

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

***“Participação de receptores serotoninérgicos do tipo 1A da área
septal lateral na tarefa de esquivas inibitória do modelo do labirinto
em T elevado”***

Gustavo Massaro Onusic

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

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

***“Participação de receptores serotoninérgicos do tipo 1A da área
septal lateral na tarefa de esquivas inibitória do modelo do labirinto
em T elevado”***

Gustavo Massaro Onusic

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

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Milena de Barros Viana

Ribeirão Preto

- 2006 -

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

FICHA CATALOGRÁFICA

Preparada pela Biblioteca Central do Campus Administrativo de
Ribeirão Preto/USP

Onusic, Gustavo Massaro

Participação de receptores serotoninérgicos do tipo 1A da área septal lateral na tarefa de esquivamento inibitória do modelo do labirinto em T elevado.

Ribeirão Preto, 2006.

69 p. : il. ; 30cm

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

Orientadora: Viana, Milena de Barros.

1. Ansiedade. 2. Área septal lateral. 3. labirinto em T elevado.

FOLHA DE APROVAÇÃO

Gustavo Massaro Onusic

Participação de receptores serotoninérgicos do tipo 1A da área septal lateral na tarefa de esquivar inibitória do modelo do labirinto em T elevado.

Dissertação apresentada à Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto – USP, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Ciências.

Área de Concentração: Psicobiologia.

Aprovado em:/...../.....

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

DEDICATÓRIA

Dedico esta conquista

Aos meus queridos pais **José** e **Rute** pelo amor, carinho, dedicação, compreensão e, principalmente pelo apoio nesta jornada de formação pessoal e acadêmica, sempre acreditando em meu potencial.

Aos meus irmãos *Luciana (Tia Lu)*, *Daniel (Alemão)* e *Alexandre (Tare)* pela presença carinhosa em todos estes anos de risos, choros, lutas e superações.

AGRADECIMENTOS

AGRADECIMENTOS

À Professora Dr^a. *Milena de Barros Viana*, por sua dedicação e excelente orientação em todos estes anos, sempre disposta a ensinar. Aceitou-me como aluno de Iniciação Científica, quando ainda pouco sabia sobre o funcionamento de um laboratório e ao longo dos anos aprendi muito, e o resultado deste trabalho em conjunto resultou nesta dissertação. Tenho muita admiração pela profissional que é, todo o respeito do mundo e é com muito carinho que agradeço por tudo.

Ao Professor Dr. *Hélio Zangrossi Júnior* por sua dedicação, atenção e disponibilidade em, juntamente com a Professora Milena, auxiliar no desenvolvimento deste trabalho.

Ao Professor Dr. *Marcus Lira Brandão* por sua atenção e sugestões imprescindíveis para o desenvolvimento destes estudos.

À Professora Dr^a. *Juliana Setem Carvalho Tucci* pelo apoio e incentivo ainda durante a graduação, o que muito me motivou a seguir carreira acadêmica. Além disso, é uma excelente docente.

À Professora Dr^a. *Cláudia Padovan*, que há pouco tempo chegou neste laboratório e já cativou todos com seu jeito responsável e amigo. Muito tem me ajudado no término deste trabalho, aceitando que continuasse meu trabalho acadêmico em seu laboratório. Meu muito obrigado, com muito carinho, respeito e admiração.

À *Professora Dr^a. Soraya Maria Romano Pacífico*, com quem tive oportunidade de ser aluno e estagiário PAE. Uma excelente profissional e uma pessoa magnífica.

Ao *Professor Dr. Francisco Silveira Guimarães*, por me acolher em seu laboratório quando precisei aprender técnicas que auxiliassem meu trabalho.

Ao *Afonso*, pela boa vontade e prontidão em ajudar em vários momentos deste trabalho.

Ao *José Carlos*, por sua paciência e dedicação em passar dias e dias me ensinado cirurgia estereotáxica.

Ao *Paulinho*, por nos ajudar a cuidar do laboratório.

À *Renata B. Vicentine*, por sua sempre paciência, amizade e orientação durante todo o percurso deste trabalho.

À *Ana Carolina (Karola)*, por sua presença em minha vida, além de toda ajuda dedicação e carinho, sua imensurável compreensão por minhas constantes alterações de humor durante a redação desta dissertação.

Às minhas grandes amigas de laboratório *Selma* e *Cíntia*, que além de estarem sempre presentes compartilhando os momentos alegres regados à cerveja

e também os dias difíceis, me ajudaram a crescer como pessoa e como profissional. Auxiliaram-me com artigos, computador, e leram incansavelmente meus relatórios. Sem vocês, este trabalho de mestrado e esta dissertação teriam sido ainda mais difíceis. Meu muito obrigado, e minha sincera admiração.

Aos antigos amigos de laboratório *Tatá, Lígia, Luiz, Ana Catarina, Mônica e Karina*. Mesmo não estando mais presentes aqui, posso dizer que aprendi muito com vocês e os levo em meu coração.

Aos amigos e companheiros, *Val, Tati, Chris, Roger, Leandro, Daniela* que sempre de boa vontade me ajudaram neste trabalho.

À *Vanessa*, por seu bom humor e incansável boa vontade em ver minhas lâminas freqüentemente. Obrigado pela atenção e pelo carinho nestes dois longos anos.

Aos novos companheiros e amigos de laboratório *Paulo e Diego*, que já estão compartilhando suas habilidades e dificuldades. Já são parte importante deste laboratório.

Ao meu amigo e conterrâneo *Carlim*, por todos estes anos de amizade, sempre me motivando nesta jornada acadêmica. Por “nossos dias de bares, nossos dias de luta”. E a nossa amiga em comum *Srta. Lady Lu*, pessoa maravilhosa que compartilhou conosco muitos bons momentos.

Também grande amiga e “conterrânea”, não poderia nunca esquecer de você Evelyn, pois tantas vezes demos forças um ao outro...Divertimos-nos outras tantas vezes mais, e apesar da distância física, sei que estamos ligados, um no coração do outro, e que com você sempre poderei contar.

À E-Norme Família que formamos aqui com os amigos *Caco, Denise, Deise, Daniel, Michela, Rayla, Ju, Carol, Rabo, Dudu, Tâmara, Biba, Giovanna, Paula, Laura, Graminha, Bi (Ricardo), Marina Cilli, Lu (psico), Lucas, o Rafa, Alcídia e Vivian*, cuidando uns dos outros. Estarão sempre em meu coração.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo suporte financeiro.

“Mas, em verdade, somos nós, os brancos ricos e altamente educados, que ostentamos a nudez de nossas costas. Cobrimos nossa paradisíaca aparência anterior com alguma filosofia – cristã, marxista, físico-freudiana – mas nos descuramos da outra face, deixando-a à mercê de todos os ventos que possam soprar. O pobre índio, por outro lado, se tem valido do espírito para proteger-lhe a retaguarda, complementando a folha de parreira teológica com a tanga da experiência transcendental”.

(Aldous Huxley)

RESUMO

ONUSIC, Gustavo Massaro. **Participação de receptores serotoninérgicos do tipo 1A da área septal lateral na tarefa de esquiva inibitória do modelo do labirinto em T elevado.** 65 p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, 2006.

RESUMO

Nos últimos anos, diversas estruturas do Sistema Nervoso Central (SNC) têm sido relacionadas à modulação de respostas comportamentais de defesa e aos processos emocionais que as acompanham, como o medo e a ansiedade. Dentre as mais investigadas destacam-se o sistema septo-hipocampal (SH), a amígdala (AM), o hipotálamo medial (HM), o núcleo dorsal da rafe (NDR) e a substância cinzenta periaquedutal dorsal (SCPD). Além das estruturas cerebrais mencionadas, o envolvimento de diferentes sistemas neuroquímicos na gênese de respostas comportamentais e fisiológicas a estímulos aversivos também tem sido investigado. Nesse sentido, a serotonina (5-HT) tem recebido grande atenção, devido à eficácia clínica de drogas serotoninérgicas no tratamento de alguns subtipos de ansiedade, como o distúrbio do pânico (DP) e o distúrbio de ansiedade generalizada (DAG). Um dos modelos animais de ansiedade que vem sendo bastante utilizado para a investigação das bases neurobiológicas da ansiedade é o labirinto em T elevado (LTE). Nesse modelo os animais são expostos a um labirinto constituído por dois braços abertos dispostos perpendicularmente a um braço fechado (circundados por paredes laterais). No LTE, são avaliados dois tipos de respostas comportamentais de defesa: a fuga de um dos braços abertos e a esquiva inibitória dos braços abertos do modelo. Essas duas respostas têm sido relacionadas, respectivamente, ao DP e DAG. No modelo do LTE, o papel de estruturas como a AM, o HM e a SCPD tem sido extensamente investigado, assim como o papel da neurotransmissão mediada por 5-HT. Entretanto, embora o SH esteja implicado na gênese da ansiedade, pouco ainda se sabe sobre a modulação serotoninérgica intra-SH sobre as respostas comportamentais de fuga e esquiva avaliadas no modelo. O objetivo desse trabalho foi investigar o papel da neurotransmissão mediada por receptores serotoninérgicos do tipo 1A intra-septo lateral (SL) sobre as respostas comportamentais emitidas por ratos submetidos ao LTE. Para tanto, ratos eram implantados bilateralmente com cânulas e microinjetados com o agonista 5-HT_{1A} 8-OH-DPAT ou salina. Dez minutos após as administrações da droga ou veículo eram submetidos ao LTE. Para fins de

comparação, um grupo de animais foi tratado intra-SL com o benzodiazepínico midazolam, tendo em vista que em outros modelos animais de ansiedade resultados ansiolíticos têm sido obtidos com a administração da droga na estrutura investigada. Adicionalmente, o presente estudo avaliou se a administração intra-SL do antagonista serotoninérgico do tipo 1A, WAY-100635, era capaz de bloquear os efeitos obtidos previamente com o 8-OH-DPAT. Para evitar falsos-positivos ou negativos, os animais foram também expostos a uma arena, imediatamente após os testes com o LTE, para a medida da atividade locomotora. Os resultados demonstraram que a administração bilateral intra-SL de midazolam diminuiu as latências da tarefa de esquiva inibitória do LTE, efeito ansiolítico, sem alterar a fuga. Contrariamente ao observado com o midazolam, o 8-OH-DPAT facilitou as respostas de esquiva inibitória dos braços abertos do LTE (efeito ansiogênico), sem, novamente, alterar a fuga. Além disso, a administração bilateral intra-septo lateral do antagonista de receptores do tipo 1A, WAY-100635, foi capaz de bloquear os efeitos ansiogênicos previamente induzidos pelo 8-OH-DPAT na tarefa de esquiva inibitória. Estes resultados, em conjunto, reforçam a implicação dos receptores 5-HT do tipo 1A, da área septal lateral, na modulação de uma resposta comportamental de defesa específica, clinicamente relacionada ao DAG: a esquiva inibitória dos braços abertos do LTE. É possível afirmar também que os resultados obtidos independem de um efeito das drogas sobre a atividade locomotora dos animais, uma vez que não foram observadas alterações nas medidas realizadas na arena com nenhuma das três drogas administradas intra-SL.

Palavras-chaves: ansiedade, septo lateral, receptores 5-HT_{1A}, modelo do LTE.

ABSTRACT

ONUSIC, Gustavo Massaro. ***Role of serotonin 1A receptors of the lateral septum in the inhibitory avoidance task of the elevated T-maze.*** 65 p. Dissertação (master degree) – Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, 2006.

ABSTRACT

In the last few years, different neural structures have been related to the modulation of anxiety-related responses. Among these are the septum-hippocampus system (S-H), the amygdala (AM), the medial hypothalamus (HM), the dorsal raphe nucleus, and the periaqueductal grey matter (PAG). The implication of different neurotransmitter systems in the physiopathology of anxiety has also been investigated. With this respect, the role played by serotonin (5-HT) in anxiety has been related to the effectiveness of serotonergic drugs in the clinical treatment of different subtypes of anxiety disorders, i.e panic (PD) and generalized anxiety disorder (GAD). In the past years, an animal model of anxiety, the elevated T maze (ETM), aimed at separating two types of behavioral defensive responses in the same rat has been developed. The model possesses two open arms disposed perpendicularly to one enclosed arm and allows the measurement in the same animal of two different behavioral responses, i.e escape from one of the open arms of the maze and inhibitory avoidance of the open arms. In clinical terms, these responses have been related to PD and DAG, respectively. In the ETM, the role played by serotonin modulation in the AM, the HM and the SCPD has been extensively investigated. However, even though the SH is implicated in the genesis of anxiety, little is known about the role of this structure - and of the importance of the modulation played by serotonin in the SH - in the behavioral responses evaluated in the LTE. Taking that into account, the aim of our work was to investigate the role of the lateral septal (LS) serotonergic neurotransmission mediated by 5-HT_{1A} receptors in animals exposed to the ETM. Rats with bilateral cannula aimed to the LS received an intracerebral injection of saline or 8-OH-DPAT (5-HT_{1A} agonist) and ten minutes later were submitted to the ETM. Since intra-LS injection of midazolam (MDZ, benzodiazepinic) has proved to be anxiolytic in other animal models of anxiety, we included a third group of animals which received an intra-LS injection of MDZ and were submitted to the LTE. In addition, we also investigated if the intra-LS injection of the 5-HT_{1A} receptor antagonist, WAY 100635, was able to block the effects

previously obtained with 8-OH-DPAT. Also, to discard false-positives and negatives immediately after being tested in the ETM animals were exposed to a square arena for locomotor activity measurement. Our results showed that intra-LS bilateral administration of MDZ decreased inhibitory avoidance latencies in the ETM, an anxiolytic effect, without altering escape behavior. Contrarily to the observed with MDZ, 8-OH-DPAT facilitated inhibitory avoidance responses from the open arms of the ETM (anxiogenic effect) without altering escape behavior. Furthermore, bilateral intra-LS administration of WAY 100635 was able to block the previous anxiogenic effects induced by 8-OH-DPAT in the inhibitory avoidance task. Taken together, these results strengthen the role of LS 5-HT_{1A} receptors in the modulation of a specific behavioral defense response clinically related to GAD: the inhibitory avoidance from the open arms of the ETM. It is also possible to affirm that these results do not depend of an effect of the drugs administered intra-LS in locomotor behavior, since no changes were detected in the arena.

Keywords: anxiety, lateral septum, 5-HT_{1A} receptors, ETM model.

SUMÁRIO

SUMÁRIO

Resumo	i
Abstract	iii
1. Introdução	01
1.1. Ansiedade: Conceito.....	01
1. 2. Histórico.....	01
1. 3. Conceito de Normal e Patológico	03
1.4. Classificação.....	04
1.4.1. Distúrbio de Ansiedade Generalizada.....	09
1.4.2. Distúrbio de Pânico	10
1.5. Aspectos Comportamentais e Neuroanatômicos da Ansiedade	11
1.6. Neuroquímica da Ansiedade	13
1.7. Modelos Experimentais de Ansiedade.....	16
1.8. Área Septal: Neuroanatomia e Neuroquímica	18
1.9. A Área Septal e a Ansiedade.....	20
2. Objetivos	24
3. Material e Métodos.....	26
3.1 Animais	26
3.2. Drogas	26
3.3. Aparatos	26
3.3.1. Labirinto em T Elevado	26
3.3.2. Arena	27
3.4. Procedimentos.....	28
3.4.1. Cirurgia Estereotáxica	28

3.4.2. Habituação.....	29
3.4.3. Pré-Exposição forçada a um dos Braços Abertos do Modelo do Labirinto em T Elevado	29
3.4.4. Testes Comportamentais	30
3.5. Perfusão	32
3.6. Histologia.....	33
3.7. Análise Estatística	33
4. Resultados	34
4.1. Experimento 1.....	34
4.2. Experimento 2.....	39
4.3. Experimento 3.....	44
5. Discussão	49
6. Referências Bibliográficas	54

LISTA DE ABREVIATURAS

LISTA DE ABREVIATURAS

ACTH: hormônio adrenocoticotrópico

5-HT: 5 hidroxitriptamina, serotonina

AM: amígdala

BZDs: benzodiazepínicos

CA: Cornos de Ammon

DZP: diazepam

DAG: distúrbio de ansiedade generalizada

DP: distúrbio do pânico

EPM: erro padrão médio

GABA: ácido gama-aminobutírico

HM: hipotálamo medial

LCE: labirinto em cruz elevado

LTE: labirinto em T elevado

MDZ: midazolam

NDR: núcleo dorsal da rafe

SCA: sistema cerebral aversivo

SCPD: substância cinzenta periaquedutal dorsal

SNC: sistema nervoso central

SH: sistema septo-hipocampal

SL: septo lateral

SIC: sistema de inibição comportamental

LISTA DE TABELAS

LISTA DE TABELAS

TABELA 1: Classificação dos transtornos ansiosos segundo a CID-10	06
TABELA 2: Classificação dos transtornos ansiosos segundo o DSM-IV ^{TR}	07
TABELA 3: Níveis de defesa, substrato neural, emoção relacionada	13

LISTA FIGURAS

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1: Relação entre ansiedade normal e patológica.....	04
FIGURA 2: Vias serotoninérgicas ascendentes provindas do NDR.....	16
FIGURA 3: Labirinto em T elevado	27
FIGURA 4: Arena	27
FIGURA 5: Cirurgia estereotáxica	29
FIGURA 6: Pré-exposição forçada	30
FIGURA 7: Representação gráfica dos sítios de microinjeção de MDZ.....	35
FIGURA 8: Efeito da administração intra-septo lateral de MDZ no LTE	36
FIGURA 9: Efeito da administração intra-septo lateral de MDZ na arena	38
FIGURA 10: Representação gráfica dos sítios de microinjeção de 8-OH-DPAT	40
FIGURA 11: Efeito da administração intra-septo lateral de 8-OH-DPAT no LTE	41
FIGURA 12: Efeito da administração intra-septo lateral de 8-OH-DPAT na arena..	43
FIGURA 13: Representação gráfica dos sítios de microinjeção de 8-OH-DPAT ou WAY-100635	45
FIGURA 14: Efeito da administração intra-septo lateral de WAY-100635 previamente à administração de 8-OH-DPAT no LTE.....	46
FIGURA 15: Efeito da administração intra-septo lateral de WAY-100635 previamente à administração de 8-OH-DPAT na arena	48

INTRODUÇÃO

1 – INTRODUÇÃO

1.1. Ansiedade: Conceito

A ansiedade pode ser caracterizada por um conjunto de manifestações físicas e psíquicas que tanto podem ser experimentadas por indivíduos sadios, como acompanhar ou caracterizar enfermidades, sendo qualificada subjetivamente como um estado emocional desagradável, acompanhado por sentimentos de apreensão, insegurança e um conjunto de alterações comportamentais, neurovegetativas e hormonais (Nutt, 1990). Do ponto de vista comportamental, o indivíduo pode apresentar temores exagerados, irritabilidade e inquietação, conjuntamente com dificuldades de concentração e perturbações do sono. Correlatos neurovegetativos da ansiedade incluem hiperatividade autonômica, aumento da tensão muscular e hiperventilação. Em se tratando das alterações hormonais, tem sido observado aumento dos níveis do hormônio adrenocoticotrópico (ACTH) no sangue, resultando na liberação de corticóides adrenais, bem como em aumentos na liberação de prolactina e hormônio do crescimento (Graeff, 1990).

1.2. Histórico

A palavra ansiedade é derivada do termo grego *Anshein*, que significa estrangular, oprimir, sufocar, termos que se referem às sensações somáticas vivenciadas pelo indivíduo durante o estado de ansiedade (Graeff e Brandão, 1999). Do latim, duas palavras deram origem às palavras ansiedade e angústia, respectivamente: “*anxietas*” e “*angor*” (Gentil, Lotufo e Bernik, 1997). A palavra pânico deriva-se de *Pan*, Deus grego, conhecido por causar intenso temor por seu aspecto; e a palavra fobia, de *Phobos*, ser mitológico grego filho de *Ares*, considerado a personificação do medo (Grimal, 1993). Deste modo, tomados em

conjunto, todos esses termos têm em comum a intenção de descrever algumas das sensações psicológicas e fisiológicas que estão presentes em um estado de ansiedade, isto é, a inquietação, a sensação de falta de ar, a perturbação e o medo. Em Atenas, na Grécia antiga, teria sido erguido na Acrópole um templo ao deus *Pan*, ao lado da *Ágora*, praça do mercado onde se reunia a assembléia popular para discussão dos problemas da cidade, sendo daí derivado o termo agorafobia.

Embora sua experiência subjetiva fosse sempre associada a sintomas corporais, na Antiguidade, e durante a Idade Média, a ansiedade raramente era considerada uma doença. Em 1871, Da Costa, considerando principalmente a sintomatologia cardiovascular da ansiedade, denominou-a “síndrome do esforço” ou do “coração irritável” (Gentil et al., 1993). Poucos anos mais tarde, o psiquiatra norte-americano George M. Beard (1880) denominou “neurastenia” uma condição que englobava muitos dos atuais distúrbios de ansiedade (Graeff e Guimarães, 2000).

Com o surgimento do existencialismo, no século XX, a ansiedade passou a ser tratada como fonte de inspiração entre os filósofos. Segundo Kierkegaard (reeditado em 1984) “a angústia reforça o sentimento da existência, pois é no sofrimento, mais do que na alegria, que o homem percebe-se como consciência de si mesmo”. Para Heidegger, a angústia surge quando notamos além do cotidiano, a nossa existência ínfima no mundo (Frazão e Batista, 1999).

Gentil e colaboradores (1993) citam a distinção que Freud estabeleceu ainda no início do século XX, entre o conceito de “neurose de angústia” e “neurastenia”, enfatizando que os sintomas das neuroses seriam derivações da libido sexual para as esferas motora (agitação), intelectual (ruminações e obsessões) e afetiva (descargas ansiosas). Desta forma, em 1926, em sua obra *Inibição, Sintoma e*

Angústia, Freud definiu angústia “como um estado de desamparo psíquico do lactente que é contrapartida de seu estado de desamparo biológico”. Sobre a ansiedade disse: “o ato de nascer é a primeira experiência de ansiedade e, conseqüentemente, a fonte e o protótipo da emoção da ansiedade” (Freud, reeditado em 1970). Assim, Freud classificou a ansiedade em três subtipos conforme sua origem: ansiedade moral, ansiedade real e ansiedade neurótica. A ansiedade moral decorreria da censura do superego em relação ao comportamento manifesto ou latente do indivíduo. A ansiedade real resultaria da percepção antecipada de um perigo real e a ansiedade neurótica expressaria o medo ou a angústia da impossibilidade de evitar a expressão dos instintos, expressão esta causada por um ego impotente.

Mesmo sendo difícil diferenciar conceitualmente angústia de ansiedade, Salim (1987) caracterizou a ansiedade como um predomínio de sintomas psíquicos e a angústia como mais predominantemente somática, não se encontrando diferenças significativas entre as etiologias, quanto à bioquímica ou à terapêutica.

1.3. Conceito de Normal e Patológico

Ansiedade e medo são estados emocionais com alto valor adaptativo, manifestados em situações que representam ameaça à integridade física do organismo ou à sua sobrevivência. Para lidarem com os perigos a que são expostos, os animais emitem respostas defensivas desencadeadas pelo temor vivenciado em situações de perigo. A ansiedade e o medo podem ser encarados, portanto, como adaptativos, uma vez que existe uma relação direta entre seu nível de expressão e a eficiência no desempenho em determinada tarefa (Graeff e Guimarães, 2000).

Contudo, a partir de certo ponto, observa-se o comprometimento do comportamento devido a níveis muito elevados de ansiedade, o que assinala um prejuízo funcional nas atividades cotidianas. Neste caso, a ansiedade é caracterizada como psicopatologia (ver figura 1).

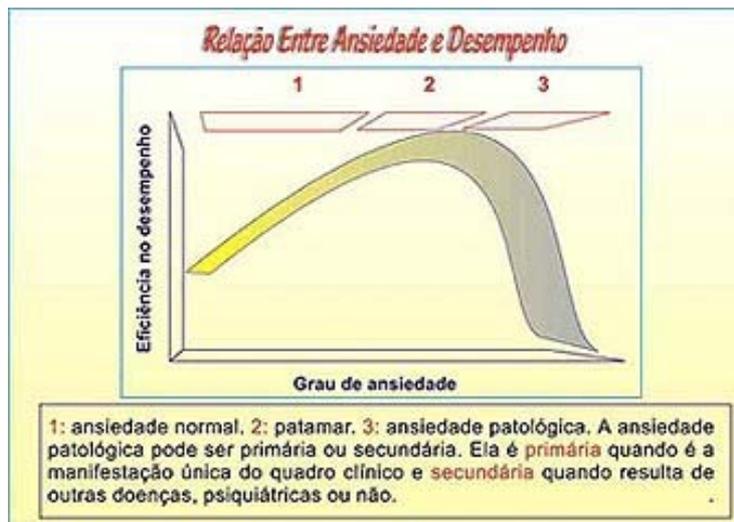


Figura 1. Relação entre ansiedade normal e patológica (retirado de Brandão, 2004).

1.4. Classificação

A ansiedade enquanto psicopatologia está associada freqüentemente, a diferentes eventos estressantes, podendo aparecer em decorrência do surgimento de doenças, do uso de medicamentos ou drogas, ou durante uma síndrome de abstinência dos mesmos. Nestes casos, ela surge como uma manifestação secundária a um determinado evento. Porém, a ansiedade pode ser também a manifestação primária de um quadro clínico, resultado assim, nos chamados distúrbios ou transtornos ansiosos (Gentil et al., 1993).

Objetivando tornar as classificações dos distúrbios de ansiedade mais claras, alguns critérios operacionais foram adotados pela Organização Mundial da Saúde (OMS) através do Código Internacional das Doenças (CID), hoje em sua 10ª edição, bem como, pela Associação Psiquiátrica Norte Americana (APA), através da criação dos Manuais de Diagnóstico e Estatística dos Distúrbios Mentais (DSM, derivação do título em inglês *Diagnostic Statistical Manual of Mental Disorder*). As categorias propostas pelo DSM-IV (publicado em 1994), passaram por uma revisão e foram atualizadas originando, assim, o DSM-IV^{TR}, publicado em 2000.

Na tabela 1, encontram-se esquematizadas as classificações da CID-10 para os distúrbios de ansiedade. Na tabela 2, encontram-se as classificações destes distúrbios segundo o DSM-IV^{TR}.

Tabela 1 – Classificação dos transtornos ansiosos segundo a CID-10.

Transtornos Fóbicos-ansiosos
Agorafobia (com e sem transtorno de pânico)
Fobias Sociais
Fobias Específicas (isoladas)
Outros Transtornos Fóbicos-Ansiosos
Transtorno Fóbico-ansioso, não especificado
Outros Transtornos de Ansiedade
Transtorno de Pânico
Transtorno de Ansiedade Generalizada
Transtorno Misto de Ansiedade e Depressão
Outros Transtornos de Ansiedade Especificados
Transtorno de Ansiedade, não especificado
Transtorno Obsessivo-Compulsivo
Predominantemente pensamentos obsessivos e ruminações
Predominantemente atos compulsivos
Pensamentos e atos obsessivos mistos
Outros Transtornos obsessivos-compulsivos
Transtorno obsessivo-compulsivo não especificado
Reação a estresse grave
Reação aguda a estresse
Transtorno de estresse pós-traumático
Transtornos de ajustamento

(retirado de Gentil, Lotufo-Neto e Bernick, 1997)

Tabela 2 - Classificação dos transtornos ansiosos segundo o DSM-IV^{TR}.

Transtorno de pânico sem agorafobia

Transtorno de pânico com agorafobia

Agorafobia sem história de transtorno de pânico

Fobia específica

Fobia social

Transtorno obsessivo-compulsivo

Transtorno de estresse pós-traumático

Transtorno de estresse agudo

Transtorno ansioso generalizado

Transtorno ansioso devido a uma condição médica

Ansiedade devido ao uso de substância

Transtorno ansioso não especificado

(retirado do DSM-IV^{TR}, 2000)

Em se tratando dos distúrbios de ansiedade, os de maior prevalência na população são o distúrbio de ansiedade generalizada (DAG), o distúrbio do pânico (DP), que serão discutidos mais detalhadamente nos próximos tópicos, a fobia específica, a fobia social e o distúrbio obsessivo-compulsivo.

Segundo o DSM-IV^{TR}, as fobias específicas são caracterizadas pelo medo acentuado e persistente de objetos ou situações claramente discerníveis e circunscritos, sendo que a exposição ao estímulo fóbico provoca, quase que invariavelmente, imediata resposta de ansiedade. Deste modo, este estímulo fóbico passa a ser evitado. O diagnóstico é apropriado apenas se a esquiva, o medo ou a antecipação ansiosa do encontro com o estímulo fóbico interferem significativamente na rotina diária, funcionamento ocupacional ou vida social do indivíduo, ou se ele

sofre acentuadamente por ter a fobia. Ainda que tenham alta prevalência na população (até 9%), geralmente estas fobias não atrapalham a vida social e cotidiana do indivíduo (APA, 2000).

Por outro lado, a fobia social, ao contrário das fobias específicas, geralmente causa grande prejuízo à vida social do indivíduo. No entanto, sua prevalência na população, é menor, cerca de 3%. De acordo com o DSM-IV^{TR}, a principal característica é um medo acentuado e persistente de situações sociais ou de desempenho, nas quais o indivíduo poderia sentir embaraço e sua exposição a tais eventos provoca quase que imediatamente uma resposta de ansiedade (APA, 2000).

O distúrbio obsessivo-compulsivo atinge cerca de aproximadamente 2,5% na população mundial. Segundo o critério de classificação do DSM-IV^{TR}, esse distúrbio se manifesta na forma de obsessões ou compulsões recorrentes que, em geral, consomem tempo, causando prejuízo ou sofrimento ao indivíduo. Obsessões são idéias, pensamentos, impulsos ou imagens persistentes, que são vivenciados como intrusivos e inadequados, provocando acentuada ansiedade ou sofrimento e cujo objetivo é prevenir ou reduzir a ansiedade ou sofrimento. As compulsões, por sua vez, são caracterizadas por comportamentos repetitivos que geralmente não oferecem prazer ou gratificações ao indivíduo (APA, 2000).

O distúrbio de estresse pós-traumático é caracterizado principalmente por recordações recorrentes de uma experiência traumatizante, que é revivida como se o evento estivesse ocorrendo novamente. Estes “traumas” são via de regra situações de estresse intenso como estupros, seqüestros, acidentes, guerras ou catástrofes naturais. Para assim poder ser diagnosticado, essas recordações devem persistir por mais de um mês. (APA, 2000).

1.4.1. Distúrbio de Ansiedade Generalizada (DAG)

O DAG é um dos distúrbios mais freqüentemente diagnosticados, tendo prevalência média de 4,1% a 6,6% na população geral (Blazer et al., 1991; Kessler et al., 1994, *apud* Dugas, 2000).

Segundo o DSM-IV^{TR}, o DAG é caracterizado como um quadro clínico, definido por uma ansiedade e preocupação excessivas, claramente desproporcionais ao real impacto de um evento temido, ocorrendo por um período mínimo de seis meses, a respeito de vários eventos ou atividades. A ansiedade e a preocupação devem ser acompanhadas de pelo menos três sintomas adicionais, de uma lista que inclui inquietação, fadiga, dificuldade de concentração, irritabilidade, tensão muscular e perturbações do sono. O diagnóstico deve sempre excluir aspectos característicos de outros distúrbios de ansiedade, como por exemplo, preocupação com a possibilidade de ataques de pânico, como no DP, de estar contaminado (como no distúrbio obsessivo-compulsivo), de encontrar-se longe de casa ou dos parentes (como na ansiedade de separação), de ganhar peso (como na anorexia nervosa), de possuir uma doença séria (como na hipocondríase), de possuir múltiplos problemas físicos (como na somatização) e de sentir-se embaraçado frente a situações de evidência (como na fobia social).

Por fim o DSM-IV^{TR} enfatiza que este quadro não pode ser conseqüência direta dos efeitos fisiológicos de uma droga ou medicamento, de uma doença somática ou de um distúrbio psiquiátrico.

1.4.2. Distúrbio de Pânico (DP)

O DP atinge em menor proporção a população que o DAG, ou seja, em torno

de 0,5% a 3% (Regier et al., 1988; Angst et al., 1985, *apud* Gentil, Lotufo-Neto e Bernick, 1997). Para que seja feito o diagnóstico é necessário que o paciente apresente recorrência de ataques súbitos de pânico de no mínimo 4 ataques em 4 semanas, podendo ser acompanhados por mudanças significativas no comportamento do indivíduo e por preocupações persistentes quanto à ocorrência, às implicações e às conseqüências de outros ataques. Deve ser excluído o uso de substâncias, condições médicas gerais, como hipertireoidismo, ou outros distúrbios mentais, como fobia social, distúrbio obsessivo-compulsivo, distúrbio do estresse pós-traumático, entre outros. Este quadro clínico pode levar ao desenvolvimento de um comportamento de evitação mais ou menos generalizado, principalmente de locais ou situações onde os indivíduos possam sentir-se desprotegidos, ou dos quais não possam evadir-se com facilidade. Tal complicação denomina-se esquiva agorafóbica, o que pode restringir as atividades cotidianas ou triviais do indivíduo. Um ataque de pânico é conceituado, segundo o DSM-IV^{TR}, como sendo um episódio de medo intenso ou desconforto, acompanhado de pelo menos 4 entre 13 sintomas somáticos ou cognitivos. O ataque ocorre de forma súbita, tendo um pico de duração média, de 10 minutos, e é acompanhado geralmente por um sentimento de morte ou perigo iminente e uma necessidade de fuga da situação.

Os sintomas que compõem um quadro clínico de ataque de pânico incluem palpitações, tremores, náuseas, tonturas, dificuldade de respiração, sensação de choque, despersonalização, sentimentos de falta de controle, medo de enlouquecer ou sentimentos de morte iminente.

1.5. Aspectos Comportamentais e Neuroanatômicos da Ansiedade

Apesar das manifestações associadas à ansiedade serem essencialmente

humanas, com exceção de alguns componentes das alterações somáticas e autonômicas, a investigação das bases neurobiológicas da ansiedade tem sido realizada principalmente a partir de estudos conduzidos com animais de laboratório. Partindo de uma perspectiva evolutiva, a utilização de estudos em animais encontra fundamento ao considerar que as raízes da ansiedade humana possuem uma analogia nas reações de defesa que os animais exibem frente a estímulos ou situações de perigo (Graeff, 1990).

Em 1988, os pesquisadores Robert e Caroline Blanchard instituíram o conceito de níveis de defesa através da análise eto-experimental do comportamento de ratos. Sob esta perspectiva, a ansiedade seria estabelecida em diversos níveis de perigo, possuindo características distintas em cada um deles, dependendo do contexto em que o animal se encontra. Sendo assim, diferentes substratos neuroanatômicos estariam envolvidos no gerenciamento das reações observadas em cada estágio. A tabela 3 faz referência às três estratégias básicas de defesa apresentadas pelos animais frente a situações de perigo, enumerando diversas estruturas do sistema nervoso central (SNC) que têm sido relacionadas aos comportamentos defensivos. Em primeiro lugar, se destacam o sistema septo-hipocampal (SH) e a amígdala (AM), os quais serviriam de interface entre o neocórtex e o sistema límbico subcortical. Tanto o SH quanto a AM recebem densas projeções do córtex temporal polimodal, onde se verifica a síntese das informações colhidas pelos diferentes sistemas sensoriais, bem como informações sensoriais de natureza olfativa e interoceptiva. Outras evidências indicam, no entanto, que estas áreas cerebrais não seriam as únicas envolvidas na geração da ansiedade. Assim, tem sido demonstrado que um conjunto de estruturas cerebrais longitudinalmente organizado, compreendendo além de partes da AM, a substância cinzenta

periaquedutal dorsal (SCPD) e o hipotálamo medial (HM) e interligado por vias nervosas ascendentes e descendentes, também se constitui em substrato neural da ansiedade. Este circuito, designado de sistema cerebral aversivo (SCA) (Graeff, 1990), coordenaria diferentes estratégias de defesa, como a imobilidade tensa ou congelamento e os comportamentos de luta e de fuga. A ativação destas regiões também evoca sensações extremamente desagradáveis (medo intenso, dor não localizada) no homem (Graeff, 1991).

Tabela 3 – Níveis de defesa, substrato neural, emoção relacionada.

Perigo	Reação de defesa	Estruturas cerebrais	Emoção
Potencial	Avaliação de risco/ Inibição comportamental	Septo-hipocampo/ Amígdala	Ansiedade
Antecipado	Congelamento	Amígdala/ Periaquedutal ventral	Ansiedade antecipatória
Distal	Esquiva	Amígdala	Ansiedade condicionada
	Fuga	Hipotálamo medial	Ansiedade incondicionada
Proximal	Fuga/Congelamento	Periaquedutal dorsal	Pânico

(Adaptada de Graeff e Guimarães, 2000)

1.6. Neuroquímica da ansiedade

Visando uma melhor elucidação dos processos fisiopatológicos, inúmeros estudos têm recaído sobre os diversos sistemas neuroquímicos que participariam da modulação na ansiedade. A partir da eficácia de compostos utilizados clinicamente no tratamento de alguns distúrbios de ansiedade, merecem destaque os sistemas GABAérgico e serotoninérgico. Drogas benzodiazepínicas (BZDs), tais como o diazepam (DZP) e o midazolam (MDZ), apresentam eficácia terapêutica no DAG (Nutt, 1990). Ademais, BZDs de alta potência como o alprazolam tem demonstrado bons resultados no tratamento clínico do DP (*Panic Consensus Statement*, 1991). Por outro lado, drogas ansiolíticas que atuam diretamente no sistema serotoninérgico, como o agonista 5-HT_{1A} buspirona, também têm apresentado eficácia clínica no tratamento do DAG. Esta observação tem impulsionado a realização de novos

estudos, objetivando investigar melhor a participação da serotonina (5-HT) na modulação da ansiedade.

Investigações pré-clínicas têm sido conduzidas na tentativa de elucidar a participação da 5-HT na ansiedade, uma vez que tanto estudos clínicos quanto laboratoriais são ainda controversos. A hipótese de que a 5-HT aumenta a ansiedade é fundamentada a partir dos efeitos de drogas que facilitam/inibem a neurotransmissão serotoninérgica, utilizando animais de laboratório expostos a situações de conflito/punição (Robichaud e Sledge, 1969; Graeff e Schoenfeld, 1970; Wise, Berger e Stein, 1972). De fato, trabalhos como o de Stein e colaboradores (Wise, Berger e Stein, 1972) demonstraram que tanto um inibidor da síntese de 5-HT, a para-clorofenilalanina (PCPA), quanto um antagonista inespecífico de receptores 5-HT, a metisergida, liberavam o comportamento suprimido por punição, semelhantemente aos ansiolíticos BZDs. Adicionalmente, o BZD oxazepam liberava o comportamento punido nas mesmas doses em que diminuía a taxa de renovação da 5-HT no tronco cerebral de ratos (Wise, Berger e Stein, 1972). A partir desses achados, em conjunto, Stein e colaboradores (1973) propuseram a primeira teoria sobre o funcionamento da 5-HT na modulação da ansiedade, segundo a qual a estimulação serotoninérgica promoveria ansiedade.

Por outro lado, tem sido demonstrado que a administração de agonistas serotoninérgicos atenua as reações de luta/fuga promovidas pela estimulação elétrica da SCPD (Deakin e Graeff, 1991). Assim, estudos como os realizados por Kiser e colaboradores (1975, 1978), evidenciaram o papel ansiolítico da 5-HT. Segundo este estudo, a administração sistêmica do precursor de síntese de 5-HT, o 5-hidroxitriptofano (5-HTTP) ou do inibidor de recaptção de 5-HT, a clomipramina, diminuía o número de vezes em que os ratos pressionavam uma barra que reduzia a

intensidade da corrente elétrica na SCPD (efeito antiaversivo), enquanto que a administração sistêmica do PCPA (Kiser e Lebowitz, 1975) apresentava efeito contrário. Corroborando estes achados, resultados obtidos posteriormente, demonstraram que a administração sistêmica de antagonistas serotoninérgicos foi capaz de diminuir o comportamento de pressionar a barra, interrompendo assim a estimulação elétrica da SCPD (Schenberg e Graeff, 1983).

Com intuito de solucionar e conciliar esta aparente contradição, Deakin e Graeff (1991) formularam uma teoria que pressupõe um papel dual atribuído a 5-HT na modulação de respostas defensivas, devido a sua atuação oposta na AM e na SCPD. Essa teoria sugere que, mediante um perigo potencial, projeções serotoninérgicas distintas (ver figura 3), oriundas do NDR seriam ativadas, o que liberaria 5-HT tanto na AM quanto na SCPD. O aumento desta monoamina na AM facilitaria respostas de esquiva, ao passo que este aumento na SCPD inibiria respostas de fuga. Portanto, a AM (importante estrutura relacionada à aprendizagem de estímulos sinalizadores de perigo), se relacionaria com a ansiedade antecipatória e com o DAG, enquanto que a SCPD (estrutura responsável pela coordenação de reações de luta/fuga), se relacionaria com o DP (Deakin e Graeff, 1991).

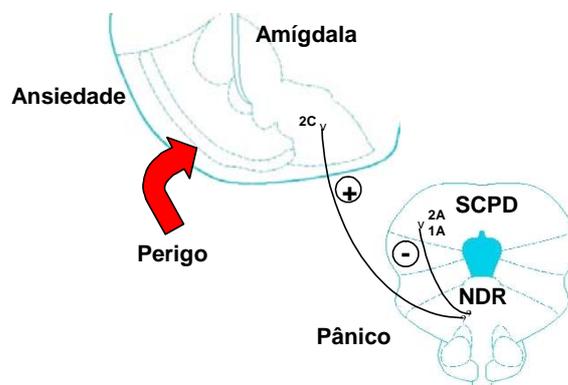


Figura 2. Vias serotoninérgicas ascendentes provindas do núcleo dorsal da rafe e que inervam a amígdala e a substância cinzenta periaquedutal dorsal (adptado de Graeff e Guimarães, 2000)

1.7. Modelos Experimentais de Ansiedade

Modelos animais são muito utilizados na tentativa de se reproduzir, em laboratório, determinados aspectos da ansiedade. As primeiras investigações sobre o tema ansiedade utilizavam os modelos de resposta emocional condicionada ou modelo de supressão condicionada, proposto por Estes e Skinner (Graeff e Guimarães, 2000), que consiste na apresentação de um estímulo aversivo, no caso o choque elétrico, quando o animal emite o comportamento de pressionar a barra concomitante à apresentação de alimento. Entretanto, este modelo apresentou problemas com sua validação farmacológica, uma vez que drogas não ansiolíticas foram capazes de reverter a supressão condicionada. Posteriormente, outros modelos foram desenvolvidos, como o modelo de conflito de Geller e Blum (1970). A não resposta destes modelos a ansiolíticos não-benzodiazepínicos, somada à interferência de aspectos motivacionais, como privação de água e alimento, às medidas de ansiedade, levaram ao desenvolvimento de modelos etologicamente fundamentados, como o labirinto em cruz elevado (LCE).

O LCE (Handley e Mithani, 1984; Pelow et al., 1985) é um modelo animal de ansiedade que se baseia no medo natural que ratos apresentam a espaços elevados e abertos. Este modelo consiste de um aparato feito de madeira, constituído por dois

braços abertos unidos perpendicularmente a dois braços fechados, todo o conjunto elevado 50 cm do chão. Embora tenha sido largamente utilizado nos últimos anos, por apresentar vantagens como fácil manuseio e o não envolvimento de outros processos psicobiológicos como a dor ou privação de água ou alimentos, o LCE parece não detectar consistentemente o efeito de drogas não-BZDs (Handley e M^oBlane, 1993). Esta inconsistência tem sido atribuída ao fato do LCE ser um modelo misto, isto é, não distingue entre os diferentes subtipos de ansiedade existentes na clínica.

De fato, um comportamento definido operacionalmente como ansiedade em um determinado modelo animal pode diferir daquele gerado por outros modelos (ou mesmo de outros comportamentos gerados pelo mesmo modelo), no que se refere à resposta às drogas, manipulações ambientais e substratos neurais correspondentes (File, 1995; Zangrossi Jr., 1997).

Deste modo, tendo em vista o fato da ansiedade não ser um fenômeno unitário podendo ser subdividida em diferentes subtipos específicos, que respondem diferentemente ao tratamento farmacológico, algumas tentativas de se desenvolver modelos específicos para os vários subtipos de ansiedade foram realizadas (Graeff, Viana e Tomaz, 1993; Viana, Tomaz e Graeff, 1994). Este é o caso, por exemplo, do modelo do labirinto em T elevado (LTE). Este modelo foi desenvolvido com o intuito de permitir a medida de dois tipos de respostas comportamentais de defesa em um mesmo animal, a esquiva inibitória e a fuga dos braços abertos do modelo, que em termos clínicos, têm sido relacionadas com dois subtipos distintos de ansiedade, o DAG e DP, respectivamente. É interessante salientar que para testar algumas das predições do papel dual da 5-HT sobre a ansiedade, teoria proposta por Deakin e Graeff (1991), este modelo vem sendo muito utilizado (Sena et al., 2003; Custódio

Teixeira, Zangrossi Jr. e Graeff, 2000; Bueno, Zangrossi Jr. e Viana, 2005). Nos últimos anos, estudos direcionados não apenas à investigação das funções desempenhadas pela AM (Bueno, Zangrossi Jr. e Viana, 2005) e SCPD (Bueno et al, 2005), mas também por outras estruturas implicadas com a ansiedade, como o HM, também vêm sendo realizados com o modelo (Bueno et al., dados não publicados).

1.8. Área Septal: Neuroanatomia e Neuroquímica

A área septal é uma região do sistema límbico que tem sido relacionada a processos de aprendizagem e memória, bem como a outros comportamentos emocionais emitidos por vertebrados. É aparentemente através do septo que o hipocampo se comunica com estruturas do tronco encefálico (Thomas, Yadin e Strickland, 1991). Anatomicamente, a área septal pode ser dividida em duas partes: o septo lateral, que inclui os núcleos dorsal, intermedial e ventral; e o septo medial (Raisman, 1966). Do hipocampo, partem fibras em direção ao septo lateral, que envia projeções ao septo medial que, por sua vez, envia fibras de volta ao hipocampo, fechando o circuito (Swanson e Cowan, 1979).

A área septal é, assim, um complexo formado em sua maioria por interneurônios piramidais e granulares, densamente inervado por diferentes *inputs* hipotalâmicos laterais, assim como serotoninérgicos (Calderazzo et al., 1996), noradrenérgicos (McNaughton e Mason, 1980), dopaminérgicos (Segal, 1977) e GABAérgicos (Wouterlood et al., 1995).

Ainda segundo Calderazzo e colaboradores (1996), a região septal e o córtex entorrinal são os maiores componentes do sistema límbico e possuem extensiva interconexão com o hipocampo. Tanto o septo quanto o córtex entorrinal são inervados por diversas vias comuns, e alguns destes *inputs* são oriundos de axônios

colaterais, ou seja, projeções ramificadas originárias de neurônios hipocampais (predominantemente CA1) e de neurônios serotoninérgicos do NDR.

Estudos realizados a partir da técnica de *binding* evidenciaram diferentes concentrações de diversos subtipos de receptores na área septal. Deste modo, estudos feitos por Pazos e Palacios (1985), verificaram a distribuição de receptores 5-HT₁ em cérebros de ratos, observando que esta área apresenta uma alta concentração de receptores 5-HT do tipo 1A. Por outro lado foi encontrada também uma alta densidade de outros subtipos de receptores serotoninérgicos, como 5-HT_{2A/2C} (Almeida, 2005) e 5-HT_{2B} (Hoyer, Hannon e Martin, 2002).

Ademais, receptores BZDs estão abundantemente distribuídos em diversas estruturas límbicas, incluindo o septo. Assim, estudos recentes utilizando-se de técnicas de hibridização *in situ*, imunohistoquímica e imunofluorescência, demonstraram altas concentrações de receptores GABA_A e GABA_B, assim como a presença de receptores colinérgicos nesta região (Pesold e Treit, 1996; Lüttgen, Ögren e Meister, 2005; Nyíri, et al., 2005)

1.9. A área Septal e a Ansiedade

Na década de 80, o psiquiatra inglês Jeffrey Gray (1987) propôs um modelo teórico, denominado Sistema de Inibição Comportamental (SIC), para explicar o mecanismo de modulação da ansiedade. Este sistema levaria a um aumento da atenção e vigilância do animal. As estruturas neuroanatômicas que supostamente constituiriam o SIC seriam o hipocampo e a área septal (SH), assim como suas interconexões, fibras e vias.

Segundo Gray (1982), o SH teria a função de comparar os dados oriundos do córtex entorrinal, que são recebidos pelo hipocampo, com as predições formuladas no circuito de Papez (núcleo mamilar do hipotálamo, tálamo antero-ventral e córtex

do giro do cíngulo). Havendo correspondência entre as duas representações, o SH continuaria a funcionar como “comparador”. Se por outro lado ocorresse algo inesperado, este passaria a trabalhar no modo de “controle”, desencadeando a ansiedade. Em poucas palavras, a ativação do SIC teria como consequência uma alteração no equilíbrio entre aproximação/esquiva, tendendo para o comportamento de esquiva (Gray e MacNaughton, 2000). Assim, uma vez o SIC ativado por estímulos aversivos, ocorreria uma diminuição ou inibição do comportamento em curso, o que poderia em casos extremos, levar o animal a emitir uma resposta de imobilidade tensa.

Corroborando o que foi proposto por Gray (1982) no início da década de 80, estudos mais recentes sugerem que a área septal parece estar, de fato, em uma posição estratégica para modular estados afetivos, sendo que uma das funções do septo, e em especial do septo lateral, parece ser a mediação de estados aversivos que acompanham o medo e a ansiedade (Yadin et al, 1993; Menard e Treit, 1996; Cheeta et al, 2000; Singewald et al, 2003; McGregor et al, 2004; Beekman, Flachskamm e Linthorst, 2005).

Em 1993, Yadin e colaboradores realizaram um estudo com o objetivo de observar os efeitos da lesão e da estimulação elétrica do septo lateral em ratos, sobre o comportamento dos animais no teste do beber punido. A estimulação da área septal lateral demonstrou efeito ansiolítico, aumentando o número de pressões à barra para obtenção de água, enquanto que as lesões demonstraram um caráter ansiogênico, ou seja, uma diminuição do número de pressões à barra. Baseados nesses achados, os autores propuseram que o septo lateral exerceria um papel inibitório sobre a ansiedade.

Alguns anos mais tarde, porém, Menard e Treit (1996) verificaram os efeitos da lesão da área septal lateral sobre o comportamento de ratos submetidos aos modelos do LCE (Pellow et al., 1985) e do ocultamento defensivo (Treit, Menard e Pesold, 1994). Os resultados obtidos por esses pesquisadores mostraram que as lesões provocaram um efeito ansiolítico em ambos os modelos, aumentando o tempo de permanência dos animais nos braços abertos do LCE e diminuindo a quantidade de serragem depositada sobre o bastão eletrificado no modelo do ocultamento defensivo. Assim, em oposição ao que Yadin e colaboradores (1993) sugeriram, Menard e Treit propuseram que o septo lateral deveria exercer um papel ansiogênico sobre a modulação da ansiedade. Esta proposição foi fortalecida a partir da observação de que a administração do BZD midazolam e do agonista de receptores GABA_A muscimol intra-septo lateral, mas não intra-septo medial, exercia efeito ansiolítico em dois modelos animais de ansiedade, o labirinto em cruz elevado e o modelo do ocultamento defensivo (Pesold e Treit, 1996). Recentemente McGregor e colaboradores (2004) corroboraram estes últimos resultados, demonstrando efeitos ansiolíticos da administração intra-septo lateral de midazolam no modelo da exposição de ratos ao odor de gato, em respostas comportamentais de defesa sensíveis ao tratamento com a droga, como a esquiva do contato com a coleira impregnada com o odor do predador e a inibição do comportamento de *grooming*.

Mais recentemente, a relação entre área septal e ansiedade também tem sido evidenciada a partir de estudos imunohistoquímicos. Utilizando a técnica de marcação para proteína fos, Singewald e colaboradores (2003) demonstraram os efeitos de quatro drogas ansiogênicas (FG 7142, mCPP, ioimbina e cafeína) em regiões cerebrais de ratos relacionadas a comportamentos defensivos. Dentre as 41

regiões investigadas, 7 apresentaram aumento da imunoreatividade para fos em resposta às drogas utilizadas, dentre estas estruturas encontrava-se o septo lateral (além da amígdala, núcleo da *stria terminalis*, núcleo paraventricular do hipotálamo, hipotálamo lateral, córtex pré e infra-límbico).

Com relação à neurotransmissão serotoninérgica intra-septo lateral, há alguns anos, Cheeta e colaboradores (2000) verificaram os efeitos da microinjeção na estrutura do agonista de receptores 5-HT_{1A} 8-OH-DPAT sobre o comportamento de ratos submetidos ao teste da interação social (File e Hyde, 1978) e ao LCE (Pellow et al., 1985). Estes resultados demonstraram efeitos ansiogênicos desta droga tanto na primeira exposição dos animais ao LCE quanto no teste da interação social. Não foram encontradas diferenças significativas entre os animais microinjetados com 8-OH-DPAT e o grupo controle em uma segunda exposição dos animais ao LCE. É interessante que seja salientado que esta segunda exposição ao modelo tem sido relacionada ao medo fóbico (File et al, 1993).

Recentemente, um estudo realizado com a técnica de microdiálise *in vivo* demonstrou um aumento nas concentrações extracelulares do metabólito da 5-HT, ácido 5-hidroxi-indolacético (5-HIAA), em diferentes estruturas anatômicas, após a exposição de camundongos ao predador (ratos; Beekman, Flachskamm e Linthorst, 2005). Dentre as estruturas mencionadas, encontrava-se o septo lateral (juntamente com o hipocampo, córtex pré-frontal, e caudado putâmem). Estes dados, em conjunto, reforçam a participação do sistema serotoninérgico do septo lateral na modulação de respostas comportamentais de defesa relacionadas à ansiedade.

OBJETIVO

2. OBJETIVOS

Atualmente, diversas regiões do SNC têm sido relacionadas à regulação da ansiedade, dentre as quais se destacam o SH, a AM, o HM e a SCPD. A investigação do papel realizado por estas estruturas em diferentes respostas comportamentais de defesa vem sendo realizada em vários modelos animais de ansiedade (Sena et al., 2003; De Paula Soares e Zangrossi Jr., 2004; Bueno, Zangrossi Jr. e Viana, 2005). Um destes modelos, o LTE, foi desenvolvido a partir do LCE, e permite o estudo de duas respostas comportamentais de defesa, a esquiva inibitória e a fuga dos braços abertos, em um mesmo rato. Em termos clínicos, estas duas respostas têm sido respectivamente relacionadas ao DAG e ao DP. No LTE, o papel dos sistemas serotoninérgicos da AM, SCPD, e mais recentemente HM, sobre as respostas comportamentais de defesa medidas no modelo tem sido bastante investigado. Por outro lado, não há até o presente momento nenhum estudo sobre o papel exercido, especificamente, pela área septal lateral sobre as duas tarefas medidas nesse modelo, muito embora a região mencionada tenha sido relacionada à modulação da ansiedade.

Sendo assim, o objetivo do presente trabalho é dar continuidade à investigação da ação desempenhada pela 5-HT sobre a ansiedade, salientando, entretanto, a mediação realizada pela área septal lateral – região que também recebe inervação serotoninérgica oriunda do NDR - sobre o comportamento de ratos submetidos ao LTE. Tendo em vista que o septo lateral é uma região rica em receptores 5-HT_{1A} (Pazos e Palacios, 1985), no presente estudo foram utilizados dois tipos de drogas serotoninérgicas: o agonista 5-HT_{1A} 8-OH-DPAT e o antagonista 5-HT_{1A} WAY-100635. A administração do benzodiazepínico midazolam intra-septo lateral, bilateralmente, foi utilizada para fins de comparação (Experimento 1) tendo

em vista que em outros modelos animais de ansiedade resultados ansiolíticos têm sido obtidos com a droga (Pesold e Treit, 1996). Um segundo grupo de animais foi microinjetado intra-septo lateral, bilateralmente, com o agonista 5-HT_{1A} 8-OH-DPAT ou veículo e subseqüentemente testado no LTE (Experimento 2). Finalmente, o antagonista de receptores 5-HT_{1A} WAY-100635 foi também administrado intra-septo lateral, bilateralmente, para que fosse observado o efeito do bloqueio dos receptores 1A sobre os resultados previamente obtidos com o 8-OH-DPAT no modelo (Experimento 3). Após serem submetidos ao LTE, os animais foram expostos a uma arena para a avaliação da atividade locomotora.

MATERIAL E MÉTODOS

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Animais

Foram utilizados ratos Wistar, machos, pesando entre 250-280 g no dia da cirurgia, provenientes do Biotério Central da Universidade de São Paulo, *Campus* de Ribeirão Preto. Os animais foram alojados em gaiolas-viveiro com, no máximo, cinco animais cada, no biotério do laboratório de Psicofarmacologia da Ansiedade, com ciclo claro-escuro de 12 horas (claro, das 7:00 às 19:00) e temperatura de 22°C (\pm 1°C). Durante todo o experimento, os animais tiveram livre acesso à água e à comida. Após a cirurgia, foram acomodados em gaiolas de acrílico, aos pares, onde permaneceram por mais sete dias, quando foram iniciados os experimentos.

3.2. Drogas

Foram utilizados: o agonista GABAérgico maleato de midazolam (Roche, Brasil), o agonista serotoninérgico 8-OH-DPAT ([8-hidroxi-2-(di-n-propilamino) tetralin], Sigma, EUA) e o antagonista serotoninérgico maleato de WAY-100635 (N-[2-[4-(2-Metoxifenil)-1-piperazinil]etil]-N-2-piridinil-ciclohexanocarboxamida maleato, Sigma, EUA).

As drogas foram dissolvidas em salina estéril 0,9% e administradas em volume de 0,2 μ l.

3.3. Aparatos

3.3.1. Labirinto em T Elevado

O aparelho foi confeccionado em madeira, com três braços de iguais dimensões (50x12 cm). Um braço fechado, por paredes com 40 cm de altura, permanecia disposto perpendicularmente aos braços abertos opostos, os quais

foram circundados por acrílico transparente de 1 cm de altura para evitar a queda dos animais. Todo o conjunto permaneceu elevado a 50 cm do solo.



Figura 3. Labirinto em T elevado

3.3.2. Arena

Foi utilizada uma arena de madeira (60x60 cm), circundada por paredes de 40 cm e com o assoalho dividido em 9 partes de 20 cm.



Figura 4. Arena

3.4. Procedimentos

3.4.1. Cirurgia Estereotáxica

Cinco a dez minutos antes da cirurgia estereotáxica, cada animal foi anestesiado intraperitonealmente (IP) com tribromoetanol (2,5 g/100 ml, 10 ml/kg, Aldrich, EUA). Em seguida, os animais foram afixados ao aparelho estereotáxico (Stoelting, EUA), com a barra dos incisivos 2,5 mm abaixo da linha interaural. Imediatamente após, receberam subcutaneamente o anestésico local, cloridrato de lidocaína (Lidocaína 3%, PROBEM, Brasil), assim como pentabiótico veterinário (0,2 ml) intra-muscularmente (Fort Dodge, Brasil) e o antiinflamatório e antipirético Banamine (1ml/kg) subcutaneamente (Fort Dodge, Brasil). Após a exposição do crânio e da devida assepsia do local, quatro pequenos orifícios foram abertos: dois para os parafusos, com o intuito de auxiliar a fixação de uma prótese de acrílico, e dois para a inserção das duas cânulas-guia. Foram utilizadas duas cânulas-guia de 10 mm de comprimento e 0,3 mm de diâmetro externo, inseridas a partir do Bregma, de acordo com as seguintes coordenadas: -3,2 mm interaural; + 0,5 mm ântero-posterior; + 1,9 mm látero-medial; - 3,3 mm dorso-ventral e com uma inclinação de 14° (Paxinos e Watson, 1986). Um mandril de aço inoxidável foi introduzido em cada uma das cânulas-guia para evitar possíveis obstruções.

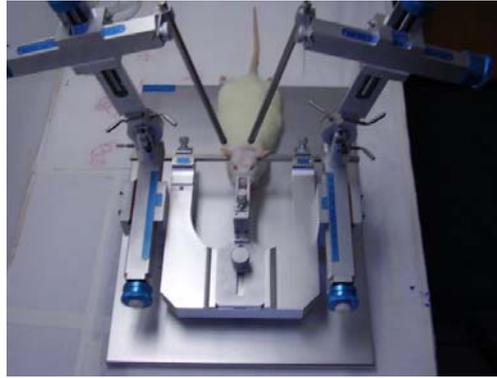


Figura 5. Cirurgia Estereotáxica

3.4.2. Habituação

No quinto e no sexto dia após a cirurgia, cada animal foi levado para a sala de teste para ser habituado às condições experimentais. Neste local, o animal foi manuseado pelo experimentador por 5 minutos e, em seguida, colocado em uma gaiola de acrílico com serragem no assoalho, onde permaneceu por outros 5 minutos. Esta mesma gaiola foi utilizada, posteriormente, como coadjuvante na execução do teste do labirinto em T elevado. Tanto nos dias da habituação quanto no dia de teste, a sala experimental estava iluminada com uma lâmpada de 40 W (50 lux), e havia um ruído constante fornecido pelo exaustor de ar.

3.4.3. Pré-Exposição Forçada a um dos Braços Abertos do Labirinto em T Elevado

Este procedimento foi realizado 24 horas antes da realização do teste. Para isto, cada animal foi colocado individualmente em um dos braços abertos do labirinto em T elevado por 30 minutos. Este braço aberto foi isolado do braço fechado e do outro braço aberto por uma parede de madeira (50 cm de comprimento por 12 cm de largura). Tem sido demonstrado que esta pré-

exposição forçada a um dos braços abertos do LTE potencializa a expressão do comportamento de fuga, reduzindo reações comportamentais à novidade (Custódio Teixeira, Zangrossi e Graeff, 2000).



Figura 6. Pré - Exposição

3.4.4. Testes Comportamentais

No sétimo dia após a cirurgia, os animais foram testados no LTE e subseqüentemente submetidos a uma arena.

No experimento 1, os animais receberam a injeção intra-septo lateral, bilateralmente, do agonista GABAérgico maleato de midazolam (dose de 20,0 nmoles) ou veículo (salina) dez minutos anteriores ao teste no LTE.

No experimento 2, animais foram administrados intra-septo lateral, bilateralmente, com o agonista serotoninérgico 8-OH-DPAT (doses de 0,6, 3,0 ou 15,0 nmoles) ou veículo. Dez minutos após a microinjeção, os animais foram submetidos aos testes comportamentais.

No experimento 3, os animais foram microinjetados intra-septo lateral, bilateralmente, com WAY-100635 (0,37 nmoles) ou salina e, após dez minutos, os animais receberam a microinjeção de 8-OH-DPAT (3,0 nmoles) ou salina. Neste experimento, um grupo de animais também recebeu uma microinjeção de salina e,

após dez minutos, uma nova microinjeção de salina. Assim, os grupos formados foram: salina/salina, WAY/salina, salina/8-OH-DPAT e WAY/8-OH-DPAT. Dez minutos após a última administração, os animais foram submetidos aos testes comportamentais.

As doses do agonista e do antagonista serotoninérgicos utilizadas foram escolhidas a partir dos resultados de Cheeta e colaboradores (2000). A dose do agonista GABAérgico MDZ foi escolhida a partir dos resultados de Pesold e Treit (1996).

Todas as microinjeções foram feitas por meio de agulhas dentais de 12 mm com 0,2 mm de diâmetro externo (Mizzy), conectadas a uma seringa Hamilton de 10 μ l através de um tubo de polietileno (PE-10), o qual estava preenchido com água destilada. As microinjeções foram realizadas, bilateralmente, pelas cânulas-guias, subseqüentemente à remoção dos mandris. Após a introdução das agulhas dentais, iniciou-se a administração das drogas ou veículo utilizando-se de uma bomba microinjetora digital. O deslocamento de uma bolha de ar no polietileno foi utilizado para verificar se a droga foi realmente injetada. Em todos os experimentos, um volume de 0,2 μ l foi administrado por um período de dois minutos. Após a administração, as agulhas permaneceram por 60 segundos adicionais no interior das cânulas-guia para evitar refluxos.

Os testes comportamentais constituíram-se da obtenção de duas medidas avaliadas no modelo do LTE: esquiva inibitória e fuga de uma via.

Para a verificação da esquiva inibitória no LTE, os animais foram colocados na extremidade distal do braço fechado, com a cabeça voltada para o centro do aparelho. Cronometrou-se a latência de saída, com as quatro patas, do braço fechado em direção ao aberto (latência basal). O animal foi, então, retirado do LTE e

colocado em uma caixa, por 30 segundos. Em seguida, a mesma medida foi tomada por mais duas vezes consecutivas (latências de Esquiva Inibitória 1 e 2), com intervalo de 30 segundos entre elas. O animal foi então colocado na extremidade do braço aberto para registro do tempo de saída deste braço com as quatro patas (Fuga 1). Esse procedimento foi repetido por mais duas vezes consecutivas, com intervalos de 30 segundos entre elas, para a aquisição das medidas de Fuga 2 e Fuga 3.

Trinta segundos após a última medida de fuga, o animal foi colocado na arena e filmado por 5 min para posterior registro de número de cruzamentos e levantamentos.

Após o teste de cada animal, o labirinto e a arena foram submetidos à limpeza com uma solução de álcool a 20%.

3.5. Perfusão

Após os experimentos, os animais foram sacrificados sob anestesia profunda com uretana a 25% (10 ml/kg) e, em seguida, foram perfundidos intracardiacamente, com salina (NaCl a 0,9%) seguida por formol a 10%. Após a perfusão foi injetado 0,2 µl de corante azul de Evans 1% por uma microagulha (Mizzy, 12 mm) inserida pela cânula guia. Os cérebros perfundidos e corados foram então removidos e fixados em formol a 10% por um período mínimo de três dias.

3.6. Histologia

Os cérebros foram cortados em secções coronais de 60 µm de espessura em um criostato de congelamento (Leica CM1850) para verificação macroscópica do sítio de microinjeção, segundo as fotomicrografias do atlas de cérebro de rato de

Paxinos e Watson (1986). Foram considerados para análise estatística, somente os animais cujos implantes estivessem ambos localizados dentro da área septal lateral (Paxinos e Watson, 1986).

3.7. Análise Estatística

Os dados experimentais foram submetidos a uma análise de variância ANOVA do tipo *split plot*, tendo como fator independente o tratamento efetuado e como medidas repetidas as latências de saída dos braços fechados (Linha de Base, Esquiva 1, Esquiva 2) ou as latências de fuga (Fuga 1, Fuga 2, Fuga 3). Após esta análise inicial, os dados foram submetidos ao teste *post-hoc* de Duncan, quando necessário.

Para a avaliação da atividade locomotora, os dados foram submetidos a uma análise de variância (ANOVA) de uma via.

RESULTADOS

4. RESULTADOS

4.1. Experimento 1: Efeito da administração intra-septo lateral do agonista GABAérgico maleato de midazolam

A **figura 7** ilustra os sítios de microinjeção do agonista GABAérgico maleato de midazolam ou salina, intra-septo lateral.

A **figura 8A** demonstra o efeito da administração intra-septo lateral com maleato de midazolam sobre a esQUIVA inibitória dos braços abertos do modelo. A ANOVA do tipo *split-plot* indicou efeito significativo do tratamento [$F(1,15)=9,22$; $p=0,008$], das tentativas [$F(2,30)=34,19$; $p<0,001$], bem como da interação tratamento *versus* tentativas [$F(2,30)=8,69$; $p=0,001$]. A ANOVA de uma via indicou diferença significativa entre os grupos na esQUIVA 1 [$F(1,15)=7,76$; $p=0,013$] e na esQUIVA 2 [$F(1,15)=9,77$; $p=0,006$]. O teste *post-hoc* de Duncan mostrou que nas esQUIVAS 1 e 2, o grupo tratado com a droga foi significativamente diferente do grupo controle ($p<0,05$).

A **figura 8B** demonstra o efeito da administração intra-septo lateral com maleato de midazolam, sobre a fuga do braço aberto do modelo. A ANOVA do tipo *split-plot* não indicou efeito significativo do tratamento [$F(1,15)=1,11$; $p=0,308$] e nem da interação tratamento *versus* tentativa [$F(2,30)=0,70$; $p=0,506$], embora tenha indicado efeito significativo das tentativas [$F(2,30)=9,06$; $p=0,001$].

**Experimento 1:- REPRESENTAÇÃO GRÁFICA DOS SÍTIOS DE MICROINJEÇÃO
DE MDZ INTRA-SEPTO LATERAL**

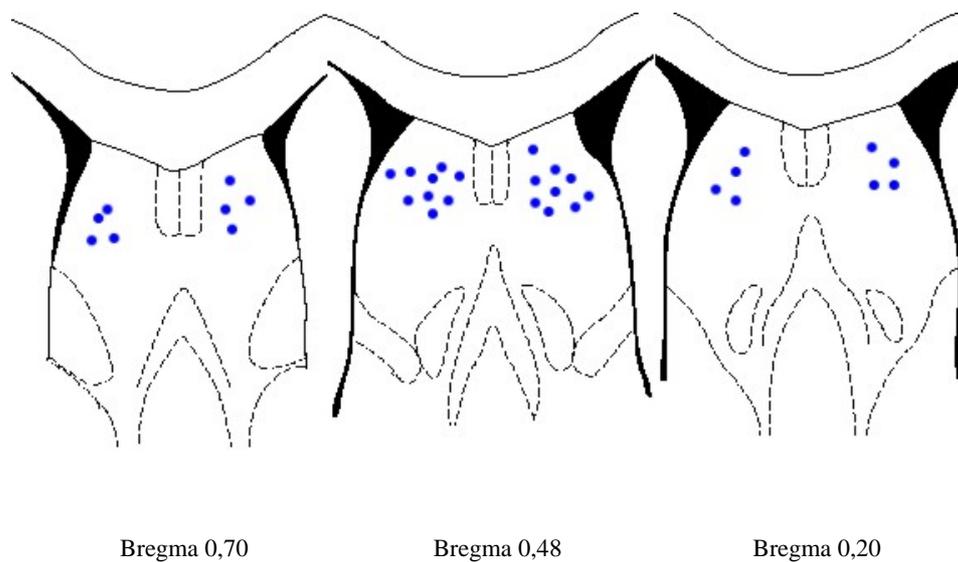


Figura 7. Representação gráfica da localização dos sítios de microinjeções de MDZ ou salina intra-septo lateral. Os números fora dos gráficos indicam as coordenadas a partir do Bregma (secções coronais do cérebro de rato).

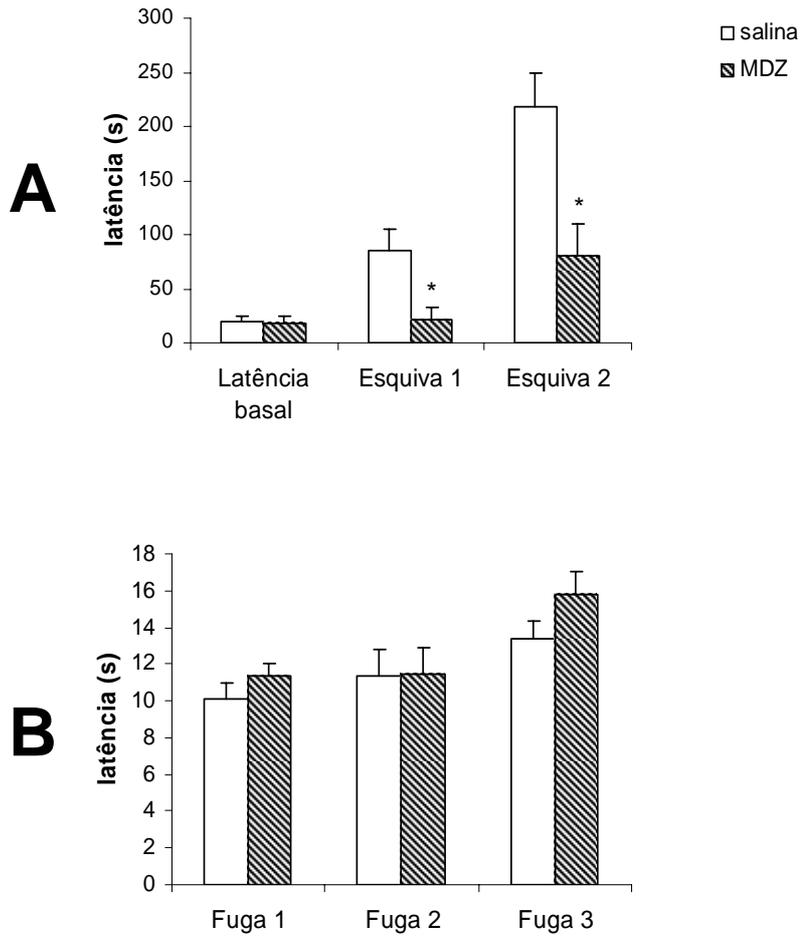


Figura 8. Efeito do MDZ intra-septo lateral sobre as medidas de esquiva inibitória e fuga dos braços abertos do LTE. Barras representam média + EPM para 9-8 ratos por grupo de tratamento. As medidas de Latência Basal (LB), Esquiva 1, Esquiva 2, Fuga 1, Fuga 2 e Fuga 3 foram realizadas com 30 segundos de intervalo entre cada, começando 10 minutos após a microinjeção de droga ou salina. * $p < 0,05$ em relação ao controle (ANOVA seguida do teste *post-hoc* de Duncan).

A **figura 9** demonstra o efeito da administração intra-septo lateral com maleato de midazolam sobre a atividade locomotora dos animais testados na arena. A ANOVA de uma via não indicou diferenças significativas, nem com relação ao número de cruzamentos [$F(1,15)=0,41$; $p=0,841$] nem com relação ao número de levantamentos [$F(1,15)=0,20$; $p=0,653$].

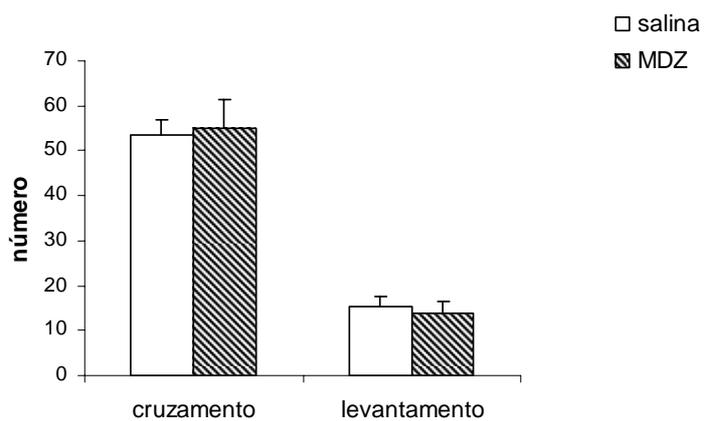


Figura 9. Efeito do MDZ intra-septo lateral sobre a atividade locomotora dos animais testados na arena. Barras representam média + EPM para 9-8 ratos por grupo de tratamento. Os animais foram expostos por 5 minutos à arena imediatamente após serem testados no LTE.

4.2. Experimento 2: Efeito da administração de 8-OH-DPAT intra-septo lateral

A **figura 10** ilustra os sítios de microinjeção do agonista serotoninérgico 8-OH-DPAT ou salina, intra-septo lateral.

A **figura 11A** demonstra o efeito da administração de 8-OH-DPAT intra-septo lateral sobre a esquiva inibitória dos braços abertos do modelo. A ANOVA do tipo *split-plot* indicou efeito significativo do tratamento [$F(3,47)=3,99$; $p=0,01$], das tentativas [$F(2,94)=35,46$; $p<0,001$] e da interação tratamento *versus* tentativas [$F(6,94)=3,03$; $p<0,01$]. A ANOVA de uma via indicou diferença significativa entre os grupos na esquiva 2 [$F(3,47)=6,77$; $p<0,001$], mas não na latência basal ou esquiva 1. O teste *post-hoc* de Duncan mostrou que na esquiva 2 os três grupos tratados com a droga foram significativamente diferentes do grupo controle ($p<0,05$).

A **figura 11B** demonstra o efeito da administração do 8-OH-DPAT intra-septo lateral sobre a fuga do braço aberto do modelo. Diferentemente do obtido com a esquiva, a ANOVA do tipo *split-plot* não indicou efeito significativo do tratamento [$F(3,47)=1,54$; $p=0,22$] e nem da interação tratamento *versus* tentativa [$F(6,94)=1,31$; $p=0,80$], embora tenha indicado efeito significativo das tentativas [$F(2,94)=17,73$; $p<0,001$].

**Experimento 2:- REPRESENTAÇÃO GRÁFICA DOS SÍTIOS DE MICROINJEÇÃO
DE 8-OH-DPAT INTRA-SEPTO LATERAL**

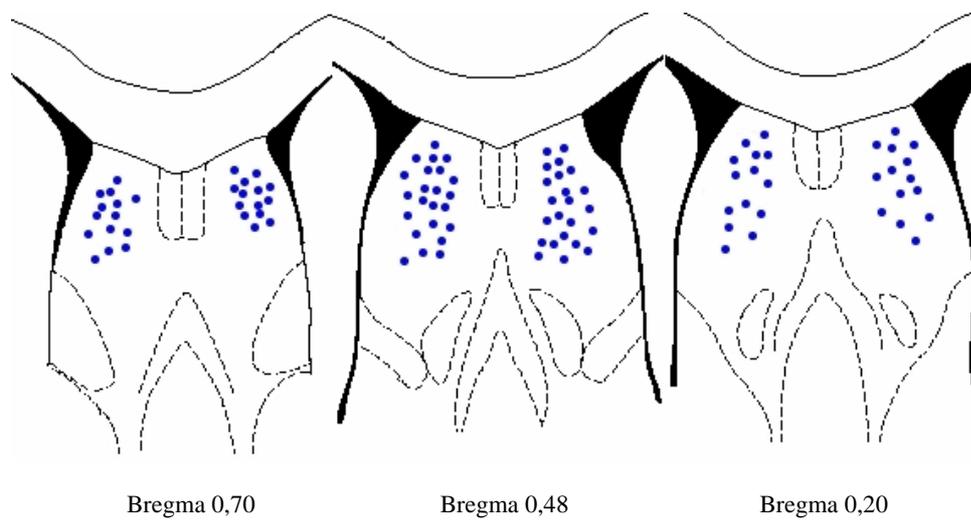


Figura 10. Representação gráfica da localização dos sítios de microinjeções de 8-OH-DPAT ou salina intra-septo lateral. Os números fora dos gráficos indicam as coordenadas a partir do Bregma (secções coronais do cérebro de rato).

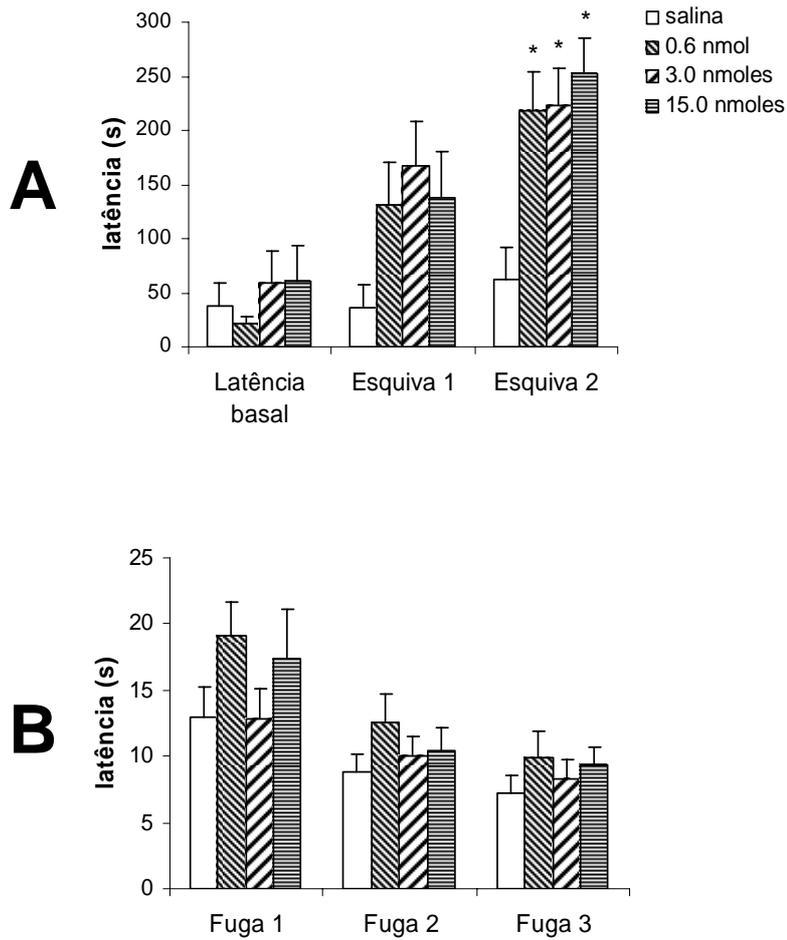


Figura 11. Efeito do 8-OH-DPAT intra-septo lateral sobre as medidas de esquiva inibitória e fuga dos braços abertos do LTE. Barras representam média + EPM para 12-13 ratos por grupo de tratamento. As medidas de Latência Basal (LB), Esquiva 1, Esquiva 2, Fuga 1, Fuga 2 e Fuga 3 foram realizadas com 30 segundos de intervalo entre cada, começando 10 minutos após a microinjeção de droga ou salina. * $p < 0,05$ em relação ao controle (ANOVA seguida do teste *post-hoc* de Duncan).

A **figura 12** demonstra o efeito do tratamento com 8-OH-DPAT intra-septo lateral sobre a atividade locomotora dos animais testados na arena. A ANOVA de uma via não indicou diferenças significativas em nenhuma das duas medidas: número de cruzamentos [$F(3,47)=1,59$; $p=0,20$] e número de levantamentos [$F(3,47)=1,06$; $p=0,37$].

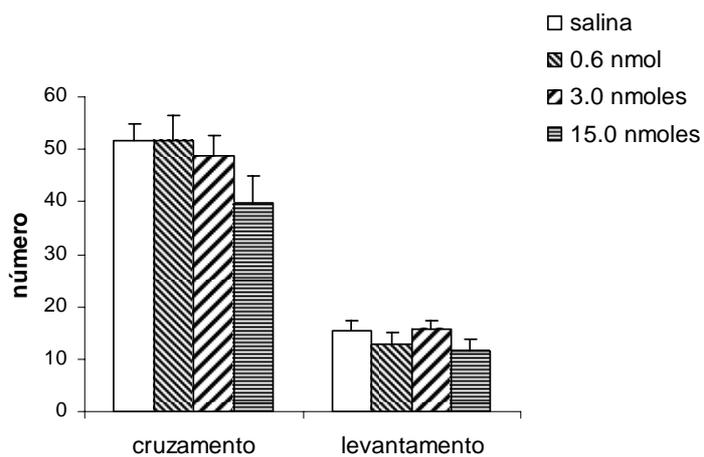


Figura 12. Efeito do 8-OH-DPAT intra-septo lateral sobre a atividade locomotora dos animais testados na arena. Barras representam média + EPM para 12-13 ratos por grupo de tratamento. Os animais foram expostos por 5 minutos à arena imediatamente após serem testados no LTE.

4.3. Experimento 3: Efeito da administração intra-septo lateral de WAY-100635, previamente à administração de 8-OH-DPAT.

A **figura 13** ilustra os sítios de microinjeção do antagonista serotoninérgico do tipo 1A WAY-100635, do agonista 1A 8-OH-DPAT, ou de salina, intra-septo lateral.

A **figura 14A** demonstra o efeito da administração intra-septo lateral com WAY previamente à administração com 8-OH-DPAT sobre a esQUIVA inibitória dos braços abertos do modelo. A ANOVA do tipo *split-plot* indicou efeito significativo do tratamento [$F(3,39)=3,09$; $p=0,038$] e das tentativas [$F(2,78)=40,20$; $p<0,001$], mas não da interação tratamento *versus* tentativas [$F(6,78)=1,67$; $p=0,139$]. A ANOVA de uma via indicou diferença significativa entre os grupos na esQUIVA 2 [$F(3,39)=3,84$; $p=0,016$], mas não na latência basal ou esQUIVA 1. O teste *post-hoc* de Duncan mostrou que na esQUIVA 2 o grupo tratado com a droga 8-OH-DPAT foi significativamente diferente do grupo controle ($p<0,05$).

A **figura 14B** demonstra o efeito da administração intra-septo lateral com WAY previamente à administração com 8-OH-DPAT, sobre a fuga do braço aberto do modelo. A ANOVA do tipo *split-plot* não indicou efeito significativo do tratamento [$F(3,39)=1,95$; $p=0,138$] e nem da interação tratamento *versus* tentativa [$F(6,78)=1,25$; $p=0,288$], embora tenha indicado efeito significativo das tentativas [$F(2,78)=4,59$; $p=0,013$].

**Experimento 3: REPRESENTAÇÃO GRÁFICA DOS SÍTIOS DE MICROINJEÇÃO
DE WAY-100635, 8-OH-DPAT OU SALINA INTRA-SEPTO LATERAL**

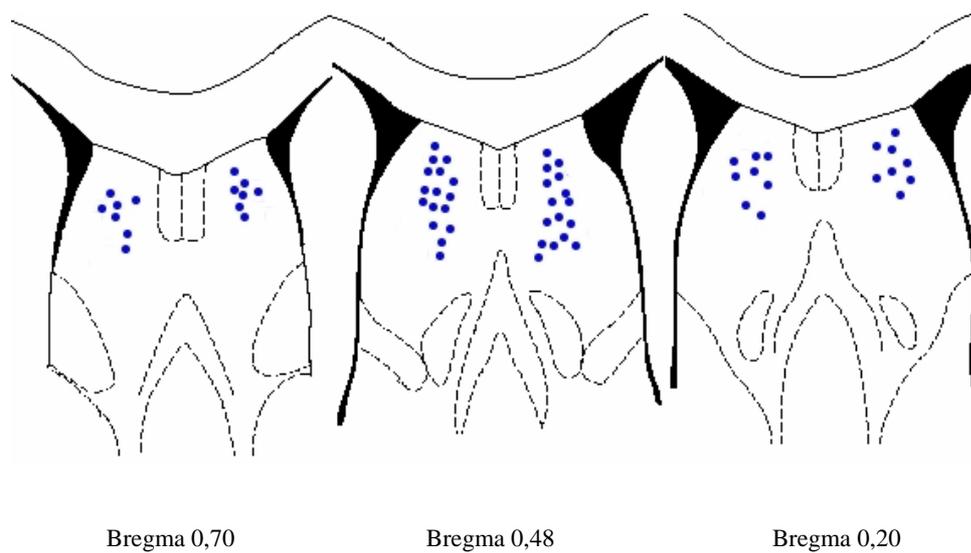


Figura 13. Representação gráfica da localização dos sítios de microinjeções de WAY-100635, 8-OH-DPAT ou salina, intra-septo lateral. Os números fora dos gráficos indicam as coordenadas a partir do Bregma (secções coronais do cérebro de rato).

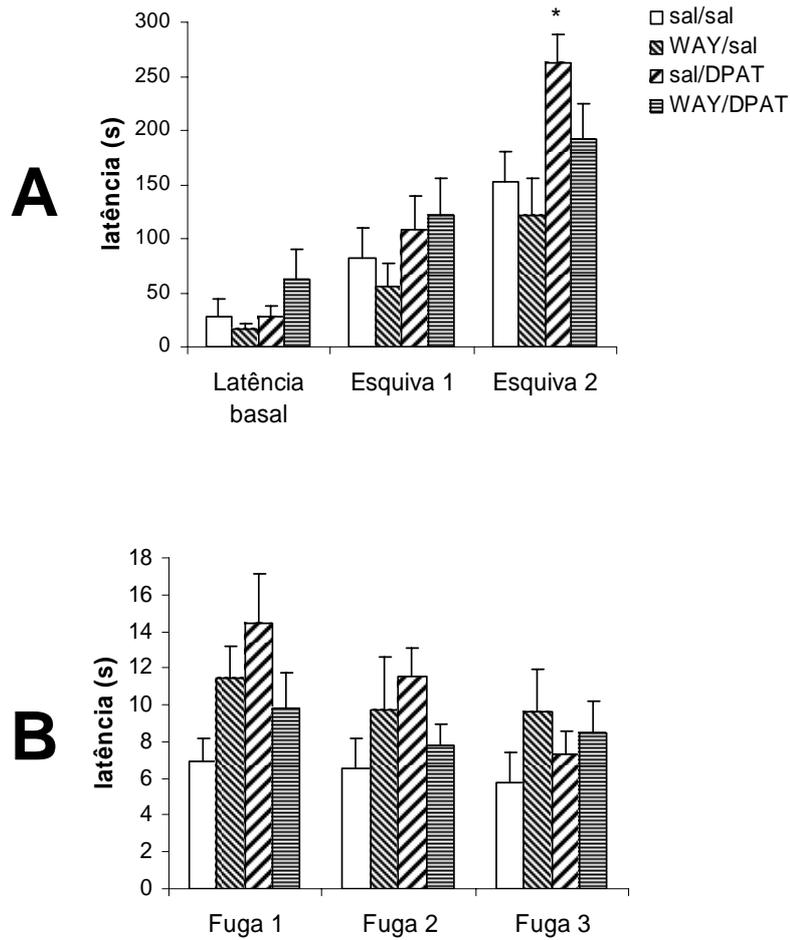


Figura 14. Efeito da administração intra-septo lateral do WAY-100635 previamente à microinjeção de 8-OH-DPAT sobre as medidas de esquiva inibitória e fuga dos braços abertos do LTE. Barras representam média + EPM para 10-11 ratos por grupo de tratamento. As medidas de Latência Basal (LB), Esquiva 1, Esquiva 2, Fuga 1, Fuga 2 e Fuga 3 foram realizadas com 30 segundos de intervalo entre cada. * $p < 0,05$ em relação ao controle (ANOVA seguida do teste *post-hoc* de Duncan).

A **figura 15** demonstra o efeito da administração intra-septo lateral com WAY-100635 previamente à administração com 8-OH-DPAT sobre a atividade locomotora dos animais testados na arena. A ANOVA de uma via não indicou diferenças significativas, nem com relação ao número de cruzamentos [$F(3,39)=1,43$; $p=0,732$] nem com relação ao número de levantamentos [$F(3,39)=0,44$; $p=0,722$].

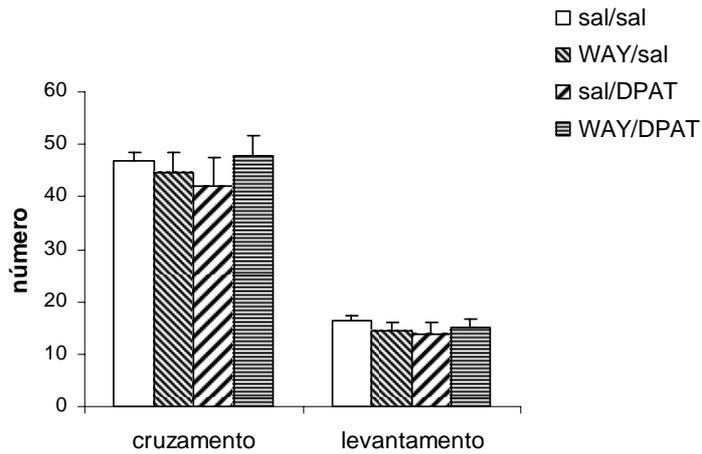


Figura 15. Efeito da administração intra-septo lateral do WAY-100635 previamente à microinjeção de 8-OH-DPAT sobre a atividade locomotora dos animais testados na arena. Barras representam média + EPM para 10-11 ratos por grupo de tratamento. Os animais foram expostos por 5 minutos à arena imediatamente após serem testados no LTE.

DISCUSSÃO

5. DISCUSSÃO

A área septal lateral, em virtude de sua posição estratégica para mediar estados afetivos, tem sido proposta como uma importante região envolvida com a modulação da ansiedade (Gray, 1982). Apesar disso, os estudos direcionados à investigação do papel exercido pela 5-HT nesta região, um dos principais sistemas de neurotransmissão que tem sido relacionados à ansiedade, são escassos.

O presente trabalho investigou os efeitos da administração bilateral intra-septo lateral do agonista GABAérgico MDZ e do agonista de receptores 5-HT_{1A}, 8-OH-DPAT, sobre o comportamento de ratos expostos às duas tarefas do modelo do LTE, esquiva inibitória e fuga dos braços abertos. Adicionalmente, este estudo avaliou também a capacidade do antagonista serotoninérgico do tipo 1A, WAY-100635, de bloquear os efeitos obtidos previamente com 8-OH-DPAT.

Os resultados obtidos no Experimento 1, demonstraram que a administração bilateral intra-septo-lateral do BZD MDZ, prejudicou a tarefa de esquiva inibitória dos braços abertos do LTE, efeito ansiolítico, sem alterar a resposta de fuga. Estes resultados independem de uma alteração da atividade locomotora dos animais, uma vez que não houve diferenças significativas nas medidas de número de cruzamentos e de levantamentos, medidos em uma arena. É interessante salientar que os resultados obtidos com a arena independem da exposição prévia ao LTE. Estudos adicionais recentemente conduzidos (Dr. Hélio Zangrossi Jr., comunicação pessoal), objetivando verificar possíveis falsos positivos dentre os animais testados no LTE e subsequentemente submetidos à arena, demonstraram que a inversão do protocolo experimental não altera significativamente nem os resultados obtidos com a arena, nem os obtidos com o LTE.

Os resultados obtidos com o MDZ corroboram estudos prévios que demonstram efeito ansiolítico deste mesmo BZD e do agonista de receptores GABA_A muscimol, administrados intra-septo lateral, nos modelos animais de ansiedade do LCE e do ocultamento defensivo (Pesold e Treit, 1996; Degroot, Kashluba e Treit, 2001). Esses achados vão, ademais, em encontro aos resultados obtidos por McGregor e colaboradores (2004) que demonstraram efeitos ansiolíticos da administração de MDZ no modelo da exposição de ratos ao odor de gato, em respostas comportamentais de defesa sensíveis ao tratamento com a droga, como a esquiva do contato com a coleira impregnada com o odor do predador e a inibição do comportamento de *grooming*. Neste mesmo estudo, a participação do septo lateral na mediação das respostas comportamentais de defesa medidas pelo modelo foi evidenciada a partir da técnica de marcação de *fos*.

Recentemente Thomas e colaboradores (2005) demonstraram que a administração sistêmica do BZD clordiazepóxido (nas três doses utilizadas: 2, 5 e 10 mg/kg) em ratos foi capaz de suprimir o padrão de aumento de atividade celular do septo lateral em um contexto aversivo, onde os animais eram submetidos a estímulos sinalizados de choques nas patas (paradigma de condicionamento pavloviano). Adicionalmente os autores observaram também que em contextos não aversivos, apenas a dose mais elevada (10 mg/kg de clordiazepóxido) foi capaz de alterar a atividade neuronal da área septal lateral. Tomados em conjunto, estes estudos reforçam também a participação do sistema GABAérgico do septo lateral na modulação de respostas comportamentais de defesa.

Os resultados obtidos com o Experimento 2 demonstraram que a administração do agonista 5-HT_{1A}, 8-OH-DPAT, intra-septo lateral, bilateralmente, facilitou as respostas de esquiva inibitória dos braços abertos do LTE, sem,

entretanto, alterar a fuga. Deste modo, podemos dizer que a droga apresentou um efeito ansiogênico sobre uma das medidas do LTE, a esquiva inibitória, que em termos clínicos, tem sido relacionada ao DAG. Novamente aqui não houve alteração da atividade locomotora dos animais.

A área septal lateral é uma área rica em receptores do tipo 1A (Pazos e Palacios, 1985). Neste sentido, e corroborando nossos resultados, um estudo realizado por Cheeta e colaboradores (2000) mostrou que a administração de 8-OH-DPAT produz efeitos ansiogênicos tanto no modelo do LCE quanto no teste da interação social. Não foram encontradas diferenças significativas entre os animais microinjetados com 8-OH-DPAT e o grupo controle em uma segunda exposição dos animais ao LCE. É importante que seja salientado que esta segunda exposição ao modelo tem sido relacionada ao medo fóbico (File et al, 1993). Esses resultados, portanto, somam-se aos nossos e sugerem ademais que a estrutura modula um tipo específico de resposta comportamental de defesa. Aparentemente, esta resposta relaciona-se ao perigo distal e potencial e à inibição comportamental. É interessante observar que, em estudos conduzidos recentemente em nosso laboratório, a administração de 8-OH-DPAT intra-amígdala basolateral também alterou a esquiva inibitória dos braços abertos do LTE, porém no sentido contrário ao que foi observado com o septo lateral, ou seja, apresentou efeito ansiolítico nesta medida (Bueno, Zangrossi e Viana, 2005). Ao que parece, portanto, o papel que a ativação dos receptores 5-HT_{1A} de ambas as estruturas exerce na modulação desta resposta comportamental é oposto, ansiolítico na AM e ansiogênico no septo lateral.

Corroborando o observado com o Experimento 2, tem sido demonstrado que a administração do fator de liberação de corticotropina intra-NDR é capaz de aumentar a liberação de 5-HT no septo lateral, aumentando a atividade elétrica de

neurônios septais (Thomas et al., 2003). Os autores concluem que provavelmente este é um dos efeitos que medeia respostas comportamentais de defesa em resposta a estímulos aversivos. De maneira semelhante, a administração de nicotina no NDR, eleva significativamente a liberação de serotonina nos terminais da área septal lateral (Seth, Cheeta e File, 2002). Tem sido sugerido que os efeitos ansiogênicos da droga são mediados via receptores 1A do septo lateral (Seth, Cheeta e File, 2002).

Finalmente, os resultados obtidos com o Experimento 3 demonstraram que a administração bilateral intra-septo lateral do antagonista de receptores 5-HT_{1A} WAY-100635 foi capaz de reverter os efeitos obtidos com o agonista de receptores 5-HT_{1A} 8-OH-DPAT, no modelo do LTE. Nos animais tratados com WAY-100635 subsequentemente à administração intra-septo lateral de 8-OH-DPAT foi observada uma diminuição das latências de esquiva inibitória dos braços abertos do LTE, o que assemelhou os animais do grupo aos animais controle. Ao mesmo tempo, as latências de fuga permaneceram inalteradas, não havendo também nenhuma tendência a um comprometimento na atividade locomotora dos animais na arena. Portanto, os resultados obtidos no Experimento 3 demonstram a capacidade do antagonista 1A WAY-100635 de bloquear os efeitos ansiogênicos induzidos pelo 8-OH-DPAT na tarefa de esquiva inibitória.

Estes últimos achados estão de acordo com os resultados obtidos por Cheeta e colaboradores (2000), que evidenciaram a capacidade do WAY-100635 de antagonizar os efeitos ansiogênicos da nicotina e do 8-OH-DPAT, quando microinjetados, bilateralmente, intra-septo lateral, em ratos submetidos aos modelos do LCE e ocultamento defensivo.

Para concluir, é possível afirmar que, tomados em conjunto, os presentes

resultados reforçam a implicação da área septal lateral e, em especial dos receptores 5-HT do tipo 1A da estrutura, na modulação de uma resposta comportamental de defesa específica, que em termos clínicos tem sido relacionada ao DAG: a esquiva inibitória dos braços abertos do LTE.

***REFERÊNCIAS
BIBLIOGRÁFICAS***

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, R.M.M.; GIOVENARDI, M.; SILVA, S.P.; OLIVEIRA, V.P. Maternal aggression in Wistar rats: effect of 5-HT_{2A/2C} receptor agonist and antagonist microinjected into the dorsal periaqueductal gray matter and medial septum.

Brazilian Journal of Medical and Biological Research, v.38, p. 597-602, 2005.

AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION, TASK FORCE ON DSM-IV. **Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders DSM-IV-TR**. 4 ed., text revision, Washington, DC, APA Press, 2000.

BEEKMAN, M.; FLACHSKAMM, C.; LINTHORST, A.C. Effects of exposure to a predator on behaviour and serotonergic neurotransmission in different brain regions of C57b1/6N mice. **European Journal of Neuroscience**, v.21, p. 2825-2836, 2005.

BLANCHARD, D.C.; BLANCHARD, R.J. Ethoexperimental approaches to the biology of emotion. **Annual Review of Psychology**, v.7, p. 24S-35S, 1988.

BRANDÃO, M.L. Comportamento Emocional. In: BRANDÃO, M.L. (ed), **As bases biológicas do comportamento. Introdução à neurociência**. São Paulo.1ed. EPU, 2004.

BUENO, C.H.; ZANGROSSI JR, H.; VIANA, M.B. The reversible inactivation of the amygdala basolateral nucleus causes anxiolytic effect in the rat elevated T-maze and light/dark transition tests. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v.38(11), p. 1697-701, 2005.

BUENO, C.H.; ZANGROSSI JR, H.; NOGUEIRA, R.L.; VIANA, M.B. Panicolytic-like effect induced by the stimulation of GABAA and GABAB receptor in the dorsal periaqueductal grey of rats. **European Journal of Pharmacology**, v.516, p. 239-246, 2005.

CALDERAZZO, L.; CAVALHEIRO, E.A.; MACCHI, G.; MOLINARI, M.; BENTIVOGLIO, M. Branched connections to the septum and to the entorhinal cortex from the hippocampus, amygdala, and diencephalon in the rat. **Brain Research Bulletin**, v.40, p. 245-251, 1996.

CHEETA, S.; KENNY, P.J.; FILE, S.E. Hippocampal and septal injections of nicotine and 8-OH-DPAT distinguish among different animal tests of anxiety. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, v.24(7), p.1053-1067, 2000.

CUSTÓDIO TEIXEIRA, R.; ZANGROSSI JR., H.; GRAEFF, F.G. Behavioral effects of acute and chronic imipramine in the elevated T maze model of anxiety. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**, v.65(4), p. 571-576, 2000.

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

DEGROOT, A.; KASHLUBA, S.; TREIT, D. Septal GABAergic and hippocampal cholinergic systems modulate anxiety in the plus-maze and shock-probe tests. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**, v.69, p. 391-399, 2001.

DE PAULA SOARES, V. ZANGROSSI JR., H. Involvement of 5-HT1A and 5-HT2 receptors of the periaqueductal gray in the regulation of the defensive behaviors generated by the elevated T-maze. **Brain Research Bulletin**, v.64, p. 181-188, 2004.

DUGAS, M. J. Generalized anxiety disorder publications: so where do we stand? **Journal Anxiety Disorder**, v.14(1), p. 31-40. 2000.

FILE, S.E.; HYDE, J.R.G. Can social interaction be used to measure anxiety? **British Journal of Pharmacology**, v.62, p. 19-24, 1978.

FILE, S.E.; ZANGROSSI JR, H.; VIANA, M.B.; GRAEFF, F.G. Trial 2 in the elevated plus-maze: a different form of fear? **Psychopharmacology**, v.111, p. 491-494, 1993.

FILE, S. E. Animal models of different anxiety states. In: BIGGIO, G. et al. (ed.) **GABA A receptors and anxiety**. New York. Raven Press. p. 93-113. 1995.

FRAZÃO, J. R.; BATISTA, J.B. A Perspectiva Antropológica do Existencialismo. **Metanóia**, v.1, p. 65-68, 1999.

FREUD, S. Inibição, Sintoma e Angústia. In: _____. **Obras Completas Vol. XX**. Rio de Janeiro. Editora Estandart Brasileira, 2 ed. 1970.

GELLER, I.; BLUM, K. The effects of 5-HTP on para-chlorophenylalanine (PCPA) attenuation of "conflict" behavior. **European Journal of Pharmacology**, v.9, p. 319-324, 1970.

GENTIL, V.; LOTUFO NETO, F.; ANDRADE, L.; CORDAS, T.; BERNIK, M.; RAMOS, R.; MACIEL, L.; MIYAKAWA, E.; GORENSTEIN, C. Clomipramine, a better reference drug for panic/agoraphobia. Effectiveness comparison with imipramine. **Journal of Psychopharmacology**, v.7, p. 316-324, 1993.

GENTIL, V.; LOTUFO NETO, F.; BERNIK, M. **Pânico, Fobias e Obsessões**. 3 Ed. São Paulo. Editora USP. 1997.

GRAEFF, F.G.; SCHOENFELD, R.I. Tryptaminergic mechanism in punished and nonpunished behavior. **The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v.173(2), p. 277-283, 1970.

GRAEFF, F.G. Brain defense systems and anxiety. in: Roth M, Burrows GD, Noyes R (eds.), **Handbook of Anxiety, vol. 3**. Elsevier Science Publishers: Amsterdam, p. 307-354, 1990.

GRAEFF, F.G. Serotonina, ansiedade e pânico. **Jornal Brasileiro de Psiquiatria**, v.40, p. 605-609, 1991.

GRAEFF, F.G.; VIANA, M.B.; TOMAZ, C.A.B. The elevated T maze, a new experimental model of anxiety and memory. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v.6, p. 67-70, 1993.

GRAEFF, F.G.; BRANDÃO, M.L. In: _____ **Neurobiologia das Doenças Mentais**, 5 ed. São Paulo. Lemos Editorial e Gráficos Ltda. 1999.

GRAEFF, F.G.; GUIMARÃES, F.S. **Fundamentos da Psicofarmacologia**. São Paulo. Atheneu, 2000.

GRAY, J.A. Précis of The neuropsychology of anxiety: An enquiry into the functions of the septo-hippocampal system. **The Behavioral and Brain Sciences**, v.5, p. 469-534, 1982.

GRAY, J.A. **The Psychology of Fear and stress**. Cambridge: Cambridge University Press. 1987.

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

GRIMAL, P. **Dicionário da mitologia grega e romana**. Rio de Janeiro. Editora Bertrand Brasil. 2 ed. 1993.

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

HANDLEY, S.L.; M^CBLANE, J.W. 5-HT drugs in animal models of anxiety. **Psychopharmacology**, v.112, p. 13-20, 1993.

HOYER, D.; HANNON, J.P.; MARTIN, G.R. Molecular, pharmacological and functional diversity of 5-HT receptor. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**, v.71, p. 533-554, 2002.

KIERKEGAARD, S. **O desespero humano**. São Paulo. Abril Cultural. 1984.

KISER, R.S.; LEBOVITZ, R.M. Monoaminergic mechanisms in aversive brain stimulation. **Physiology and Behavior**, v.15, p. 47-53, 1975.

KISER, R.S.; LEBOVITZ, R.M.; GERMAN, D.C. Anatomic and pharmacologic differences between two types of aversive midbrain stimulation. **Brain Research**, v.155, p. 331-342, 1978.

LÜTTGEN, M.; ÖGREN, S.O.; MEISTER, B. 5-HT_{1A} receptor mRNA immunoreactivity in the rat medial septum/diagonal band of Broca-relationships to GABAergic and cholinergic neurons. **Journal of Chemical Neuroanatomy**, v.29, p. 93-111, 2005.

McGREGOR, I.S; HARGREAVES, G.A.; APFELBACH, R.; HUNT, G.E. Neural correlates of cat odor-induced anxiety in rats:region-specific effects of the benzodiazepine midazolam. **The Journal of Neuroscience**, v.28, p. 4134-4144, 2004.

MCNAUGHTON, N.; MASON, S.T. The neuropsychology and neuropharmacology of the dorsal ascending noradrenergic bundle – a review. **Progress in Neurobiology**, v.14, p.197-219, 1980.

MENARD, J.; TREIT, D. Lateral and medial septal lesions reduce anxiety in the plus-maze and probe-burying tests. **Physiology and Behavior**, v.60(3), p. 845-853, 1996.

NYÍRI, G; SZABADITS, E; CSERÉP, C.; MACKIE, K.; SHIGEMOTO, R.; FREUND, T.F. **European Journal of Neuroscience**, v.21, p. 3034-3042, 2005.

NUTT, D.J. Anxiety and its therapy: Today and tomorrow. *In*: BRILEY, M.; NUTT, D.J. (eds) The pharmacology of human anxiety. **Pharmacology and Therapeutics**, v.47, p. 233-266, 1990.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE. **Classificação estatística internacional de doenças e problemas relacionados à saúde – 10ª revisão**. São Paulo. 7 ed. EDUSP. 1999.

PANIC CONSENSUS STATEMENT. **Treatment of panic disorder**. *NIH Consensus Development Conference Consensus Statement*. National Institutes of Health, Bethesda, MD. 1991.

PAXINOS, G.; WATSON, C. **The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates**. 2 ed. New York. Academic Press Inc. 1986.

PAZOS, A.; PALACIOS, J.M. Quantitative autoradiographic mapping of serotonin receptors in the rat brain. **Brain Research**, v.346, p. 205-230, 1985.

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

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

RAISMAN, G. The connections of the septum. **Brain Research**, v.89, p. 317-349, 1966.

ROBICHAUD, R.C.; SLEDGE, K.L. The effects of p-chlorophenylalanine on experimentally induced conflict in the rat. **Life Sciences**, v.8(1), p. 965-969, 1969.

SALIM, J. Os ansiolíticos. In: SALIM, J. **Noções de Psicofarmacoterapia**. São Paulo. Editora da Universidade Católica. p. 65-76. 1987.

SCHENBERG, L.C.; GRAEFF, F.G. Gaba modulation of the defense reaction induced by brain stimulation. **Physiology and Behavior**, v.31, p. 429-437, 1983.

SEGAL, M. Aferents to the entorhinal cortex of the rat studied by the method of retrograde transport of horseradish peroxidase. **Experimental Neurology**, v.57, p. 750-765, 1977.

SENA, L.M.; BUENO, C.; POBBE, R.L.; ANDRADE, T.G.; ZANGROSSI JR., H.; VIANA, M.B. The dorsal raphe nucleus exerts opposed control on generalized anxiety and panic-related defensive responses in rats. **Behavioural Brain Research**, v.142, p. 125-133, 2003.

SETH, P.; CHEETA, S.T.; FILE, S.E. Nicotinic-serotonergic interactions in brain and behaviour. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**, v.71, p. 795-805, 2002.

SINGEWALD, N.; SALCHNER, P.; SHARP, T. Induction of c-Fos expression in specific areas of the fear circuitry in rat forebrain by anxiogenic drugs. **Biology Psychiatry**, v.15, p. 275-283, 2003.

STEIN, L.; WISE, C.D.; BERGER, B.D. Antianxiety action of benzodiazepines: decrease in activity of serotonin neurons in the punishment system. In: GARATTINI, S.; MUSSINI, E.; RANDALL, L.O. (eds), **Benzodiazepines**. New York. Raven Press. p. 299-326. 1973.

SWANSON, L.W.; COWAN, W.M. The connections of the septal region in the rat. **Journal of Comparative Neurology**, v.186, p. 621-656, 1979.

THOMAS, E.; YADIN, E.; STRICKLAND, C.E. Septal unit activity during classical conditioning: a regional comparison. **Brain Research**, v.547, p. 303-308, 1991.

THOMAS, E.; PENAR, L.; LUCKI, I.; VALENTINO, R.J. Corticotropin-releasing factor in the dorsal raphe nucleus regulates activity of lateral septal neurons. **Brain Research**, v.960, p. 201-208, 2003.

THOMAS, E.; STRICKLAND, C.E.; YADIN, E.; BUROCK, D.A. Effects of chlordiazepoxide on single-unit activity in the septal region of the freely moving rat: aversive vs. non-aversive contexts. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v.80, p. 151-159, 2005.

TREIT, D.; MENARD, J.; PESOLD, C. The shock-probe burying test. **Neuroscience Protocols**, v.3, p. 9-17, 1994.

VIANA, M.B.; TOMAZ, C.A.B.; GRAEFF, F.G. The elevated T-maze: a new animal model of anxiety and memory. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**, v.50(3), p. 549-554, 1994.

WISE, C.D.; BERGER, B.D.; STEIN, L. Benzodiazepines: anxiety-reducing activity by reduction of serotonin turnover in the brain. **Science**, v.117, p. 180-183, 1972.

WOUTERLOOD, F.G.; HÄRTIG, W.; BRÜCKN, G.; WITTER, M.P. Parvalbumin-immunoreactive neurons in the entorhinal cortex of the rat: localization, morphology, connectivity and ultrastructure. **Journal of Neurocytology**, v.24, p. 135-153, 1995.

YADIN, E.; THOMAS, E.; GRISHKAT, H.L.; STRICKLAND, C. The role of the lateral septum in anxiolysis. **Physiology and Behavior**, v.53, p. 1077-1083, 1993.

ZANGROSSI JR., H. Modelos animais de ansiedade. In: GRAEFF, F.G.; HETEM, L.B. (eds). **Ansiedade e Transtornos de Ansiedade**, Rio de Janeiro, Editora Científica Nacional Ltda. p. 271-289. 1997.

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](#)