	0	0
Rato 8	1	6	14,3	3,8
Rato 9	3	7	30,0	20,0
Rato 10	2	5	28,6	7,6
MÉDIA	2,1	5,0	24,9	9,4
EPM	0,53	0,75	4,78	2,76
DES 10,0	EBA	EBF	%EBA	%TBA
Rato 1	3	6	33,3	12,3
Rato 2	4	6	40,0	18,8
Rato 3	3	5	37,5	17,6
Rato 4	1	5	16,7	4,5
Rato 5	3	6	33,3	12,5
Rato 6	2	1	66,7	14,1
Rato 7	0	3	0	0
Rato 8	2	6	25,0	6,5
Rato 9	4	5	44,4	20,5
Rato 10	3	6	33,3	15,4
MÉDIA	2,5	4,9	33,0	12,2
EPM	0,53	0,75	5,53	2,10

Tabela 10 – Resultados individuais do comportamento exploratório (“medidas novas”) de ratos submetidos à sessão única no LCE sob tratamento subcrônico com salina ou desipramina (5,0 e 10,0 mg/Kg). EXP = exploração da extremidade aberta; ESQ = esquadrinhamento; MER = mergulho da cabeça; LEV = levantamento; ESP = espreitamento; EST = esticamento; RAS = rastejamento; LIM = autolimpeza.

SALINA	EXP	ESQ	MER	LEV	ESP	EST	RAS	LIM
Rato 1	2	0	13	13	3	0	0	2
Rato 2	2	1	13	15	1	1	4	3
Rato 3	0	3	4	16	4	3	1	4
Rato 4	0	5	7	16	5	5	1	3
Rato 5	1	1	13	11	2	1	1	4
Rato 6	4	1	16	11	3	1	2	5
Rato 7	3	3	15	18	5	3	3	1
Rato 8	4	4	13	12	6	4	1	1
Rato 9	4	1	10	13	0	1	1	2
Rato 10	0	5	1	8	5	5	3	4
MÉDIA	2,0	2,4	10,5	13,3	3,4	2,4	1,7	2,9
EPM	0,54	0,58	1,57	0,94	0,62	0,58	0,40	0,43
DES 5,0	EXP	ESQ	MER	LEV	ESP	EST	RAS	LIM
Rato 1	2	23	9	6	5	3	1	4
Rato 2	0	17	3	6	3	2	4	2
Rato 3	1	30	13	11	0	4	2	2
Rato 4	0	8	1	1	0	0	1	2
Rato 5	1	26	9	9	5	4	1	2
Rato 6	4	35	17	14	6	0	2	2
Rato 7	0	20	4	11	2	2	2	1
Rato 8	0	26	4	9	6	4	1	1
Rato 9	2	30	7	12	3	5	2	2
Rato 10	0	18	7	6	2	1	3	0
MÉDIA	1,0	23,3	7,4	8,5	3,2	2,5	1,9	1,8
EPM	0,42	2,48	1,54	1,20	0,71	0,56	0,31	0,33
DES 10,0	EXP	ESQ	MER	LEV	ESP	EST	RAS	LIM
Rato 1	1	21	6	11	4	2	2	1
Rato 2	3	34	17	11	4	1	3	2
Rato 3	2	18	7	7	1	0	1	2
Rato 4	0	19	7	10	3	1	1	2
Rato 5	2	21	8	2	5	1	3	2
Rato 6	1	21	7	4	4	1	0	2
Rato 7	0	11	1	8	0	1	0	0
Rato 8	1	21	14	7	1	4	1	0
Rato 9	3	27	13	9	3	3	0	5
Rato 10	2	31	15	7	4	1	1	0
MÉDIA	1,5	22,4	9,5	7,6	2,9	1,5	1,2	1,6
EPM	0,34	2,10	1,58	0,92	0,53	0,37	0,36	0,48

Tabela 11 – Resultados individuais do comportamento exploratório (“medidas tradicionais”) de ratos submetidos a sessões repetidas no LCE sob tratamento subcrônico com salina ou desipramina (5,0 e 10,0 mg/Kg). EBA = número de entradas nos braços abertos; EBF = número de entradas nos braços fechados; %EBA = porcentagem de entradas nos braços abertos; %TBA = porcentagem de tempo nos braços abertos.

SALINA	EBA	EBF	%EBA	%TBA
Rato 1	0	3	0	0
Rato 2	0	9	0	0
Rato 3	3	11	21,4	4,9
Rato 4	0	3	0	0
Rato 5	2	11	15,4	10,4
Rato 6	0	9	0	0
Rato 7	0	5	0	0
Rato 8	1	7	12,5	1,4
Rato 9	0	9	0	0
Rato 10	0	8	0	0
MÉDIA	0,6	7,5	4,9	1,7
EPM	0,34	0,93	2,60	1,09
DES 5,0	EBA	EBF	%EBA	%TBA
Rato 1	0	1	0	0
Rato 2	0	3	0	0
Rato 3	2	5	28,6	4,4
Rato 4	0	1	0	0
Rato 5	0	1	0	0
Rato 6	0	3	0	0
Rato 7	1	1	50,0	2,6
Rato 8	2	5	28,6	6,7
Rato 9	0	5	0	0
Rato 10	1	12	7,7	3,2
MÉDIA	0,6	3,7	11,5	1,7
EPM	0,27	1,08	5,65	0,77
DES 10,0	EBA	EBF	%EBA	%TBA
Rato 1	0	1	0	0
Rato 2	2	3	40,0	7,6
Rato 3	0	5	0	0
Rato 4	0	5	0	0
Rato 5	0	3	0	0
Rato 6	0	6	0	0
Rato 7	2	8	20,0	5,9
Rato 8	1	5	16,7	2,4
Rato 9	0	1	0	0
Rato 10	0	3	0	0
MÉDIA	0,5	4,0	7,7	1,6
EPM	0,27	0,70	4,33	0,90

Tabela 12 – Resultados individuais do comportamento exploratório (“medidas novas”) de ratos submetidos a sessões repetidas no LCE sob tratamento subcrônico com salina ou desipramina (5,0 e 10,0 mg/Kg). EXP = exploração da extremidade aberta; ESQ = esquadrinamento; MER = mergulho da cabeça; LEV = levantamento; ESP = espreitamento; EST = esticamento; RAS = rastejamento; LIM = autolimpeza.

SALINA	EXP	ESQ	MER	LEV	ESP	EST	RAS	LIM
Rato 1	0	8	0	3	2	0	0	1
Rato 2	0	13	2	10	7	5	1	3
Rato 3	1	21	2	15	5	5	2	3
Rato 4	0	6	0	4	0	0	1	2
Rato 5	3	24	7	14	6	10	5	2
Rato 6	0	13	0	10	8	4	0	1
Rato 7	0	14	1	16	6	4	1	3
Rato 8	0	22	1	15	3	5	2	3
Rato 9	0	23	3	10	7	8	1	3
Rato 10	0	10	0	14	3	4	1	4
MÉDIA	0,4	15,4	1,6	11,1	4,7	4,5	1,4	2,5
EPM	0,31	2,09	0,69	1,46	0,82	0,97	0,45	0,31
DES 5,0	EXP	ESQ	MER	LEV	ESP	EST	RAS	LIM
Rato 1	0	13	0	6	1	3	1	2
Rato 2	0	11	2	13	0	1	0	6
Rato 3	1	12	3	6	2	1	4	2
Rato 4	0	8	0	6	0	2	0	1
Rato 5	0	4	0	1	0	0	0	1
Rato 6	0	9	0	6	0	1	0	2
Rato 7	0	5	2	2	1	1	0	1
Rato 8	2	22	4	9	1	3	4	1
Rato 9	0	12	4	9	0	1	1	1
Rato 10	0	23	5	13	6	5	4	1
MÉDIA	0,3	11,9	2,0	7,1	1,1	1,8	1,4	1,8
EPM	0,21	2,00	0,61	1,27	0,59	0,47	0,58	0,49
DES 10,0	EXP	ESQ	MER	LEV	ESP	EST	RAS	LIM
Rato 1	0	10	0	5	1	0	0	5
Rato 2	2	10	4	3	1	0	0	0
Rato 3	0	20	2	7	4	6	0	1
Rato 4	0	19	2	6	6	4	1	3
Rato 5	0	14	0	5	0	5	0	0
Rato 6	0	17	1	9	2	6	3	0
Rato 7	0	19	6	10	4	3	2	0
Rato 8	1	24	5	15	3	4	3	1
Rato 9	0	8	0	5	1	4	2	2
Rato 10	0	8	0	11	1	0	1	1
MÉDIA	0,3	14,9	2,0	7,6	2,3	3,2	1,2	1,3
EPM	0,21	1,80	0,71	1,15	0,60	0,76	0,39	0,52

Tabela 13 – Concentrações plasmáticas de corticosterona individuais de ratos tratados com salina e expostos (T-1) ou não (C-0) ao LCE.

SUJEITOS	C-0	T-1
Rato 1	247,7	161,3
Rato 2	76,0	157,4
Rato 3	207,7	355,0
Rato 4	84,6	289,1
Rato 5	128,1	194,8
Rato 6	95,4	367,3
Rato 7	-	216,1
Rato 8	-	437,9
MÉDIA	139,9	272,4
EPM	25,24	37,38

Tabela 14 – Concentrações plasmáticas de corticosterona individuais de ratos tratados com salina e reexpostos (T-2) ou não (C-1) ao LCE.

SUJEITOS	C-1	T-2
Rato 1	208,5	361,1
Rato 2	154,1	236,8
Rato 3	213,0	238,6
Rato 4	210,7	180,9
Rato 5	162,4	388,5
Rato 6	81,4	299,7
Rato 7	-	355,0
Rato 8	-	352,0
MÉDIA	171,7	301,6
EPM	18,11	26,46

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)