

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

“Participação de receptores GABA/BZD da substância cinzenta periaquedutal dorsal e do hipotálamo ventromedial em diferentes respostas comportamentais de defesa em ratos”

Cíntia Heloína Bueno

Tese apresentada à Faculdade de Filosofia,
Ciências e Letras de Ribeirão Preto – USP,
como parte das exigências para obtenção
do título de Doutor em Ciências, área de
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
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PSICOBIOLOGIA

“Participação de receptores GABA/BZD da substância cinzenta periaquedutal dorsal e do hipotálamo ventromedial em diferentes respostas comportamentais de defesa em ratos”

Cíntia Heloína Bueno

Tese apresentada à Faculdade de Filosofia,
Ciências e Letras de Ribeirão Preto – USP,
como parte das exigências para obtenção
do título de Doutor em Ciências, área de
Psicobiologia.

Orientadora: Prof. Dra. Milena de Barros Viana

Ribeirão Preto

- 2006 -

FOLHA DE APROVAÇÃO

Cíntia Heloína Bueno

“Participação de receptores GABA/BZD da substância cinzenta periaquedutal dorsal e do hipotálamo ventromedial em diferentes respostas comportamentais de defesa em ratos”

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

Área de Concentração: Psicobiologia.

Aprovado em:

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Dedico esta trabalho

Aos meus pais, Maria José Bettin Bueno e José Volmar Bueno, por
todo o amor, carinho, compreensão e por serem os primeiros a me
mostrar o valor do conhecimento.

Ao meu irmão Alessandro, pela amizade e amor em todas as horas

AGRADECIMENTOS

Aos ratinhos que participaram deste trabalho, espero que um dia a humanidade mereça o sacrifício de suas vidas.

À Professora Dr^a. *Milena de Barros Viana*, pela sua orientação precisa e valorosa, nesses últimos 6 anos. Agradeço a paciência, a disponibilidade e o entusiasmo que você sempre mostrou em relação ao meu trabalho.

Ao Professor Dr. *Hélio Zangrossi Júnior* pela sua atenção e disponibilidade em me guiar neste caminho.

Ao Professor *Sílvio Morato de Carvalho*, que me assessorou neste trabalho, e sempre fez sugestões pertinentes para o enriquecimento desta tese.

Ao Professor *Marcus L. Brandão* por toda a ajuda que ofereceu na preparação desta tese.

À Professora Dr^a. *Cláudia Padovan*, que permitiu que continuássemos nosso trabalho em seu laboratório, e mais do que isso, sempre me incentivou e contribuiu imensamente com esta tese de doutorado e com minha experiência na docência.

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

À *Renata B. Vicentini*, pela sua competência de sempre como secretária deste programa. A psicobiologia deve muito à você.

À CAPES, pelo suporte financeiro.

“All work and no play makes Jack a dull boy.” – *The shinning* (1980)

Aos meus colegas e, mais do que isso, meus amigos de laboratório *Gustavo*, *Selma* e *Mônica* pela ajuda, incentivo e força em todos os momentos deste doutorado. Pela

descontração e pela infinita paciência em me aturar nos dias ruins. Esse trabalho tem um pouquinho de vocês. Orgulho-me muito de tê-los conhecido e ter a honra de trabalhar com profissionais como vocês.

Aos antigos amigos de laboratório *Tatá, Lígia, Clarissa e Karina*. Obrigado pela força no início do meu mestrado e por me receberem tão bem no laboratório e me ensinarem, praticamente, tudo que eu sei hoje.

Aos amigos da facul, *Ana Laura, Déia, Paula Carol, Paulo, Diego, Simone, Claudinha, Veri, Josi, Catarina, Camila, Samuel*. Valeu pela amizade, pelas baladas, pelos intermináveis almoços recheados de piadas e gargalhadas. Com certeza este doutorado ficou mais fácil e mais leve por conta de vocês.

Aos meus amigos de longa data *Vanessa, Fabiana, Adriana, Regiane, Alessandra, Creusa, Celena, Ricardo, Cristina, Érika, Melissa, Virginia*, pela amizade sincera há tanto tempo. Sinto muito falta de vocês todos.

“Now our blood flows through eachother as is done for all
eternity, loyal forever, we raise our voices in the words of
Mumbo Gumbo... YA YA! “ – Divine Secrets of the Ya-Ya
Sisterhood (2002)

Às Yallas – Rê (a voz da experiência e da razão), Ju (a emoção à flor-da-pele e a sinceridade em pessoa) e Momo (o meio-termo entre as duas e a doação irrestrita)... vocês são a família que eu pude escolher. São o meu alicerce e meu porto-seguro. Vir para Ribeirão valeu por muitas razões, mas uma das mais importantes, realmente, foi

ter conhecido vocês. Não importa onde eu esteja, eu sempre estarei pensando em vocês. Vocês sempre terão meu amor incondicional, minha amizade, minha lealdade e meu respeito. Pra mim, a definição de amizade no dicionário pode se resumir em três palavras: Atane, Acinom e Ariam. Eu amo vocês.

Resumo

Diversas estruturas do Sistema Nervoso Central têm sido implicadas na gênese/manutenção da ansiedade. Dentre as estruturas mais investigadas, destacam-se a porção dorsomedial do hipotálamo ventromedial (DHVM) e a substância cinzenta periaquedutal dorsal (SCPD). Nos últimos anos, além do enfoque atribuído a aspectos neuroanatômicos, o estudo da fisiopatologia da ansiedade tem dedicado considerável atenção ao envolvimento de diferentes sistemas neuroquímicos na gênese de respostas comportamentais e fisiológicas a estímulos aversivos. Neste sentido, a importância da participação dos sistemas GABAérgico e serotoninérgico na ansiedade têm sido ressaltada pela comprovada eficácia clínica de drogas no tratamento de diferentes distúrbios de ansiedade. Com o intuito de verificar a participação do sistema GABA-benzodiazepínico (BZD) em respostas comportamentais de defesa, no presente trabalho ratos Wistar machos foram tratados intra-SCPD ou intra-DHVM com o agonista de receptores GABAA muscimol, com o agonista de receptores BZD midazolam, com o agonista inverso de receptores BZD FG 7142 ou com o agonista de receptores GABAB baclofen, e dez minutos depois submetidos ao modelo do labirinto em T elevado. Este modelo animal de ansiedade permite medir dois subtipos diferentes de respostas comportamentais de defesa, a esquivia inibitória (relacionada em termos clínicos à ansiedade generalizada) e a fuga de uma via (relacionada em termos clínicos ao distúrbio do pânico). Após os testes com o labirinto em T elevado, os animais que sofreram a cirurgia intra-SCPD foram submetidos ao modelo de transição claro-escuro (MTCE) para a medida de número de transições entre compartimentos e tempo gasto no compartimento claro e logo em seguida, foram submetidos a uma arena para verificação de seu comportamento motor. Em função dos resultados obtidos com o MTCE, que não corroboraram o observado com o labirinto em T, optamos por não utilizar este modelo para os experimentos com o DHVM. Utilizamos também a medida de latência basal na esquivia inibitória do labirinto em T elevado como uma avaliação de possíveis efeitos das drogas sobre a motricidade dos animais. Os resultados mostraram que o midazolam, o muscimol e o baclofen administrados intra-SCPD prejudicaram a fuga de um dos braços abertos do labirinto em T elevado, efeito panicolítico, sem alterar

a esquiva inibitória. Já o FG 7142 intra-SCPD facilitou a fuga, prejudicando ao mesmo tempo a tarefa de esquiva, efeito panicogênico e ansiogênico, respectivamente. Por outro lado, a administração de muscimol, baclofen e midazolam intra-DHVM prejudicou tanto a esquiva inibitória quanto a fuga de um dos braços abertos do labirinto em T elevado, efeito ansiolítico e panicolítico, respectivamente. Já o agonista inverso FG 7142, ao contrário das drogas acima, facilitou tanto a esquiva inibitória quanto a fuga de uma via (efeito ansiogênico e panicogênico, respectivamente). Não foram observados resultados significativos no MTCE e nem alterações no comportamento locomotor dos animais após a administração das diferentes drogas nas estruturas cerebrais mencionadas. Os dados sugerem que o sistema GABA/BZD da SCPD participa preferencialmente de uma resposta comportamental de defesa que tem sido relacionada em termos clínicos ao pânico. Já o sistema GABA/BZD do DHVM parece estar relacionado com as duas respostas comportamentais de defesa avaliadas pelo labirinto em T elevado, esquiva inibitória e fuga de uma via, e aos dois subtipos de ansiedade que em termos clínicos têm sido associados a estas respostas comportamentais de defesa: respectivamente, ansiedade generalizada e pânico.

Palavras chaves: Substância cinzenta periaquedutal dorsal, porção dorsomedial do hipotálamo ventromedial, sistema GABA/BZD, Labirinto em T elevado, ansiedade generalizada, distúrbio do pânico.

Abstract

Several brain structures have been related to the genesis/maintenance of anxiety-related responses. Among some of the structures which have received attention in the last few years are the dorsomedial part of the ventromedial hypothalamus (DVMH) and the dorsal periaqueductal grey matter (dPAG). Aside from neuroanatomy, the physiopathological study of anxiety has also taken into account the involvement of different neurochemical systems in the genesis/maintenance of defensive responses to aversive stimuli. With this respect, the clinical efficacy of GABAergic and serotonergic compounds in the treatment of anxiety disorders has pointed out to the important role played by these neurotransmission systems in the regulation of anxiety-related responses. In an attempt to clarify the role of the GABA-benzodiazepine (BZD) system in defensive behavior, in the present study male Wistar rats were injected intra-dPAG and intra-DVHM with the BZD receptor agonist midazolam (10, 20 and 40 nmoles), the GABAA receptor agonist muscimol (2, 4 and 8 nmoles), the GABAB receptor agonist baclofen (2, 4 and 8 nmoles), or with the BZD inverse agonist FG 7142 (20, 40 and 80 pmoles) and tested in an ethologically-based animal model of anxiety, the elevated T-maze (ETM). The ETM allows the measurement of two behavioral responses, inhibitory avoidance and one-way escape, that have been respectively related to generalized anxiety (GAD) and panic disorder (PD). The animals that were injected intra-DPAG were also subsequently tested in the light-dark transition model (LDTM), for the measurement of number of transitions between compartments and time spent in the light compartment. Due to confusing results with the LDTM, we decide not to expose the animals administered intra-DVHM to the model. In order to measure locomotor activity, all animals were also tested in an open-field. Aside from that, we also used the baseline measurement of ETM's inhibitory avoidance as an index of locomotor activity. Midazolam, muscimol and baclofen administered intra-dPAG impaired escape, a panicolytic-like effect, without altering inhibitory avoidance. FG 7142, on the other hand, facilitated both avoidance and escape reactions, suggesting an anxiogenic and panicogenic-like effects, respectively. On the other hand, midazolam, muscimol and baclofen administered intra-dPAG impaired escape, a panicolytic-like effect, and inhibitory avoidance, an anxiolytic-like effect. FG 7142, on the other hand, facilitated

both avoidance and escape reactions, suggesting an anxiogenic and panicogenic-like effect, respectively. These results were not due to motor alterations, since the drugs did not affect locomotor behavior in the open field or in the baseline measurement of ETM's inhibitory avoidance. We also did not have any significant results with the LDTM. The data suggest that GABAA/BZD and GABAB receptors within the dPAG and DVMH are involved in the control of escape behavior and that a failure in this regulatory mechanism may be of importance in PD. Furthermore, the GABA/BZD receptors within the DVMH seem to be involved in the control of inhibitory avoidance responses, suggesting that this brain structure is also related to GAD.

Keywords: Dorsal periaqueductal grey, Ventromedial hypothalamus, GABA/Benzodiazepine system, Elevated T-maze, Generalized anxiety, Panic Disorder.

LISTA DE ABREVIATURAS

5-HT - Serotonina

BZD – Benzodiazepínicos

CID – Classificação Internacional de Doenças

DHVM – Hipotálamo Ventromedial

LCE – Labirinto em Cruz Elevado

LTE – Labirinto em T elevado

MTCL – Modelo de Transição Claro-Escuro

NDR – Núcleo Dorsal da Rafe

SCP – Substância Cinzenta Periaquedutal

SCPD – Substância Cinzenta Periaquedutal Dorsal

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Classificação dos transtornos ansiosos segundo a CID-106

Tabela 2 - Classificação dos transtornos ansiosos segundo o DSM-IV7

Tabela 3 - Níveis de defesa, substrato neural, emoção relacionada 19

Tabela 4 – Média e E.P.M. do número de cruzamentos e levantamentos na arena em ratos administrados intra-SCPD por midazolam (10, 20 e 40 nmoles), baclofen (2, 4 e 8 nmoles), FG 7142 (20, 40 e 80 pmoles) e muscimol (2, 4 e 8 nmoles) 54

Tabela 5 – Média e E.P.M. do tempo gasto no compartimento claro e do número de transições entre compartimentos no modelo da transição claro-escuro em ratos administrados intra-SCPD por midazolam (10, 20 e 40 nmoles), baclofen (2, 4 e 8 nmoles), FG 7142 (20, 40 e 80 pmoles) e muscimol (2, 4 e 8 nmoles)55

Tabela 6 – Média e E.P.M. no número de cruzamentos e levantamentos de ratos administrados intra-DHVM por midazolam (10, 20 e 40 nmoles), baclofen (2, 4 e 8 nmoles), FG 7142 (20, 40 e 80 pmoles) e muscimol (2, 4 3 8 nmoles)68

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Relação entre ansiedade normal e patológica	3
Figura 2 – Estruturas Mesencefálicas	20
Figura 3 – Núcleos Hipotalâmicos	26
Figura 4 – Foto do Labirinto em T elevado	32
Figura 5 – Foto da Arena	33
Figura 6 – Foto do modelo da transição claro-escuro	33
Figura 7 – Efeito do midazolam (mdz) intra-SCPD sobre as medidas de esquiva inibitória e fuga dos braços abertos do labirinto em T elevado	39
Figura 8 – Efeito do baclofen intra-SCPD sobre as medidas de esquiva inibitória e fuga dos braços abertos do labirinto em T elevado	43
Figura 9 – Efeito do FG 7142 intra-SCPD sobre as medidas de esquiva inibitória e fuga dos braços abertos do labirinto em T elevado	47
Figura 10 – Efeito do muscimol intra-SCPD sobre as medidas de esquiva inibitória e fuga dos braços abertos do labirinto em T elevado	51
Figura 11 – Efeito do midazolam intra-DHVM sobre as medidas de esquiva inibitória e fuga dos braços abertos do labirinto em T elevado	57
Figura 12 - Efeito do baclofen intra-DHVM sobre as medidas de esquiva inibitória (A) e fuga (B) dos braços abertos do labirinto em T elevado	60
Figura 13 - Efeito do FG 7142 intra-DHVM sobre as medidas de esquiva inibitória (A) e fuga (B) dos braços abertos do labirinto em T elevado	63
Figura 14 – Efeito do muscimol intra-DHVM sobre as medidas de esquiva inibitória e fuga dos braços abertos do labirinto em T elevado	66

Figura 15 - Sítios de administração intra-SCPD de midazolam, muscimol, baclofen e FG

714290

Figura 16 - Sítios de administração intra-DHVM de midazolam, muscimol, baclofen e

FG 714291

SUMÁRIO

RESUMO.....	i
ABSTRACT	iii
1. INTRODUÇÃO	1
1.1 Ansiedade	1
1.2 Disúrbios de Ansiedade.....	3
1.2.1. Distúrbio de Ansiedade Generalizada e Pânico	9
1.3. Ansiedade e Farmacoterapia	10
1.4 Modelos Animais de Ansiedade	11
1.4.1. Labirinto em T elevado	13
1.4.2. Modelo de Transição Claro-Escuro	16
1.5. Bases neurofuncionais da ansiedade.....	17
1.6. Substância Cinzenta Periaquedutal (SCP).....	19
1.6.1 Substância Cinzenta Periaquedutal Dorsal (SCPD)	21
1.7. Hipotálamo	24
1.7.1. Hipotálamo Ventro-Medial (DHVM)	26
2. OBJETIVOS	28
3. MATERIAIS E MÉTODO	30
3.1. Animais	30
3.2. Cirurgia	29
3.2.1 Cirurgia intra-SCPD	30
3.2.2. Cirurgia intra-DHVM	31
3.3. Microinjeção	31

3.4. Drogas	31
3.5. Modelos Experimentais	32
3.5.1. Labirinto em T elevado	32
3.5.2. Arena	33
3.5.3. Modelo de Transição Claro-Escuro	33
3.6. Procedimento	34
3.6.1. Experimento 1 - Microinjeção de midazolam intra-SCPD	34
3.6.2. Experimento 2 - Microinjeção de baclofen intra-SCPD	35
3.6.3. Experimento 3 - Microinjeção de FG 7142 intra-SCPD	35
3.6.4. Experimento 4 - Microinjeção de muscimol intra-SCPD	35
3.6.5. Experimento 5 - Microinjeção de midazolam intra-DHVM	35
3.6.6. Experimento 6 - Microinjeção de baclofen intra-DHVM	35
3.6.7. Experimento 7 - Microinjeção de FG 7142 intra-DHVM	36
3.6.8. Experimento 8 - Microinjeção de muscimol intra-DHVM	36
3.7. Histologia	36
3.8. Análise estatística	36
4. RESULTADOS	38
4.1.1. Efeito da administração de midazolam intra-SCPD no labirinto em T elevado	38
4.1.2. Efeito da administração de midazolam intra-SCPD sobre o comportamento locomotor de ratos na arena	40
4.1.3. Efeito da administração de midazolam intra-SCPD no modelo da transição claro- escuro	41
4.2.1. Efeito da administração de baclofen intra-SCPD no labirinto em T elevado ..	42

4.2.2. Efeito da administração de baclofen intra-SCPD sobre o comportamento locomotor de ratos na arena.....	44
4.2.3. Efeito da administração de baclofen intra-SCPD no modelo da transição claro-escuro	45
4.3.1. Efeito da administração de FG 7142 intra-SCPD no labirinto em T elevado ...	46
4.3.2. Efeito da administração de FG 7142 intra-SCPD sobre o comportamento locomotor de ratos na arena	48
4.3.3. Efeito da administração de FG 7142 intra-SCPD no modelo da transição claro-escuro	49
4.4.1. Efeito da administração de muscimol intra-SCPD no labirinto em T elevado ..	50
4.4.2. Efeito da administração de muscimol intra-SCPD sobre o comportamento locomotor de ratos na arena	52
4.4.3. Efeito da administração de muscimol intra-SCPD no modelo da transição claro-escuro	53
4.5.1. Efeito da administração de midazolam intra-DHVM no labirinto em T elevado	56
4.5.2. Efeito da administração de midazolam intra-DHVM sobre o comportamento locomotor de ratos na arena	58
4.6.1. Efeito da administração de baclofen intra-DHVM no labirinto em T elevado...	59
4.6.2. Efeito da administração de baclofen intra-DHVM sobre o comportamento locomotor de ratos na arena	61
4.7.1. Efeito da administração de FG 7142 intra-DHVM no labirinto em T elevado ..	62
4.7.2. Efeito da administração de FG 7142 intra-DHVM sobre o comportamento locomotor de ratos na arena	64
4.8.1. Efeito da administração de muscimol intra-DHVM no labirinto em T elevado ..	65

4.8.2. Efeito da administração de muscimol intra-DHVM sobre o comportamento locomotor de ratos na arena	67
5. DISCUSSÃO	69
6. CONCLUSÕES	77
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	78
8. APÊNDICE	94
8.1. Sítios Histológicos da SCPD	94
8.2. Sítios Histológicos do DHVM.....	94

1. INTRODUÇÃO

1.1. Ansiedade

A ansiedade pode ser caracterizada por sentimentos subjetivos de antecipação, temor ou apreensão, ou por uma sensação de desastre iminente ou morte, associados a vários graus de excitação autonômica e reatividade. No Dicionário da Psicologia Prática (LIMA, 1970), a ansiedade é definida como “um mal-estar físico e psíquico, caracterizado por temor difuso, sentimento de insegurança, desgraça iminente”. A palavra, derivada do termo grego *Anshein*, que significa estrangular, oprimir, sufocar, refere-se às sensações vivenciadas pelo estado de ansiedade (GRAEFF, 1999). Ainda do latim, duas palavras deram origem às palavras ansiedade e angústia: “*anxietas*” e “*angor*” (GENTIL, 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). Todos esses termos têm em comum a intenção de descrever algumas das sensações psicológicas e fisiológicas que acompanham um estado de ansiedade, ou seja, a inquietação, a sensação de falta de ar, perturbação e medo. Como se pode notar, a ansiedade já tem repercussão na sociedade desde a Grécia antiga. No século XX, com o surgimento do existencialismo, passou a ser tratada como fonte de inspiração entre os filósofos. Para 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 & BATISTA, 1998).

Apesar de ser difícil diferenciar conceitualmente angústia de ansiedade, Salim (1984) definiu a ansiedade como um predomínio de sintomas psíquicos e a angústia como mais demonstrativamente somática, não se encontrando importantes diferenças entre as etiologias, quanto à bioquímica ou à terapêutica (SALIM, 1984).

Darwin, em sua obra *The Expression of the Emotions in Man and Animals* (reeditado em 1965), dizia ser a experiência subjetiva uma característica adaptativa do comportamento da espécie. De um ponto de vista evolucionário, a ansiedade e o medo têm suas raízes nas reações de defesa dos animais, em resposta a perigos iminentes ou potenciais encontrados no seu meio ambiente. Quando a integridade física de um animal é confrontada, ele apresenta um conjunto de respostas comportamentais e neurovegetativas que caracterizam a reação do medo.

Acredita-se que a existência de certo nível de ansiedade no ser humano pode ser considerado “normal”, ou seja, pode ser considerado como um fenômeno funcional e adaptativo. Sartre (reeditado em 1983, p.52), certa vez, disse: "Todos os homens têm medo. Quem não tem medo não é normal e isso nada tem a ver com a coragem". Sabe-se, portanto, que certo grau de ansiedade é necessário para motivar um bom desempenho otimizando recursos do indivíduo frente a exigências ambientais (GRAEFF, 1999).

Mas, se por um lado a ansiedade pode ser considerada uma característica adaptativa, com função essencial para a sobrevivência do ser humano, por outro, o excesso de ansiedade pode ser considerado patológico, sendo prejudicial ao desempenho do indivíduo. A relação entre o grau de ansiedade apresentado pelo

indivíduo e a eficiência de seu desempenho encontra-se ilustrada na curva abaixo, conhecida como curva de Yerkes-Dodson.

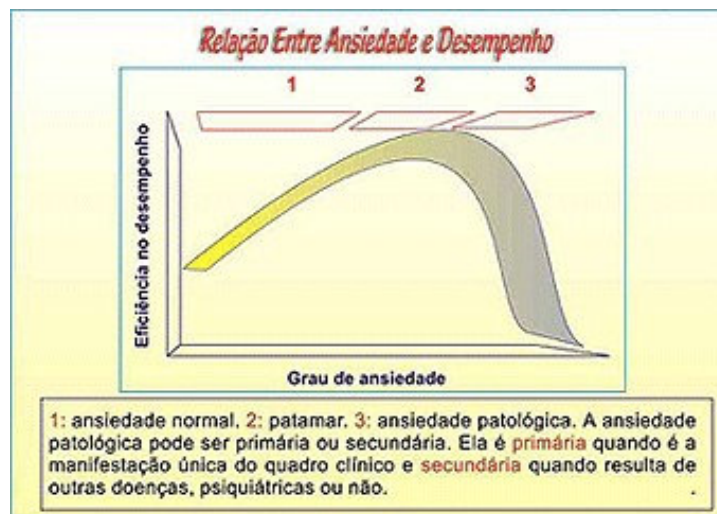


Figura 1. Relação entre ansiedade normal e patológica (retirado de BRANDÃO, 2004).

1.2. Distúrbios de Ansiedade

O diagnóstico de um fenômeno psicológico como normal ou patológico pode ser subjetivo. Foucault, em *Doença Mental e Psicologia* (reeditado em 2000, p. 64), dizia que a dificuldade em classificar as doenças mentais devia-se ao fato de se aplicar a estas as mesmas regras das orgânicas. Disse “gostaríamos de mostrar que a raiz da patologia mental não deve ser procurada em uma ‘metapatologia’ qualquer, mas numa certa relação, historicamente situada, entre o homem e o homem louco e o homem verdadeiro”. Assim sendo, no intuito de diferenciar a ansiedade “normal” e a patológica leva-se em conta o contexto e os possíveis desencadeantes e as características individuais do sujeito, para que seja determinado se essas manifestações são desproporcionais em intensidade, duração, interferência com o desempenho, ou frequência com que ocorrem (GENTIL, 1997).

A ansiedade patológica pode ser tanto resultado de outras doenças, psiquiátricas ou não, sendo denominada secundária, ou pode ser a manifestação principal ou única do quadro clínico, sendo assim, denominada primária (GRAEFF, 1999). Muitas classificações e denominações foram utilizadas ao longo da história. Uma das primeiras foi a de Cullen em 1772 (LAPLANCHE, 1992, p. 84), que dizia que “esse sentimento de angústia poderia ser causado por certo grupo de afecções, contrárias à natureza dos sentimentos e do movimento, as quais não dependem de lesão tópica dos órgãos e sim de alterações gerais de todo o sistema, com repercussões especialmente sobre a motilidade e o pensamento”. Beard, em 1869 (LAPLANCHE, 1992), introduziu o conceito de “neurastenia”, incluindo graus menores de ansiedade e depressão leve. Hecker, em 1893 (LAPLANCHE, 1992), incluiu a estes conceitos os ataques de ansiedade. Freud, dois anos depois, separou a “neurose de angústia” da neurastenia e Kraepelin, no ano seguinte, descreveu o que chamamos hoje de estresse pós-traumático. 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” (reeditado em 1970, p. 24). Na mesma obra, disse sobre a ansiedade: “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, p. 29). Para Freud, a ansiedade podia ainda ser classificada 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. Após a 2ª Guerra Mundial, foram formuladas as classificações internacionais de doenças como a da Associação Psiquiátrica Americana, DSM (sigla derivada do inglês *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders*, formulada pela Associação Norte-Americana de Psiquiatria - AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION), hoje em sua 4ª edição revisada (DSM-IVR), e a Classificação Internacional de Doenças – CID (formulada pela ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE), hoje em sua 10ª edição.

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 a versão revisada do DSM-IV (DSM-IVR).

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

Transtorno obsessivo-compulsivo não especificado

Reação a estresse grave

Reação aguda a estresse

Transtorno de estresse pós-traumático

Transtornos de ajustamento

(retirado de ANDRADE, L.H.S.G. *et al.*, 1997)

Tabela 2 - Classificação dos transtornos ansiosos segundo a versão revisada do DSM-IV (DSM-IVR)

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 de ANDRADE, L.H.S.G. *et al.*, 1997)

Dentre os distúrbios de ansiedade, os de maior prevalência na população são o distúrbio de ansiedade generalizada e o distúrbio do pânico (que serão discutidos mais detalhadamente no próximo tópico), a fobia específica, a fobia social e o distúrbio obsessivo-compulsivo. Segundo o DSM-IVR, as fobias específicas são caracterizadas pelo medo acentuado e persistente de objetos ou situações claramente discerníveis e circunscritos e a exposição ao estímulo fóbico provoca, quase que invariavelmente, imediata resposta de ansiedade. Sendo assim, 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. Embora essas fobias tenham alta prevalência na população (até 9%), geralmente não atrapalham a vida social do indivíduo (AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION, 1999).

A fobia social, ao contrário das fobias específicas, geralmente causa grande prejuízo à vida social do indivíduo. Sua prevalência na população, no entanto, é menor, cerca de 3%. De acordo com o DSM-IVR, 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 situações provoca quase que imediatamente uma resposta de ansiedade (AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION, 1999).

O distúrbio obsessivo-compulsivo tem uma prevalência de aproximadamente 2,5% na população mundial. Pelo critério de classificação do DSM-IVR, esse distúrbio se manifesta na forma de obsessões ou compulsões recorrentes que, em geral, consomem tempo, causando prejuízo ou sofrimento ao indivíduo. As obsessões são idéias, pensamentos, impulsos ou imagens persistentes, que são vivenciados como intrusivos e inadequados, causando acentuada ansiedade ou sofrimento e cujo objetivo é prevenir ou reduzir a ansiedade ou sofrimento. Compulsões, por sua vez, são comportamentos repetitivos que usualmente não oferecem prazer ou gratificações (AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION, 1999).

O distúrbio de estresse pós-traumático tem como principal característica recordações recorrentes de uma experiência traumatizante sendo revivida como se o

evento estivesse novamente ocorrendo. Essas experiências traumatizantes são sempre situações de estresse intenso como estupros, assaltos, acidentes, guerras ou catástrofes naturais. Essas recordações devem persistir por mais de um mês para que o quadro clínico seja diagnosticado como estresse traumático (AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION, 1999).

1.2.1 Ansiedade Generalizada e Pânico

O distúrbio de ansiedade generalizada é um dos mais comumente diagnosticados, com uma prevalência média de 4,1% a 6,6% na população geral (DUGAS, 2000).

A ansiedade generalizada é atualmente definida pelo DSM-IVR (AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION, 1999) como um quadro clínico constituído por ansiedade e preocupação difíceis de serem controladas e que ocorrem por mais de seis meses. Essa ansiedade ou preocupação é acompanhada de no mínimo três sintomas adicionais que podem ser fadiga, dificuldade de concentração, irritabilidade, tensão muscular e distúrbios do sono. A intensidade, duração ou frequência da ansiedade ou preocupação é desproporcional ao evento ocorrido. O diagnóstico deve excluir distúrbio de pânico, fobia social, distúrbio obsessivo-compulsivo, distúrbios alimentares, hipocondria e estresse pós-traumático. Embora os indivíduos com distúrbio de ansiedade generalizada nem sempre sejam capazes de identificar suas preocupações como "excessivas", eles relatam sofrimento subjetivo devido à constante preocupação, têm dificuldade em controlar a preocupação, ou experimentam prejuízo no funcionamento social ou ocupacional ou em outras áreas importantes. A intensidade,

duração ou freqüência da ansiedade ou preocupação são claramente desproporcionais à real probabilidade ou impacto do evento temido.

O distúrbio do pânico tem prevalência na população menor que o distúrbio de ansiedade generalizada, ficando em torno de 0,5% a 3%, segundo a literatura (GENTIL, 1997). A principal característica do distúrbio de pânico é o surgimento inesperado de ataques de pânico seguido de preocupação de um novo ataque por pelo menos um mês. O ataque de pânico não pode ser causado pelo uso de substâncias, condições médicas gerais, como hipertireoidismo, nem por outros distúrbios mentais, como fobia social, distúrbio obsessivo-compulsivo, distúrbio do estresse pós-traumático, entre outros. Para o diagnóstico de distúrbio de pânico é necessário que o indivíduo tenha experimentado pelo menos quatro ataques em quatro semanas.

Um ataque de pânico é descrito como não tendo uma causa aparente, não estando associado a um ativador situacional, necessitando de dois episódios para o diagnóstico. Sujeitos que têm ataques de pânico geralmente apresentam predisposição ao distúrbio de pânico.

Apesar do diagnóstico do distúrbio do pânico incluir a condição básica de que pelo menos alguns dos ataques sejam inesperados, indivíduos portadores de pânico freqüentemente relatam a ocorrência de ataques relacionados a uma situação desencadeadora. O distúrbio do pânico pode ou não ser acompanhado de agorafobia.

1.3. Ansiedade e Farmacoterapia

A ansiedade provoca uma sensação de desconforto, muitas vezes, impedindo ou interferindo acentuadamente com a continuidade das atividades rotineiras de um

indivíduo. Assim, muitos medicamentos para o seu tratamento vêm sendo testados e desenvolvidos. Os ansiolíticos, palavra que significa figuradamente “o que decompõe a ansiedade” (GRAEFF, 1999), surgiram já no começo do século XX, quando ainda eram utilizados os barbitúricos para o tratamento destes distúrbios ansiosos. O excesso de contra-indicações dos barbitúricos, como alta sonolência, baixo índice terapêutico (dose terapêutica próxima da dose letal), depressão respiratória, levou à procura de outras drogas com menos efeitos colaterais e mais eficientes para o tratamento destes distúrbios. Na década de 60, foram introduzidos na terapêutica os benzodiazepínicos (BZDs) (MILANI & GRAEFF, 1987), mas sua ineficácia em certos subtipos de ansiedade (NUTT, 1991), e seus efeitos colaterais, como sedação e incoordenação motora, proporcionaram a busca por medicamentos mais específicos e eficazes para o tratamento dos diversos tipos de distúrbios de ansiedade. Atualmente, o agonista do receptor serotoninérgico do tipo 1A, buspirona, vem sendo prescrito para o tratamento de ansiedade generalizada, e compostos inibidores da recaptação de serotonina (5-HT), como os antidepressivos tricíclicos, vêm sendo utilizados para o tratamento do distúrbio do pânico.

1.4. Modelos Experimentais de Ansiedade

Por meio de modelos animais, tenta-se reproduzir, em laboratório, determinados aspectos da ansiedade. Na maioria dos modelos animais existentes, a ansiedade é inferida a partir das respostas comportamentais de defesa dos animais frente a estímulos aversivos. Nos atuais modelos de ansiedade, o nível de ameaça pode ser classificado como potencial, distal e proximal e as medidas são feitas através das estratégias comportamentais dos animais frente a estes estímulos. O perigo potencial

leva a uma estratégia de exploração e avaliação de risco. Já o perigo distal induz ou fuga ou imobilidade. Finalmente, o perigo proximal pode levar a comportamentos de fuga ou luta defensiva (GRAEFF & ZANGROSSI JR, 2002).

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, 1999). Este modelo consiste na apresentação de um estímulo aversivo (choque elétrico) quando o animal emite o comportamento de pressionar a barra concomitante à apresentação de alimento. Apesar de ter sido muito utilizado, este modelo apresenta problemas na validação farmacológica, uma vez que drogas não ansiolíticas podem reverter a supressão condicionada. Posteriormente, outros modelos foram desenvolvidos, como o modelo de conflito de Geller e Blum (1970). A ausência de resposta nestes modelos a ansiolíticos não-BZDs, somada a 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.

O labirinto em cruz elevado (LCE) baseia-se na premissa de que roedores evitam locais abertos, por serem presas principalmente de aves de rapina, demonstrando sinais de medo, como congelamento e fuga (HANDLEY & MITHANI, 1984). O modelo é constituído por dois braços fechados (circundados por paredes), dispostos perpendicularmente a dois braços abertos. A frequência de entradas e o tempo de permanência nos braços abertos do modelo fornecem índices do nível de ansiedade do animal (RODGERS *et al.*, 1997). Em geral, os animais tendem a apresentar uma maior atividade exploratória dos braços fechados do LCE. Entretanto, quando tratados com

drogas ansiolíticas, como os BZDs, observa-se um aumento na frequência de entradas e tempo de permanência nos braços abertos. Por outro lado, o LCE parece não responder previsivelmente a drogas ansiolíticas de ação serotoninérgica (HANDLEY & MCBLANE, 1993). A observação de que no LCE o animal pode apresentar diferentes respostas comportamentais de defesa somada à ausência de efeito de determinadas classes de drogas ansiolíticas no modelo levou alguns autores a sugerirem que o LCE é, na verdade, um modelo misto de ansiedade, ou seja, não seletivo aos diferentes subtipos de ansiedade encontrados na clínica (HANDLEY & MCBLANE, 1993; GRAEFF & ZANGROSSI JR., 2002).

1.4.1. Labirinto em T Elevado

O modelo do labirinto em T elevado (GRAEFF *et al.*, 1993; VIANA *et al.*, 1994; ZANGROSSI, Jr. & GRAEFF, 1997) foi desenvolvido a partir do modelo do labirinto em cruz elevado (HANDLEY & MITHANI, 1984; PELLOW *et al.*, 1985; PELLOW & FILE, 1986). O modelo constitui-se de um braço fechado localizado perpendicularmente a dois braços abertos e foi criado na tentativa de permitir a medida de dois comportamentos negativamente motivados: a esquiva inibitória e a fuga de uma via. Durante o experimento, os animais são colocados na parte distal do braço fechado para as medidas de esquiva inibitória, obtidas através da quantificação das latências de saída do braço. Em seguida, os ratos são colocados na extremidade distal de um dos braços abertos do modelo e a latência de saída deste braço é também quantificada para a obtenção das medidas de fuga. Estudos com três classes de ansiolíticos – o agonista de receptores BZDs diazepam, o agonista 5-HT_{1A} buspirona, e o antagonista não seletivo de receptores 5-HT₂ ritanserina, demonstraram que estas drogas

prejudicam a esquia inibitória sem alterar as medidas de fuga do braço aberto do labirinto em T elevado (GRAEFF *et al.*, 1998). Evidências clínicas mostram que o distúrbio de ansiedade generalizada é sensível a estas classes de ansiolíticos (DAVIDSON, 2001; NUTT, 1991), o que corrobora a hipótese de que a esquia inibitória está relacionada ao distúrbio de ansiedade generalizada. Por outro lado, a administração crônica em ratos de compostos utilizados na clínica no tratamento do distúrbio do pânico, como a imipramina (CUSTÓDIO-TEIXEIRA *et al.*, 2000) e a fluoxetina (POLTRONIERI *et al.*, 2003) apresenta efeito ansiolítico sobre a medida de fuga do braço aberto, o que corrobora a hipótese de que esta tarefa pode ser utilizada como um possível modelo experimental de pânico. Entretanto, estes últimos resultados foram obtidos somente após a inclusão de um novo parâmetro no procedimento do teste: a pré-exposição, por 30 minutos, dos animais ao braço aberto do labirinto em T elevado, um dia antes dos testes. Esta modificação resultou em uma diminuição na latência de saída do braço aberto, sugerindo que com a pré-exposição, o caráter exploratório é diminuído, ou seja, os animais fogem do perigo e não apenas caminham em direção ao braço fechado.

Comparado aos testes de conflito ou punição tradicionais, o labirinto em T elevado possui a vantagem de não envolver outros processos psicobiológicos como fome, sede ou dor, que dificultam a análise dos resultados em termos de ansiedade unicamente.

Um estudo realizado por Zangrossi Jr. e Graeff (1997) demonstrou que a fuga do braço aberto não sofre habituação mesmo após 5 tentativas seguidas, o que comprova o caráter aversivo do estímulo. Ainda, no mesmo estudo, foi também demonstrado que o animal não foge da mão do experimentador na primeira medida de esquia (linha de

base), dado este obtido por meio do confinamento do animal por 30 segundos na extremidade distal do braço fechado. Foi verificado ainda que, através deste procedimento, a latência da linha de base não diferia da latência obtida com o protocolo padrão.

Outros estudos utilizaram a injeção intracerebral de diferentes compostos no núcleo dorsal da rafe (NDR), onde estão localizados parte importante dos corpos neuronais de neurônios serotonérgicos, para verificar os efeitos da manipulação da neurotransmissão mediada pela 5-HT sobre as medidas da esquiva inibitória e fuga do labirinto em T elevado. Inicialmente, Graeff e colaboradores (1997) optaram pela administração de duas drogas intra-NDR: FG 7142 (um agonista inverso de receptores BZDs) e ácido caínico (um aminoácido excitatório). Quando administradas intra-NDR, era de se esperar que ambas as drogas aumentassem a liberação de 5-HT nas regiões inervadas por neurônios oriundos do núcleo, daí provindo os seus efeitos comportamentais. Os resultados mostraram que a administração intra-NDR de FG 7142 facilitou a esquiva inibitória, efeito ansiogênico, não afetando, entretanto, a fuga de um dos braços abertos do modelo. Por sua vez, a microinjeção intra-NDR de ácido caínico também facilitou a esquiva, efeito ansiogênico, prejudicando adicionalmente a fuga de uma via, efeito panicolítico (GRAEFF *et al.*, 1996; 1997).

Para verificar os efeitos da inibição dos terminais de 5-HT provenientes do NDR, Graeff e colaboradores (1997) utilizaram a injeção intracerebral de 8-OH-DPAT (um agonista 5-HT_{1A}) no NDR. Por atuar em receptores autossômicos inibitórios, era de se esperar que a administração da droga diminuísse a liberação de 5-HT nos terminais. Os resultados com o labirinto em T elevado mostraram que o 8-OH-DPAT diminuiu a

latência de esquiva inibitória dos braços abertos, efeito ansiolítico. No entanto, a fuga permaneceu inalterada. Somados, os dados obtidos com o FG 7142, ácido caínico e 8-OH-DPAT no labirinto em T elevado sugerem a participação da neurotransmissão serotoninérgica oriunda do NDR nas respostas comportamentais de defesa medidas pelo modelo.

Em estudos posteriores, utilizando-se a inclusão da pré-exposição do animal ao braço aberto do labirinto em T elevado, Sena e colaboradores (2003) reavaliaram os efeitos da administração intra-NDR do agonista 5-HT_{1A} 8-OH-DPAT e do agonista inverso BZD FG 7142, tendo em vista que os efeitos inicialmente obtidos com estas drogas restringiam-se à alteração da esquiva inibitória. De maneira semelhante aos resultados anteriores obtidos por Graeff e colaboradores (1996; 1997), a microinjeção intra-NDR de 8-OH-DPAT diminuiu a latência da esquiva inibitória do braço aberto do labirinto em T elevado (efeito ansiolítico), mas ao contrário dos resultados anteriores, neste estudo, houve também diminuição da latência de fuga do braço aberto, efeito panicogênico. De maneira oposta ao obtido com o 8-OH-DPAT, a administração do FG 7142 aumentou tanto a latência de esquiva inibitória, efeito ansiogênico, quanto a de fuga do braço aberto do modelo, efeito panicolítico. Este trabalho confirmou a importância do procedimento de pré-exposição para a avaliação do efeito de diferentes drogas sobre as medidas de fuga do labirinto em T elevado.

1.4.2. Modelo da Transição Claro-Escuro

Outro modelo de ansiedade que vem sendo utilizado por ter validade farmacológica e não envolver processos de privação é o modelo da transição claro-escuro. Este modelo foi desenvolvido por Crawley & Goodwin (1980) e é baseado na

aversão natural de roedores a lugares iluminados. A medida de ansiedade no modelo da transição claro-escuro (CHAOULOFF *et al.*, 1997; CRAWLEY & GOODWIN, 1980) é inferida pelo número de transições entre os dois compartimentos e o tempo gasto no compartimento claro. A situação de conflito é gerada pela tendência do animal em explorar e, ao mesmo tempo, evitar lugares iluminados. Tem sido demonstrado que drogas BZDs alteram as medidas de número de transições e tempo gasto pelos animais no compartimento claro do modelo (CHAOULOFF *et al.*, 1997). Uma vez que drogas BZDs são preferencialmente utilizadas para o tratamento do distúrbio da ansiedade generalizada (NUTT, 1991), os resultados obtidos com esta classe de drogas no modelo sugerem sua relação com este subtipo de ansiedade.

Vários trabalhos têm também demonstrado efeitos ansiolíticos no modelo de um outro composto utilizado terapeuticamente para o tratamento da ansiedade generalizada (NUTT, 1991), o agonista 5-HT_{1A} buspirona. Nestes estudos, a droga parece aumentar principalmente o tempo gasto no compartimento claro do modelo sem alterar o número de transições entre compartimentos (ARTAIZ *et al.*, 1998; CARLI *et al.*, 1989; COSTALL *et al.*, 1992; COSTALL *et al.*, 1989; COSTALL *et al.*, 1988; ONAIVI & MARTIN, 1989; SANCHEZ, 1995; SANCHEZ, 1996).

Com base nestas evidências farmacológicas, o modelo da transição claro-escuro tem sido proposto como relacionado à ansiedade generalizada (GRAEFF & ZANGROSSI JR, 2002).

1.5. Bases Neurofuncionais da Ansiedade

A investigação das bases neurofuncionais da ansiedade tem sido feita principalmente a partir de estudos conduzidos com animais de laboratório. A partir

destes estudos, tem sido observado que, embora a natureza dos sinais de perigo, bem como a topografia dos comportamentos de defesa, variem com a espécie ou gênero animal, algumas estratégias padronizadas são adotadas. Estas se relacionam com diferentes graus de ameaça com que o animal se defronta no seu meio ambiente (GRAEFF, 1993).

Blanchard e Blanchard (1988) propuseram uma análise dos comportamentos defensivos de ratos e camundongos frente a estímulos diferenciados de perigo. Três estratégias comportamentais de defesa foram preferencialmente avaliadas pelos pesquisadores: o *risk assessment behavior* (comportamento de avaliação de risco), o *freezing* (congelamento) e a fuga. O *risk assessment behavior* ou comportamento de avaliação de risco parece ocorrer em situações potencialmente perigosas. Neste caso, o animal mantém o corpo distendido, com o ventre rente ao solo, avançando e recuando a cabeça, repetidamente e, ao menor sinal de perigo, reage com uma intensidade bem maior do que reagiria em situações seguras. Em casos onde os sinais de perigo tornam-se explícitos, porém se encontram a certa distância do animal, a reação típica apresentada pelos animais é a de *freezing* ou congelamento. Quando a fuga é impossível, o animal apresenta uma inibição da atividade vigente, permanecendo completamente imóvel – exceto por movimentos ocasionais e rápidos das vibrissas. Esta imobilidade é acompanhada, entretanto, por uma série de alterações autonômicas e neurovegetativas. Por fim, o comportamento de fuga ocorre quando o perigo é explícito e encontra-se próximo do animal. E, por último, se a fuga for impossível, resta a luta defensiva. A tabela 3 mostra a correlação entre os comportamentos defensivos, as estruturas do Sistema Nervoso supostamente envolvidas com estes comportamentos e o tipo de ansiedade correlacionada em termos psicopatológicos.

Tabela 3 - Níveis de defesa, substrato neural, emoção relacionada

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

Adaptada de GRAEFF E ZANGROSSI JR., 2002.

Como é possível notar na tabela acima, os diversos comportamentos defensivos evocados por estímulos diferentes estariam relacionados a estruturas distintas do sistema nervoso central.

1.6. Substância Cinzenta Periaquedutal (SCP)

Além do NDR, outras duas estruturas que têm sido bastante estudadas para a elucidação dos substratos neurais dos mecanismos de defesa e ansiedade são a SCP e o hipotálamo medial.

A SCP (fig 2) é uma estrutura mesencefálica que circunda o aqueduto de Sylvius, sendo que sua parte mais rostral está ao nível da transição entre o diencéfalo e

mesencéfalo e, a parte mais caudal, chega da abertura do aqueduto cerebral à cavidade do IV ventrículo, no limite caudal dos corpos quadrigêmeos.

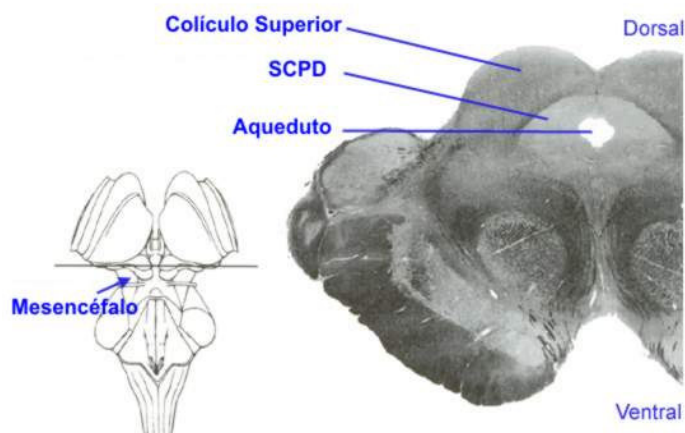


Fig. 2 – Estruturas Mesencefálicas

Estudos sugerem que a organização anatômica da SCP é expressa na forma de colunas neuronais que se estendem por várias distâncias ao longo do eixo rostrocaudal (BANDLER *et al.*, 1991; CARRIVE, 1993). Através de estudos com aminoácidos excitatórios em gatos foi proposta a existência de quatro colunas neuronais longitudinais na SCP: a dorsomedial, a dorsolateral, a lateral e a ventrolateral (BANDLER *et al.*, 1991).

A SCP está innervada por uma abundante rede de vias aferentes provenientes de áreas límbicas prosencefálicas (BEITZ, 1990; SHIPLEY *et al.*, 1991). Entre as principais aferências que alcançam a SCP estão as provenientes do hipotálamo, dos núcleos medial, central e basolateral da amígdala, das camadas profundas do colículo superior, do córtex pré-frontal, do córtex insular, do *locus coeruleus*, do núcleo magno e pálido da rafe, além dos núcleos reticulares do tronco encefálico (BEHBEHANI *et al.*, 1988;

BEITZ, 1990; BEITZ *et al.*, 1986; CARSTENS *et al.*, 1990; RIZVI *et al.*, 1991; RIZVI *et al.*, 1992; VEENING *et al.*, 1991).

Quanto às eferências da SCP estas são divididas em projeções ascendentes e descendentes, que são essenciais para a regulação de diversas funções de natureza sensorial, motora e autonômica. Assim, a SCP está relacionada à regulação autonômica como processamento/modulação da dor, vocalização e medo/ansiedade (BEHBEHANI, 1995).

1.6.1 Substância Cinzenta Periaquedutal Dorsal (SCPD) e Defesa

Estudos mostram que a porção dorsal da SCP (SCPD) encontra-se relacionada a reações de defesa em resposta ao perigo proximal, o que tem sido chamado de defesa ativa (GRAEFF, 1981; COIMBRA *et al.*, 2006; MARTINEZ *et al.*, 2006; Vianna *et al.*, 2001). Quando a espécie possui meios para a luta a tendência é a postura ofensiva. Neste caso, os animais mostram dentes, garras e emitem vocalizações ameaçadoras, no intuito de evitar a agressão. No entanto, quando a espécie não possui um arsenal ameaçador frente ao perigo, a tendência é o comportamento de fuga. O sistema neural responsável pela defesa ativa é representado pela SCPD (GRAEFF, 1999). Os primeiros relatos da participação desta estrutura na defesa ativa datam de 1956, quando Hunsperger estimulou eletricamente a SCPD de gatos, provocando respostas de fuga e luta. Essa mesma técnica foi utilizada em ratos, produzindo também comportamento de fuga (WOLFLE *et al.*, 1971). Pesquisadores liderados por S. M. Hilton (1986) mostraram que a estimulação das áreas de defesa desencadeava também alterações do sistema neurovegetativo, como aumento da pressão arterial, taquicardia,

vasodilatação dos músculos estriados e hiperventilação. Essas alterações dão sustentação aos comportamentos vigorosos de fuga e luta (GRAEFF, 1999).

O caráter aversivo da estimulação elétrica pode ser evidenciado em inúmeros trabalhos onde animais aprendem a executar tarefas com o intuito de interromper a estimulação elétrica da SCPD (FANSELOW, 1991; OLDS & OLDS, 1962; SANDNER *et al.*, 1987; SCHENBERG & GRAEFF, 1978).

A SCPD tem sido relacionada ao distúrbio do pânico há algumas décadas. Relatos de pacientes submetidos a neurocirurgias, que tinham esta estrutura estimulada, corroboram esta teoria (NASHOLD, Jr. *et al.*, 1969). Esses pacientes diziam que após a estimulação sentiam pavor e uma sensação de morte iminente. Além disso, os pacientes apresentavam intensas manifestações neurovegetativas. Esse conjunto de sinais e sintomas assemelha-se aos observados durante ataques de pânico. É neste sentido que diversos autores sugerem que a resposta de fuga induzida pela ativação da SCPD esteja relacionada com aspectos sintomatológicos do distúrbio do pânico (GRAEFF, 1988; 1990; 1991; DI BORTOLI *et al.*, 2006; BERTOGLIO & ZANGROSSI, 2005; MOREIRA & GUIMARÃES, 2005; MEZZASALMA *et al.*, 2004).

Fazendo uma correlação com resultados conseguidos com pacientes portadores do distúrbio do pânico, drogas utilizadas na clínica para essa psicopatologia também inibem respostas de fuga induzida pela estimulação elétrica da SCPD. Schenberg *et al.* (2001) observaram que a administração crônica de clomipramina e fluoxetina, duas drogas com ação terapêutica contra o pânico, aumentava o limiar da estimulação elétrica da SCPD, capaz de induzir respostas de fuga desabalada, efeito este anti-aversivo. Por outro lado, o pentilenotetrazol, uma droga panicogênica em humanos, diminui o limiar de estimulação elétrica da SCPD capaz de evocar a fuga em ratos,

efeito pró-aversivo (SCHENBERG *et al.*, 2001; VARGAS & SCHENBERG, 2001). Mais recentemente, Hogs e colaboradores (2006) obtiveram resposta similar com a administração dos inibidores seletivos da recaptação de serotonina citalopram, fluoxetina, escitalopram e paroxetina, e também com o agonista BZD alprazolam. Ainda reforçando esta idéia, a resposta de fuga após a estimulação elétrica da SCPD provoca um aumento na ativação desta estrutura, como pode ser constatado em um estudo imunohistoquímico com Fos (VIANNA *et al.*, 2003).

Assim como a estimulação elétrica, a estimulação química da SCPD provoca comportamentos típicos do sistema defensivo. Miguel e Nunes de Souza (2006) injetaram o agonista glutamatérgico NMDA intra-SCPD e observaram um aumento nas respostas de congelamento e fuga. Ratos testados no labirinto em T elevado fugiram mais rapidamente na medida de fuga de uma via do braço aberto, comportamento considerado panicogênico, após a microinjeção intra-SCPD no neuropeptídeo CCK-8 (ZANOVELI *et al.*, 2004).

A elaboração de estados motivacionais aversivos é modulada por mecanismos serotoninérgicos, glutamatérgicos e GABAérgicos. Com relação aos mecanismos GABAérgicos, que também serão investigados no presente trabalho, Graeff e colaboradores (1986) demonstraram que a microinjeção de GABA, assim como de clordiazepóxido e pentobarbital, aumentaram o limiar da estimulação elétrica na SCPD capaz de induzir a fuga. Neste mesmo trabalho, os autores demonstraram que outras drogas agonistas de receptores GABAérgicos do tipo A, como a isoguvacina, o THIP e o muscimol, o agonista GABA_B baclofen, e o agonista BZD midazolam provocaram efeito anti-aversivo neste teste. Por outro lado, tanto a bicuculina quanto a picrotoxina, ambos antagonistas GABA_A, induzem resposta de fuga semelhante à observada com a

estimulação elétrica desta mesma estrutura mesencefálica (BRANDAO *et al.*, 1982; DI SCALA *et al.*, 1984; GRAEFF *et al.*, 1986; EICHENBERGER *et al.*, 2002). Estes últimos resultados reforçam a idéia de que o sistema GABA/BZD da SCPD encontra-se sob a influência inibitória tônica do GABA. Mais recentemente foi demonstrado que a administração IP do agonista GABAérgico diazepam também provoca um efeito anti-aversivo após a estimulação elétrica da SCPD (JUNG *et al.*, 2001). Ainda, a administração intra-SCPD do agonista inverso BZD FG 7142 potencializa a fuga no labirinto em cruz elevado instável (JONES *et al.*, 2002). Finalmente, Borelli e colaboradores (2006) mostraram também que a estimulação de uma outra estrutura do teto mesencefálico, os colículos inferiores, também provoca respostas defensivas, tais como congelamento e fuga, e a administração de bicuculina e semicarbazida nesta região aumenta a expressão de Fos na SCPD.

1.7. Hipotálamo

O hipotálamo é uma estrutura diencefálica que está envolvida com a regulação homeostática do corpo, sendo que seus efeitos são exercidos por meio do sistema endócrino, autônomo e motor somático (NOBACK *et al.*, 1999). Entre suas principais funções estão o equilíbrio hidroeletrolítico, a ingestão de alimentos, temperatura e pressão arterial (HAINES, 2006). Além da regulação de funções víscero-motoras, o hipotálamo tem papel fundamental nos circuitos neurais que promovem modificações comportamentais, através do sistema límbico (HAINES, 2006).

Situado na região basal do diencéfalo, o hipotálamo tem como limite rostral a lâmina terminal, que separa o hipotálamo dos núcleos septais mais rostrais, caudalmente tem o teto mesencefálico como limite e é dividido em núcleos e três

regiões principais: a lateral, a medial e a periventricular (NOBACK *et al*, 1999; HAINES, 2006). A região periventricular está diretamente relacionada com o controle endócrino e homeostático do organismo, a região lateral conecta-se com o tronco encefálico através do feixe prosencefálico medial e a região medial é a região que está envolvida com os comportamentos motivados, compreendendo núcleos como o hipotálamo ventromedial, e contendo fibras de passagem que recebem e enviam informações ao sistema límbico (THOMPSON & SWANSON, 1998; SWANSON *et al*, 1996).

Dentre os comportamentos motivados com os quais o hipotálamo está relacionado, podemos citar o comportamento defensivo e as emoções a ele relacionadas, o medo e a ansiedade. Experimentos comandados por Bard (1928) e Hess e Brugger (1943) com a estimulação elétrica do hipotálamo de gatos provocaram uma série de reações autonômicas e neurovegetativas em adição a comportamentos defensivos típicos da espécie. Mais recentemente, estudos mostram que a estimulação elétrica do hipotálamo produz reações de defesa somato-motoras e autonômicas (AZEVEDO *et al*, 1980; BRUTUS *et al*, 1985; FUCHS *et al*, 1985; LIPP & HUNSPERGER, 1978; YARDLEY & HILTON, 1986). Comportamentos semelhantes podem ser mimetizados através da administração intra-hipotalâmica de drogas que reduzem a transmissão GABAérgica (DI SCALA *et al*, 1984; SCHMIDT *et al*, 1984; BRANDÃO *et al*, 1986, MILANI & GRAEFF, 1987; SHEKHAR *et al*, 1990). Ademais, a administração intra-hipotalâmica de agonistas GABAérgicos pode reverter o efeito aversivo provocado pela administração prévia de ácido caínico na estrutura (SILVEIRA *et al*, 1992).

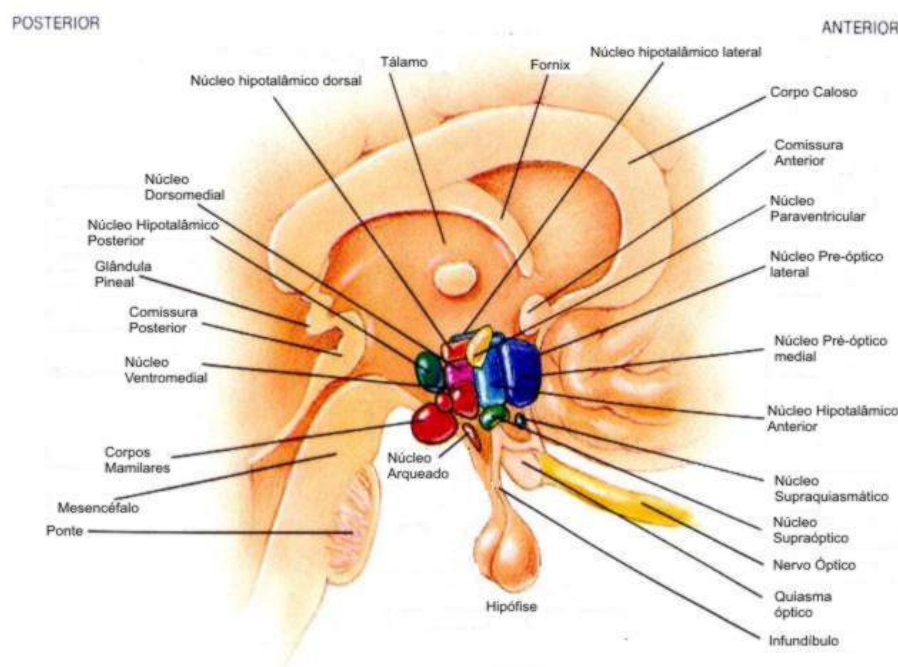


Fig. 3 – Núcleos Hipotalâmicos (alterado de NETTER, 2003)

1.7.1. Hipotálamo Medial: a Porção Dorsomedial do Hipotálamo Ventromedial (DHVM)

A área medial do hipotálamo tem sido descrita como um sistema defensivo, composto basicamente por três núcleos principais, o anterior, o ventromedial e o premamilar dorsal (THOMPSON & SWANSON, 1998). Aliada a observações anatômicas, evidências comportamentais sugerem a implicação dessa região com a defesa. Neste sentido, um estudo realizado por Canteras e colaboradores (1997) com a técnica de imunorreatividade à proteína Fos mostrou, por exemplo, que a exposição direta ao predador, capaz de evocar comportamento de *freezing*, saltos e respostas de fuga em ratos, era também capaz de aumentar a expressão de Fos nestes três sítios específicos da região medial. Entretanto, é interessante salientar que no estudo de Canteras e colaboradores (1997), imunorreatividade à proteína Fos foi também

observada em outras regiões hipotalâmicas, como a área pré-óptica lateral e o núcleo dorsomedial.

O sistema defensivo do hipotálamo medial recebe aferências principalmente de áreas prosencefálicas, em especial dos núcleos medial e basomedial da amígdala, da área septal lateral, e do córtex pré-frontal (THOMPSON & SWANSON, 1998). Além disso, outros núcleos hipotalâmicos, em especial núcleos da região lateral do hipotálamo, também enviam projeções para o hipotálamo medial (THOMPSON & SWANSON, 1998). Finalmente, alguns sítios do tronco encefálico se comunicam com o hipotálamo medial, em especial o núcleo pré-comissural, a porção dorsolateral da SCP, a região parabraquial e o núcleo tegmental ventral (THOMPSON & SWANSON, 1998).

Por sua vez, o hipotálamo medial envia projeções ao septo lateral, estria terminal e amígdala lateral, no telencéfalo; tálamo dorsal e ventral, no diencéfalo; e no tronco encefálico, o núcleo pré-comissural e SCP representam os principais alvos do hipotálamo medial (THOMPSON & SWANSON, 1998). Além disso, os núcleos do hipotálamo medial comunicam-se com outros núcleos hipotalâmicos, como a área pré-óptica lateral, a região perifornical, o núcleo posterior e o núcleo dorsomedial (THOMPSON & SWANSON, 1998).

De fato, com exceção do núcleo pré-mamilar, os outros dois componentes do hipotálamo medial enviam projeções ao núcleo dorsomedial do hipotálamo (THOMPSON AND SWANSON, 1998; CANTERAS, 2002). Tem sido demonstrado que o núcleo dorsomedial, à semelhança dos três núcleos do hipotálamo medial supracitados, também parece ser ativado por uma série de situações estressantes, como choque elétrico nas patas, contenção, nado forçado, desidratação e exposição a

um predador (CULLIMAN *et al*, 1995, 1996; CANTERAS *et al*, 1997; LI & SAWCHENKO, 1998). Com base nestas observações, tem sido sugerido que o núcleo dorsomedial é uma das principais partes desse sistema defensivo hipotalâmico, exercendo importantes funções no que diz respeito à regulação de respostas cardiovasculares ao estresse, como o fluxo sanguíneo do miocárdio e a taquicardia associada a respostas comportamentais de defesa (BERNARDIS & BELLINGER, 1998). Entretanto, é interessante salientar que embora o núcleo dorsomedial tenha sido tradicionalmente visto como pertencendo ao hipotálamo medial, alguns estudos neuroanatômicos mais recentes têm sugerido que ele deveria ser considerado como parte da região periventricular (THOMPSON & SWANSON, 1998; CANTERAS, 2002).

No presente trabalho, optamos por investigar a relação de um sítio específico da região medial com a defesa: a porção dorsomedial do hipotálamo ventromedial (DHVM). A relação do DHVM com a defesa vem sendo reforçada a partir de uma série de estudos comportamentais realizados nos últimos anos. Foi demonstrado, por exemplo, que a administração intra-DHVM do antagonista de receptores GABA_A bicuculina diminuiu o tempo gasto no compartimento claro do modelo de transição claro-escuro, efeito ansiogênico (ZAGRODZKA *et al*, 2000). Por outro lado, a administração intra-DHVM de GABA apresentou efeito ansiolítico em tarefas que envolvem a esquiva como resposta de defesa, a esquiva de uma plataforma iluminada e a esquiva de uma situação potencialmente perigosa (TALALAENKO *et al*, 2001). Corroborando esses dados, foi demonstrado que a administração intra-DHVM do agonista BZD midazolam apresentou efeito ansiolítico nos modelos do labirinto em cruz elevado e teste do beber-punido de Vogel (JARDIM *et al.*, 2005). O mesmo foi obtido com a administração intra-

NDR do antagonista glutamatérgico AP7 (JARDIM et al., 2005). Esses resultados corroboram as observações imunohistoquímicas realizadas por Canteras e colaboradores (1997), que demonstraram a participação do núcleo na modulação de respostas comportamentais de defesa. Conforme já mencionado, no estudo citado, foi observado um aumento na expressão de Fos em núcleos da região medial do hipotálamo, inclusive no DHVM, após a exposição de ratos a um predador, um gato. Resultados similares foram obtidos quando os animais foram expostos ao odor de gato (STAPLES et al., 2005). Corroborando estes dados, a exposição do rato a um coleira impregnada com odor de gato aumentou o tempo gasto no esconderijo e a expressão de Fos no DHVM (DIELENBERG et al., 2001). Finalmente, a resposta de fuga após a estimulação elétrica da SCPD também provocou um aumento na ativação da proteína Fos no mesmo núcleo (VIANNA et al., 2003).

2. OBJETIVOS

A SCPD e o DHVM são parte de um substrato neural envolvido com respostas comportamentais de defesa. Receptores GABA/BZD parecem desempenhar um importante papel na mediação destas respostas. O objetivo do presente trabalho foi verificar o papel do sistema GABA/BZD da SCPD e DHVM, através da microinjeção do BZD midazolam (10, 20 e 40nmol/0,2 µl), do agonista GABA_A muscimol (2, 4 e 8 nmol/0,2 µl), do agonista inverso BZD FG 7142 (20, 40 e 80 pmol/0,2 µl) e do agonista GABA_B baclofen (2, 4 e 8 nmol/0,2 µl), sobre o comportamento de ratos submetidos a um modelo animal de ansiedade, o labirinto em T elevado, que permite a medida em um mesmo animal de dois tipos de respostas comportamentais negativamente motivadas: a esquiva inibitória e a fuga de uma via. Estas respostas têm sido relacionadas, em termos clínicos, ao distúrbio de ansiedade generalizada e ao distúrbio do pânico, respectivamente. Para a realização dos testes experimentais, no presente trabalho, animais foram pré-expostos a um dos braços abertos do labirinto em T e, um dia após a pré-exposição, microinjetados com as drogas supracitadas, e subsequentemente, testados no modelo. Após a avaliação do comportamento dos animais no labirinto, os animais administrados intra-SCPD foram submetidos ao modelo da transição claro-escuro. Este último modelo foi utilizado com o intuito de se estender a verificação dos efeitos das manipulações farmacológicas da estrutura sobre a esquiva inibitória do labirinto em T elevado, uma vez que tanto as medidas do claro-escuro quanto a medida de esquiva do labirinto respondem positivamente ao tratamento com BZDs e buspirona e, portanto, têm sido correlacionadas em termos clínicos à ansiedade generalizada. Entretanto, em função dos resultados observados com uma das drogas

administradas intra-SCPD, a utilização do modelo da transição claro-escuro não se estendeu para o grupo administrado intra-DHVM. Numa tentativa de evitar falsos negativos ou positivos devido ao efeito das drogas sobre a atividade exploratória, todos os animais foram testados em uma arena após os testes com o labirinto em T, para as medidas do número de cruzamentos e levantamentos.

3. Materiais e Método

3.1. Animais

Foram utilizados 242 ratos Wistar, machos, pesando entre 250 a 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 com no máximo 5 animais cada, no biotério do laboratório de Psicofarmacologia da Ansiedade, com ciclo de claro-escuro de 12 horas (claro, das 7:00 às 19:00) e temperatura de 22° C ($\pm 1^{\circ}\text{C}$). Durante todo o experimento, os animais tinham livre acesso à água e comida. Após a cirurgia, foram alojados em gaiolas de acrílico, aos pares, onde permaneciam por mais cinco dias quando eram iniciados os experimentos.

3.2. Cirurgia

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 fixados ao aparelho estereotáxico (Stoelting, EUA), com a barra dos incisivos 2,5 mm abaixo da linha interaural. Imediatamente após, recebiam subcutaneamente o anestésico local, cloridrato de lidocaína (Lidocaína 3%, PROBEM, Brasil), assim como pentabiótico veterinário (0,2 ml, Fort Dodge, Brasil) intramuscularmente.

Após a exposição do crânio e da devida assepsia do local, dois pequenos orifícios foram abertos: um para o parafuso, com o intuito de auxiliar a fixação de uma prótese de acrílico, e o segundo para a inserção da cânula-guia.

3.2.1 Cirurgia intra-SCPD

Foi utilizada cânula-guia de 13 mm de comprimento e 0,3 mm de diâmetro externo, inserida a 2 mm do SCPD seguindo as seguintes coordenadas: ângulo de 22°, +1,9 mm lateral ao lambda e -3,2 mm ventral à superfície do crânio (PAXINOS & WATSON, 1998).

3.2.2. Cirurgia intra-DHVM

Foi utilizada cânula-guia de 13 mm de comprimento e 0,3 mm de diâmetro externo, inserida a 2 mm do DHVM seguindo as seguintes coordenadas: ângulo de 0°, -3,0 mm antero-posterior ao bregma, +0,6 mm lateral e -7,2 mm ventral à superfície do crânio.

3.3. Microinjeção

Agulhas dentais de 15 mm de diâmetro externo, conectadas a uma seringa Hamilton de 10 µl através de um tubo de polietileno, foram introduzidas pela cânula-guia, após a remoção do mandril. Um minuto depois da introdução da agulha dental, iniciou-se a administração da droga ou veículo. Em todos os experimentos, um volume de 0,2 µl foi administrado por um minuto. Após a administração, a agulha permaneceu por 60 segundos adicionais no interior da cânula para evitar refluxos.

3.4. Drogas

Midazolam (nas doses de 10, 20 e 40 nmoles), baclofen (nas doses de 2, 4 e 8 nmoles) e muscimol (nas doses de 2, 4 e 8 nmoles) foram diluídos em salina (cloreto de sódio 0,9%). O FG 7142 (nas doses de 20, 40 e 80 pmoles) foi diluído em salina e Tween 80 2%. Todas as drogas foram conservadas no *freezer*, em *eppendorfs*, contendo 20 µl cada, até o dia dos experimentos.

3.5. Modelos Experimentais

3.5.1. Labirinto em T elevado (Figura 4)

O aparelho foi confeccionado em madeira, com 3 braços de iguais dimensões (50x12 cm). Um braço fechado, por paredes com 40 cm de altura, localizava-se 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 aparelho encontrava-se elevado a 50 cm do solo.



Figura 4 – Foto do Labirinto em T elevado

3.5.2. Arena (Figura 5)

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



Figura 5 – Foto da Arena

3.5.3. Modelo de Transição Claro-Escuro (Figura 6)

O aparelho utilizado neste teste consistiu de uma caixa construída em madeira (45x22x22 cm), com o piso constituído por barras paralelas de aço, espaçadas em 5 cm. A caixa foi dividida por meio de uma porta central em dois compartimentos, um claro (60 Lux) e um escuro, de iguais dimensões.



Figura 6 – Foto do modelo da transição claro-escuro

3.6. Procedimento

3.6.1. Experimento 1 - Microinjeção de midazolam intra-SCPD

LABIRINTO EM T ELEVADO: No dia seguinte à sua chegada ao biotério, os animais foram submetidos à cirurgia estereotáxica para implantação da cânula-guia na SCPD. Cinco dias depois, estes animais foram pré-expostos a um dos braços abertos do modelo do labirinto em T elevado, por um período de 30 min. Após 24 horas, cada animal recebeu uma microinjeção de midazolam (10, 20 e 40nmol/0,2 μ l) ou veículo (0,2 μ l) e, após dez minutos, foi colocado na extremidade distal do braço fechado do labirinto em T elevado, com a cabeça voltada para o centro do aparelho. Cronometrava-se a latência de saída, com as quatro patas, do braço fechado em direção ao aberto (latência basal). O animal foi, então, retirado do labirinto e colocado em uma caixa, por trinta 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 trinta segundos entre elas, para a aquisição das medidas de Fuga 2 e Fuga 3.

ARENA: Após a última medida de fuga, o animal foi colocado na arena e filmado por cinco minutos para posterior registro de número de cruzamentos e levantamentos.

MODELO DE TRANSIÇÃO CLARO-ESCURO – Após serem testados na arena, os animais foram colocados no compartimento claro do modelo da transição claro-escuro e foi cronometrado 5 minutos após a primeira entrada no compartimento claro, sendo

posteriormente registrados o número de transições entre compartimentos e o tempo gasto no compartimento claro.

3.6.2. Experimento 2 - Microinjeção de baclofen intra-SCPD

Idem ao item 5.6.1. com exceção que neste experimento os animais foram microinjetados intra-SCPD com baclofen (2, 4 e 8 nmol/0,2 µl) ou salina (0,2 µl).

3.6.3. Experimento 3 - Microinjeção de FG 7142 intra-SCPD

Idem ao item 5.6.1. com exceção que neste experimento os animais foram microinjetados intra-SCPD com FG 7142 (20, 40 e 80 pmol/0,2 µl) ou salina mais Tween 80 (0,2 µl).

3.6.4. Experimento 4 - Microinjeção de muscimol intra-SCPD

Idem ao item 5.6.1. com exceção que neste experimento os animais foram microinjetados intra-SCPD com muscimol (2, 4 e 8 nmol/0,2 µl) ou salina.

3.6.5. Experimento 5 - Microinjeção de midazolam intra-DHVM

Idem ao item 5.6.1. com exceção que neste experimento os animais foram microinjetados intra-DHVM com muscimol (2, 4 e 8 nmol/0,2 µl) ou salina e não foram submetidos ao modelo da transição claro-escuro.

3.6.6. Experimento 6 - Microinjeção de baclofen intra-DHVM

Idem ao item 5.6.1. com exceção que neste experimento os animais foram microinjetados intra-DHVM com muscimol (2, 4 e 8 nmol/0,2 µl) ou salina e não foram submetidos ao modelo da transição claro-escuro.

3.6.7. Experimento 7 - Microinjeção de FG 7142 intra-DHVM

Idem ao item 5.6.1. com exceção que neste experimento os animais foram microinjetados intra-DHVM com muscimol (2, 4 e 8 nmol/0,2 µl) ou salina e não foram submetidos ao modelo da transição claro-escuro.

3.6.8. Experimento 8 - Microinjeção de muscimol intra-DHVM

Idem ao item 5.6.1. com exceção que neste experimento os animais foram microinjetados intra-DHVM com muscimol (2, 4 e 8 nmol/0,2 µl) ou salina e não foram submetidos ao modelo da transição claro-escuro.

3.7. Histologia

No dia seguinte aos experimentos, os animais foram sacrificados com Uretana 25%, perfundidos intracardiacamente com salina e formol 10% e seus cérebros removidos e mantidos por 5 dias no formol. Após esse período, os cérebros foram cortados com o auxílio de um criostato em seções coronais de 60 µm. Com o auxílio de um microscópio, foram localizados os sítios de microinjeção de acordo com diagramas do Atlas de Paxinos e Watson (1998).

3.8. Análise estatística

Os dados da esquiva e da fuga coletados no labirinto em T elevado, foram submetidos à análise de variância (ANOVA) do tipo *split-plot*, com o tratamento como o fator independente e as tentativas, como o fator dependente. Caso o resultado do tratamento ou da interação tratamento tentativas desse significativo, os resultados eram submetidos à ANOVA de uma via e em seguida ao teste *post-hoc* de *Duncan*. Os dados da arena e o modelo de transição claro-escuro também foram submetidos à ANOVA de

uma via, seguida do teste *post-hoc* de *Duncan*. O resultado foi considerado significativo para valores de $p \leq 0,05$.

4. RESULTADOS

4.1.1. Efeito da administração de midazolam intra-SCPD no labirinto em T elevado

A Figura 7A demonstra os efeitos do tratamento com midazolam sobre a esquivas inibitória dos braços abertos do labirinto em T elevado. A ANOVA do tipo *split-plot* indicou efeito significativo das tentativas [$F(2,74)=98,08$; $p<0,01$], mas não do tratamento [$F(3,37)=0,29$; $p=0,834$] e nem da interação tratamento *versus* tentativas [$F(6,74)=0,17$; $p=0,984$].

A figura 7B demonstra os efeitos dos tratamentos com midazolam sobre a fuga do braço aberto do modelo. A ANOVA do tipo *split-plot* indicou efeitos significativos do tratamento [$F(3,37)=7,99$; $p<0,01$], das tentativas [$F(2,74)=27,71$; $p<0,01$] e da interação tratamento *versus* tentativas [$F(6,74)=4,62$; $p<0,01$]. A ANOVA de uma via indicou diferença significativa na fuga 2 [$F(3,37)=14,18$; $p<0,01$] e fuga 3 [$F(3,37)=18,78$; $p<0,01$], mas não indicou diferença significativa entre o grupo tratado com midazolam e o grupo controle na primeira tentativa de fuga, fuga 1 [$F(3,37)=0,02$; $p=0,9949$]. O teste *post-hoc* de *Duncan* indicou que os efeitos significativos na fuga 2 foram dos grupos tratados com 20 e 40 nmoles de midazolam em relação ao controle enquanto que na fuga 3 o efeito significativo se deu em relação aos grupos tratados com midazolam em todas as três doses (10, 20 e 40 nmoles).

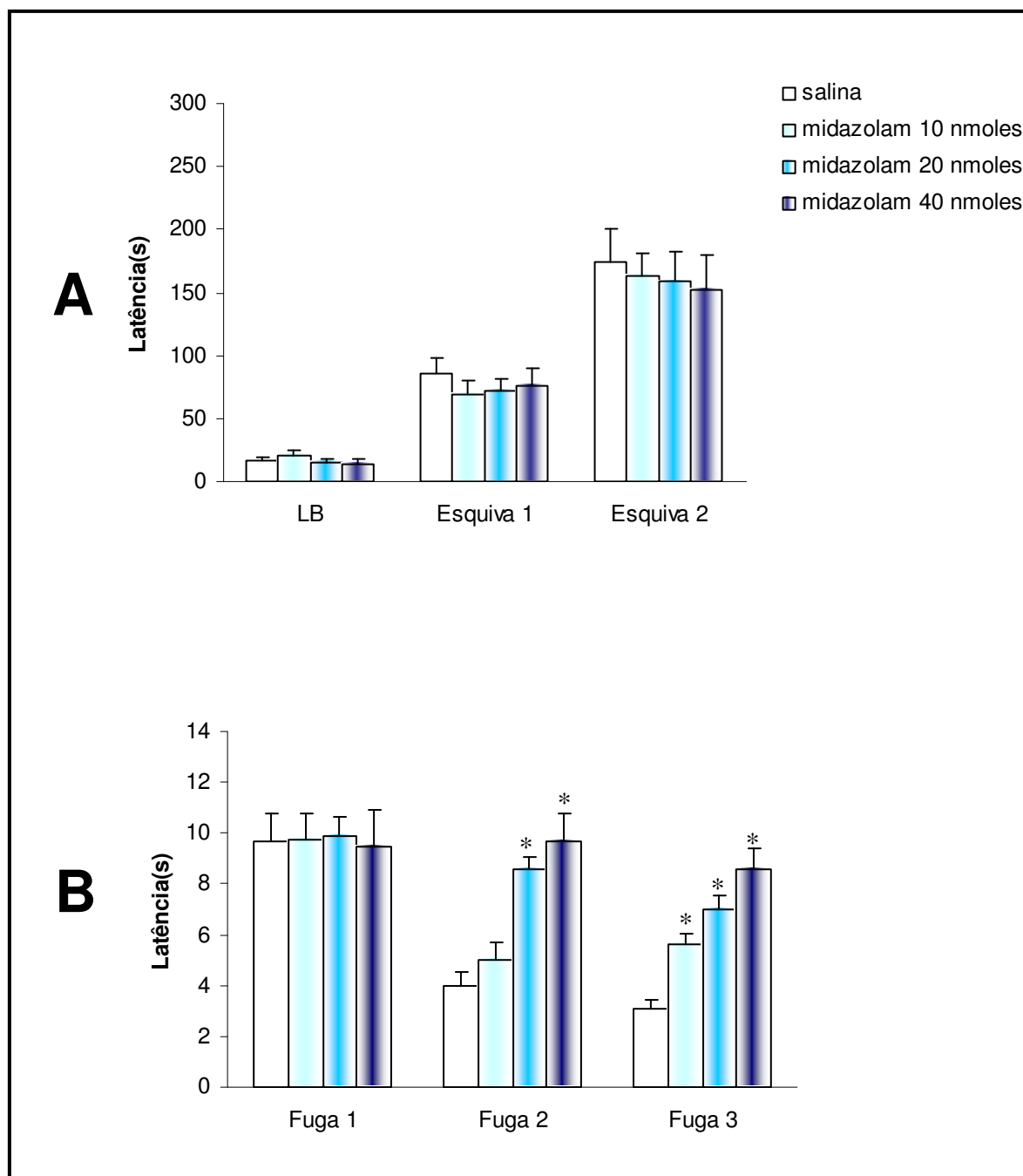


Figura 7 – Efeito do midazolam (mdz) intra-SCPD sobre as medidas de esquiva inibitória e fuga dos braços abertos do labirinto em T elevado. Barras representam média $\pm$ EPM para 12 ratos para o grupo controle e de 9 a 12 ratos do grupo tratado com midazolam (20, 40 e 80 nmoles). As medidas de Latência 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 veículo. * $p < 0,05$ em relação ao controle (ANOVA seguida do teste *post-hoc* de *Duncan*).

4.1.2. Efeito da administração de midazolam intra-SCPD sobre o comportamento locomotor de ratos na arena

Na tabela 4 estão descritos os efeitos dos tratamentos 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 [$F(3,37)=0,3379$; $p=0,7694$] e número de levantamentos [$F(3,37)=0,2913$; $p=0,8314$].

4.1.3. Efeito da administração de midazolam intra-SCPD no modelo da transição claro-escuro.

Na tabela 5 estão descritos os efeitos dos tratamentos sobre o comportamento dos animais expostos ao modelo da transição claro-escuro, nas medidas de número de cruzamentos entre os dois compartimentos e tempo gasto no compartimento claro. A ANOVA de uma via não indicou diferenças significativas em nenhuma das duas medidas: número de transições entre os dois compartimentos [$F(3,37)=0,3576$; $p=0,7839$] e tempo gasto no compartimento claro [$F(3,37)= 0,3484$; $p=0,7905$].

4.2.1. Efeito da administração de baclofen intra-SCPD no labirinto em T elevado

A Figura 8A demonstra os efeitos do tratamento com baclofen sobre a esquivas inibitória dos braços abertos do labirinto em T elevado. A ANOVA do tipo *split-plot* indicou efeito significativo das tentativas [$F(2,82)=116,71$; $p<0,01$], mas não do tratamento [$F(3,41)=0,02$; $p=0,996$] e nem da interação tratamento *versus* tentativas [$F(6,82)=0,08$; $p=0,998$].

A figura 8B demonstra os efeitos dos tratamentos com baclofen sobre a fuga do braço aberto do modelo. A ANOVA do tipo *split-plot* indicou efeitos significativos do tratamento [$F(3,41)=3,95$; $p<0,01$], das tentativas [$F(2,82)=24,15$; $p<0,01$] e da interação tratamento *versus* tentativas [$F(6,82)=5,77$; $p<0,01$]. A ANOVA de uma via indicou diferença significativa na fuga 2 [$F(3,41)=8,8682$; $p<0,01$] e fuga 3 [$F(3,41)=7,4164$; $p<0,01$], mas não indicou diferença significativa entre o grupo tratado com baclofen e o grupo controle na primeira tentativa de fuga, fuga 1 [$F(3,41)=0,3808$; $p=0,8102$]. O teste *post-hoc* de *Duncan* indicou que o efeito significativo na fuga 2 e 3 foram dos grupos tratados com todas as doses (2, 4 e 8 nmoles) de baclofen em relação ao controle.

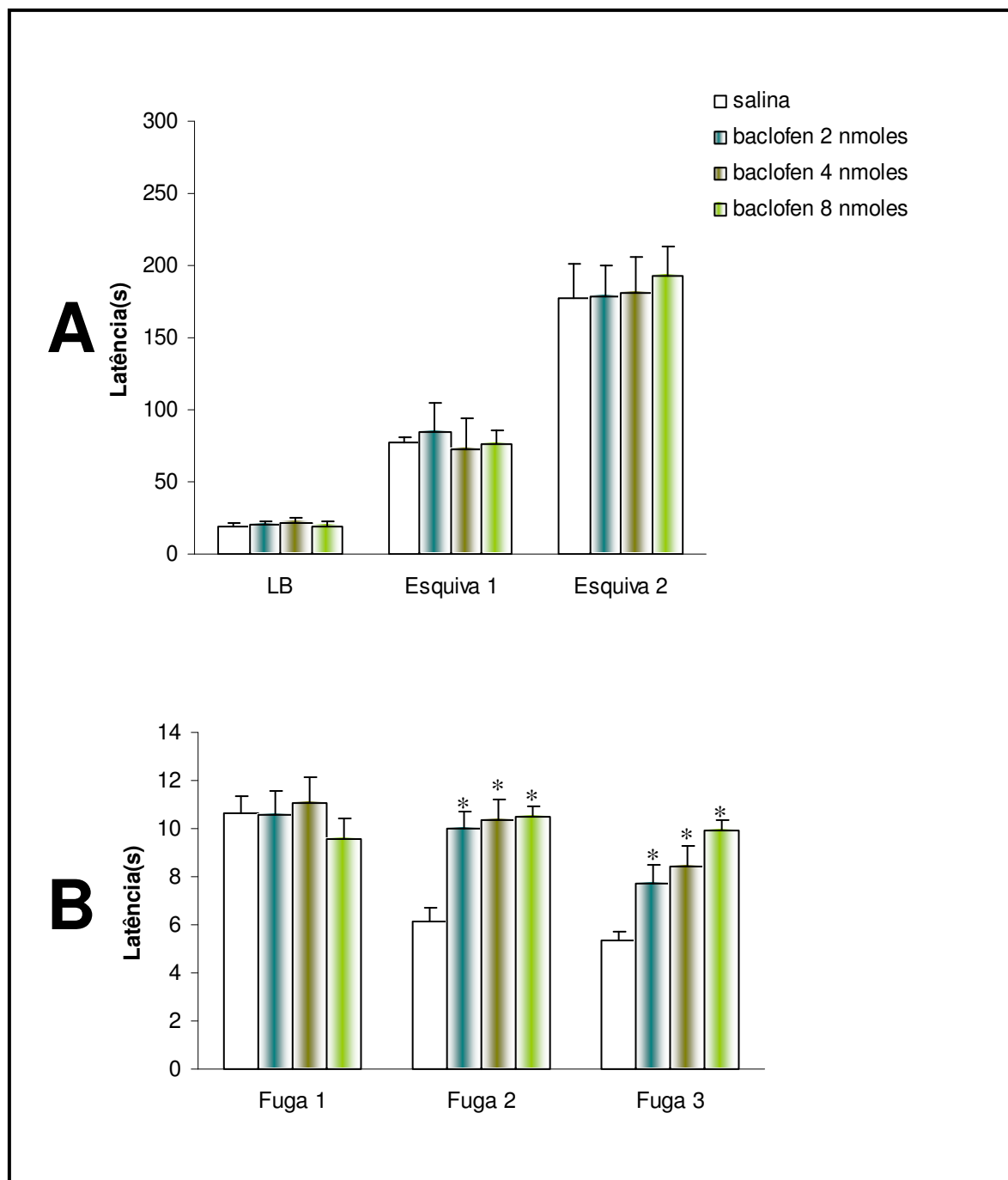


Figura 8 – Efeito do baclofen intra-SCPD sobre as medidas de esquiva inibitória e fuga dos braços abertos do labirinto em T elevado. Barras representam média $\pm$ EPM para 12 ratos para o grupo controle e de 9 - 12 ratos grupo tratado com baclofen (2, 4 e 8 nmoles). As medidas de Latência Basal (LB), 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 veículo. * $p < 0,05$ em relação ao controle (ANOVA seguida do teste *post-hoc* de Duncan).

4.2.2. Efeito da administração de baclofen intra-SCPD sobre o comportamento locomotor de ratos na arena

Na tabela 4 estão descritos os efeitos dos tratamentos 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 [$F(3,41)=0,1902$; $p=0,9025$] e número de levantamentos [$F(3,41)=0,7210$; $p=0,5452$].

4.2.3. Efeito da administração de baclofen intra-SCPD no modelo da transição claro-escuro.

Na tabela 5 estão descritos os efeitos dos tratamentos sobre o comportamento dos animais expostos ao modelo da transição claro-escuro, nas medidas de número de cruzamentos entre os dois compartimentos e tempo gasto no compartimento claro. A ANOVA de uma via não indicou diferenças significativas em nenhuma das duas medidas: número de transições entre os dois compartimentos [$F(3,41)=0,2203$; $p=0,8817$] e tempo gasto no compartimento claro [$F(3,41)= 0,3830$; $p=0,7658$].

4.3.1. Efeito da administração de FG 7142 intra-SCPD no labirinto em T elevado

A Figura 9A demonstra os efeitos do tratamento com FG 7142 sobre a esquivas inibitória dos braços abertos do labirinto em T elevado. A ANOVA do tipo *split-plot* indicou efeito significativo das tentativas [$F(2,74)=102,33$; $p<0,01$], e do tratamento [$F(3,37)=2,92$; $p=0,047$] mas não da interação tratamento *versus* tentativas [$F(6,74)=1,08$; $p=0,381$]. A ANOVA de uma via indicou diferença significativa na esquivas 2 [$F(3,37)=2,46$; $p<0,01$] mas não das outras tentativas latência basal [$F(3,37)=0,34$; $p=0,7993$] e esquivas 1 [$F(3,37)=0,55$; $p=0,6479$]. O teste *post-hoc* de *Duncan* demonstrou que o efeito significativo se deu com o grupo tratado com FG 7142 na dose de 40 pmoles em relação ao grupo controle.

A figura 9B demonstra os efeitos dos tratamentos com FG 7142 sobre a fuga do braço aberto do modelo. A ANOVA do tipo *split-plot* indicou efeitos significativos do tratamento [$F(3,37)=9,02$; $p<0,01$], das tentativas [$F(2,74)=28,75$; $p<0,001$] mas não da interação tratamento *versus* tentativas [$F(6,74)=0,11$; $p=0,996$]. A ANOVA de uma via indicou diferença significativa na fuga 2 [$F(3,37)=6,61$; $p<0,01$] e fuga 3 [$F(3,37)=8,4567$; $p<0,01$], mas não indicou diferença significativa entre o grupo tratado com FG 7142 e o grupo controle na primeira tentativa de fuga, fuga 1 [$F(3,37)=1,2921$; $p=0,2915$]. O teste *post-hoc* de *Duncan* indicou que o efeito significativo tanto na fuga 2 quanto na fuga 3 foram de todos os grupos tratados (20, 40 e 80 pmoles) com FG 7142 em relação ao controle.

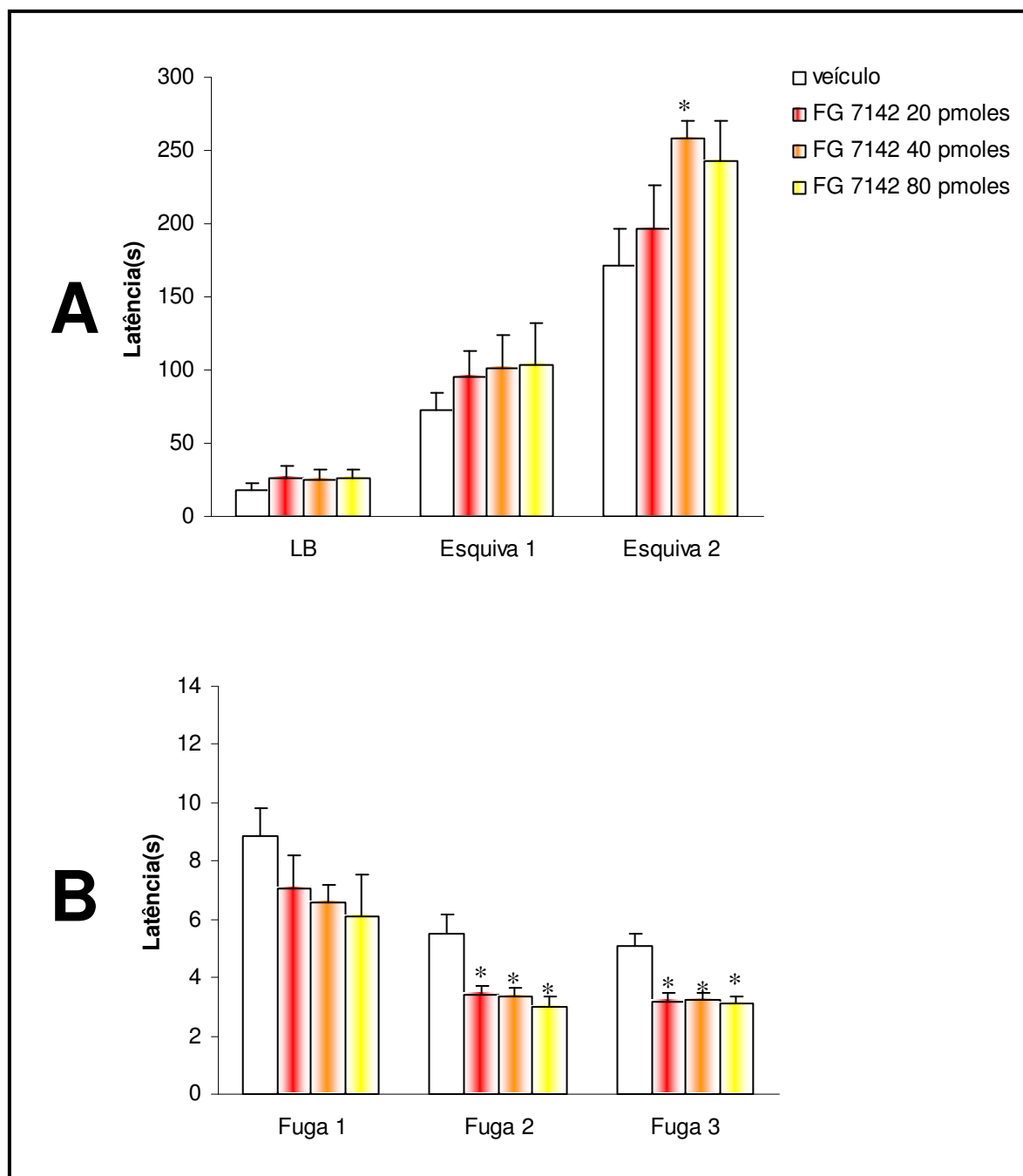


Figura 9 – Efeito do FG 7142 intra-SCPD sobre as medidas de esquiva inibitória e fuga dos braços abertos do labirinto em T elevado. Barras representam média $\pm$ EPM para 12 ratos para o grupo controle e de 9 a 12 ratos grupo tratado com FG 7142 (20, 40 e 80 pmoles). As medidas de Latência Basal (LB), 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 veículo. * $p < 0,05$ em relação ao controle (ANOVA seguida do teste *post-hoc* de *Duncan*).

4.3.2. Efeito da administração de FG 7142 intra-SCPD sobre o comportamento locomotor de ratos na arena

Na tabela 4 estão descritos os efeitos dos tratamentos 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 [$F(3,37)=0,7863$; $p=0,5093$] e número de levantamentos [$F(3,37)=0,4974$; $p=0,6863$].

4.3.3. Efeito da administração de FG 7142 intra-SCPD no modelo da transição claro-escuro.

Na tabela 5 estão descritos os efeitos dos tratamentos sobre o comportamento dos animais expostos ao modelo da transição claro-escuro, nas medidas de número de cruzamentos entre os dois compartimentos e tempo gasto no compartimento claro. A ANOVA de uma via não indicou diferenças significativas em nenhuma das duas medidas: número de transições entre os dois compartimentos [$F(3,37)=0,2752$; $p=0,8429$] e tempo gasto no compartimento claro [$F(3,37)= 0,3882$; $p=0,7621$].

4.4.1. Efeito da administração de muscimol intra-SCPD no labirinto em T elevado

A Figura 10A demonstra os efeitos do tratamento com muscimol sobre a esquivas inibitória dos braços abertos do labirinto em T elevado. A ANOVA do tipo *split-plot* indicou efeito significativo das tentativas [$F(2,64)=79,78$; $p<0,01$], mas não do tratamento [$F(3,32)=0,07$; $p=0,975$] e nem da interação tratamento *versus* tentativas [$F(6,64)=0,06$; $p=0,999$].

A figura 10B demonstra os efeitos dos tratamentos com muscimol sobre a fuga do braço aberto do modelo. A ANOVA do tipo *split-plot* indicou efeitos significativos do tratamento [$F(3,32)=5,90$; $p<0,01$], das tentativas [$F(2,64)=38,20$; $p<0,01$] e da interação tratamento *versus* tentativas [$F(6,64)=38,20$; $p<0,01$]. A ANOVA de uma via indicou diferença significativa na fuga 2 [$F(3,32)=5,41$; $p<0,01$] e fuga 3 [$F(3,32)=7,63$; $p<0,01$], mas não indicou diferença significativa entre o grupo tratado com muscimol e o grupo controle na primeira tentativa de fuga, fuga 1 [$F(3,32)=0,45$; $p=0,718$]. O teste *post-hoc* de *Duncan* indicou que os efeitos significativos na fuga 2 foram dos grupos tratados com 4 e 8 nmoles de muscimol em relação ao controle, enquanto que na fuga 3 o efeito significativo se deu entre os grupos tratados com muscimol em todas as três doses (2, 4 e 8 nmoles), em relação ao controle.

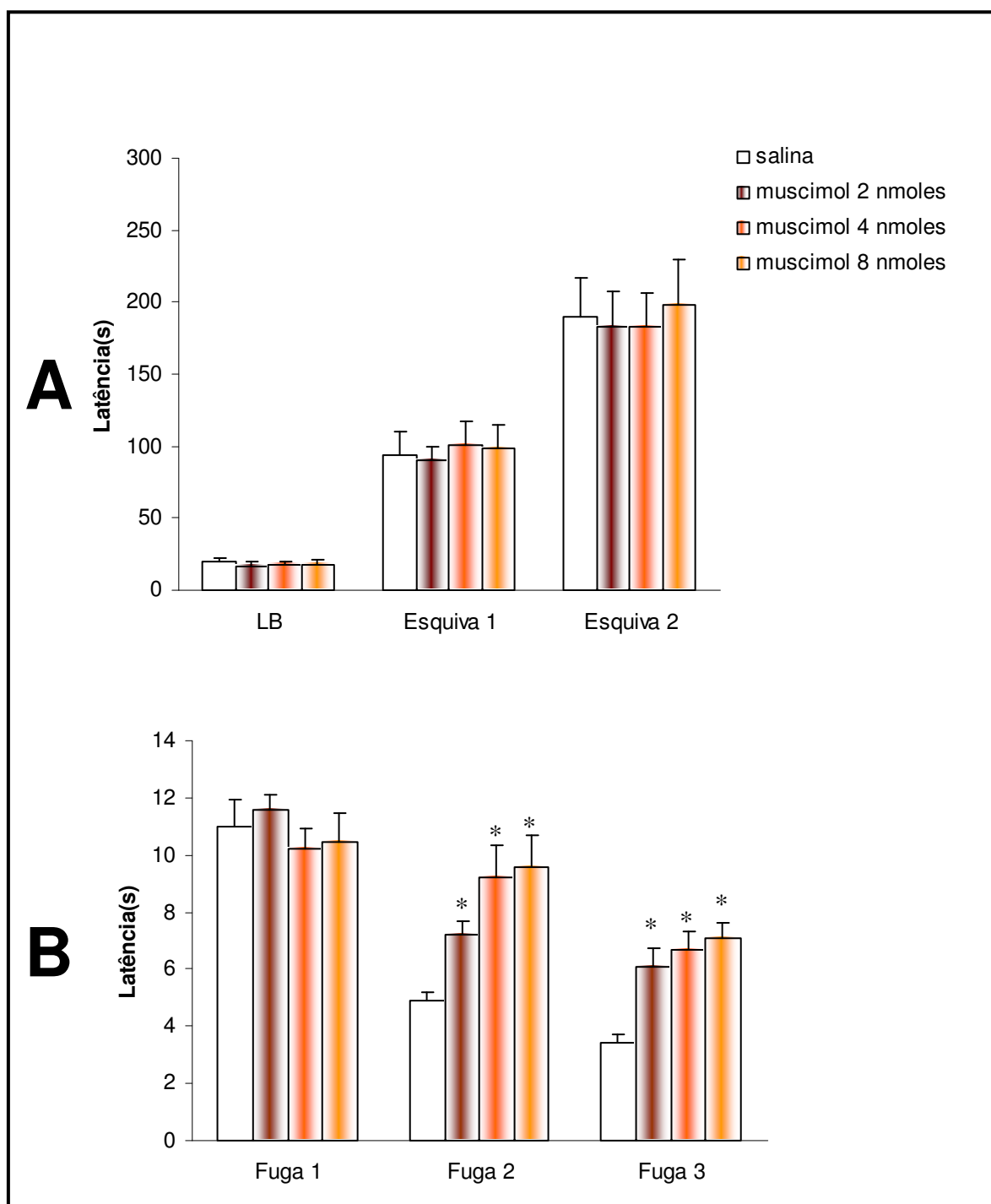


Figura 10 – Efeito do muscimol intra-SCPD sobre as medidas de esquiva inibitória e fuga dos braços abertos do labirinto em T elevado. Barras representam média $\pm$ EPM para 9 ratos para o grupo controle e para o grupo tratado com muscimol (2, 4 e 8 nmoles). As medidas de Latência Basal (LB), Esquiva 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 veículo. * $p < 0,05$ em relação ao controle (ANOVA seguida do teste *post-hoc* de *Duncan*).

4.4.2. Efeito da administração de muscimol intra-SCPD sobre o comportamento locomotor de ratos na arena

Na tabela 4 estão descritos os efeitos dos tratamentos 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 [$F(3,32)=0,1884$; $p=0,9035$] e número de levantamentos [$F(3,32)=0,2173$; $p=0,8837$].

4.4.3. Efeito da administração de muscimol intra-SCPD no modelo da transição claro-escuro.

Na tabela 5 estão descritos os efeitos dos tratamentos sobre o comportamento dos animais expostos ao modelo da transição claro-escuro, nas medidas de número de cruzamentos entre os dois compartimentos e tempo gasto no compartimento claro. A ANOVA de uma via não indicou diferenças significativas em nenhuma das duas medidas: número de transições entre os dois compartimentos [$F(3,32)=0,468$; $p=0,9863$] e tempo gasto no compartimento claro [$F(3,32)= 1,039$; $p=0,3882$].

Tabela 4 – Média e E.P.M. do número de cruzamentos e levantamentos na arena em ratos administrados intra-SCPD por midazolam (10, 20 e 40 nmoles), baclofen (2, 4 e 8 nmoles), FG 7142 (20, 40 e 80 pmoles) e muscimol (2, 4 e 8 nmoles).

Drogas	Número	
	Cruzamentos	Levantamentos
Salina	50,00 ± 4,93	22,58 ± 2,03
midazolam (10 nmoles)	43,55 ± 5,25	20,64 ± 2,31
midazolam (20 nmoles)	47,78 ± 4,65	23,00 ± 2,05
midazolam (40 nmoles)	48,33 ± 2,58	21,11 ± 1,81
Salina	52,25 ± 3,74	26,75 ± 1,74
baclofen (2 nmoles)	52,33 ± 4,27	24,33 ± 1,44
baclofen (4 nmoles)	50,67 ± 4,79	23,58 ± 1,76
baclofen (8 nmoles)	48,70 ± 3,72	25,50 ± 2,01
Veículo	49,58 ± 6,69	25,17 ± 2,66
FG 7142 (20 pmoles)	53,58 ± 5,24	22,42 ± 3,18
FG 7142 (40 pmoles)	41,89 ± 6,02	22,11 ± 2,00
FG 7142 (80 pmoles)	42,75 ± 7,17	20,00 ± 3,78
Salina	48,22 ± 3,42	23,78 ± 1,78
muscimol (2 nmoles)	44,67 ± 3,48	23,89 ± 1,92
muscimol (4 nmoles)	44,56 ± 3,17	25,78 ± 2,04
muscimol (8 nmoles)	46,26 ± 4,16	24,12 ± 1,12

Tabela 5 – Média e E.P.M. do tempo gasto no compartimento claro e do número de transições entre compartimentos no modelo da transição claro-escuro em ratos administrados intra-SCPD por midazolam (10, 20 e 40 nmoles), baclofen (2, 4 e 8 nmoles), FG 7142 (20, 40 e 80 pmoles) e muscimol (2, 4 e 8 nmoles).

Drogas	Tempo gasto no compartimento claro	Número de transições entre compartimentos
Salina	25,25 ± 4,45	4,42 ± 0,34
midazolam (10 nmoles)	28,91 ± 5,49	4,36 ± 0,41
midazolam (20 nmoles)	22,44 ± 3,27	5,00 ± 0,56
midazolam (40 nmoles)	24,11 ± 4,43	3,51 ± 0,32
Salina	26,75 ± 3,89	5,08 ± 0,67
baclofen (2 nmoles)	28,25 ± 3,04	5,42 ± 0,43
baclofen (4 nmoles)	29,00 ± 3,10	5,58 ± 0,63
baclofen (8 nmoles)	24,02 ± 2,56	4,90 ± 0,48
Veículo	30,17 ± 5,27	4,67 ± 0,66
FG 7142 (20 pmoles)	25,18 ± 3,45	5,17 ± 0,71
FG 7142 (40 pmoles)	27,44 ± 7,57	4,44 ± 0,63
FG 7142 (80 pmoles)	21,88 ± 6,16	4,50 ± 0,33
Salina	25,67 ± 3,33	5,00 ± 0,32
muscimol (2 nmoles)	24,33 ± 3,59	4,56 ± 0,50
muscimol (4 nmoles)	25,34 ± 3,28	4,44 ± 0,44
muscimol (8 nmoles)	26,28 ± 3,61	5,56 ± 0,53

4.5.1. Efeito da administração de midazolam intra-DHVM no labirinto em T elevado

A Figura 11A demonstra os efeitos do tratamento com midazolam sobre a esQUIVA inibitória dos braços abertos do labirinto em T elevado. A ANOVA do tipo *split-plot* indicou efeito significativo das tentativas [$F(2,58)=202,60$; $p<0,01$], do tratamento [$F(3,295)=11,88$; $p<0,01$] e da interação tratamento *versus* tentativas [$F(6,58)=8,93$; $p<0,01$]. A ANOVA de uma via indicou diferença significativa na esQUIVA 1 [$F(3,29)=3,60$; $p<0,05$] e na esQUIVA 2 [$F(3,29)=12,11$; $p<0,01$], mas não da latência basal [$F(3,29)=0,66$; $p=0,5845$]. O teste *post-hoc* de *Duncan* demonstrou que o efeito significativo se deu com o grupo tratado com midazolam nas diferentes doses de tratamento (10, 20 e 40 nmoles) em relação ao grupo controle, na esQUIVA 1 e 2.

A figura 11B demonstra os efeitos dos tratamentos com midazolam sobre a fuga do braço aberto do modelo. A ANOVA do tipo *split-plot* indicou efeitos significativos do tratamento [$F(3,29)=15,01$; $p<0,01$], das tentativas [$F(2,58)=48,79$; $p<0,01$] e da interação tratamento *versus* tentativas [$F(6,58)=2,65$; $p<0,05$]. A ANOVA de uma via indicou diferença significativa na fuga 2 [$F(3,29)=13,39$; $p<0,01$] e fuga 3 [$F(3,29)=6,90$; $p<0,01$], mas não indicou diferença significativa entre o grupo tratado com midazolam e o grupo controle na primeira tentativa de fuga, fuga 1 [$F(3,29)=2,03$; $p=0,1308$]. O teste *post-hoc* de *Duncan* indicou que os efeitos significativos na tentativa de fuga 2 foram dos grupos tratamento com 20 e 40 nmoles de midazolam, enquanto que na tentativa 3 os grupos tratados com todas as 3 doses (10, 20 e 40 nmoles) tiveram efeito significativo em relação ao controle.

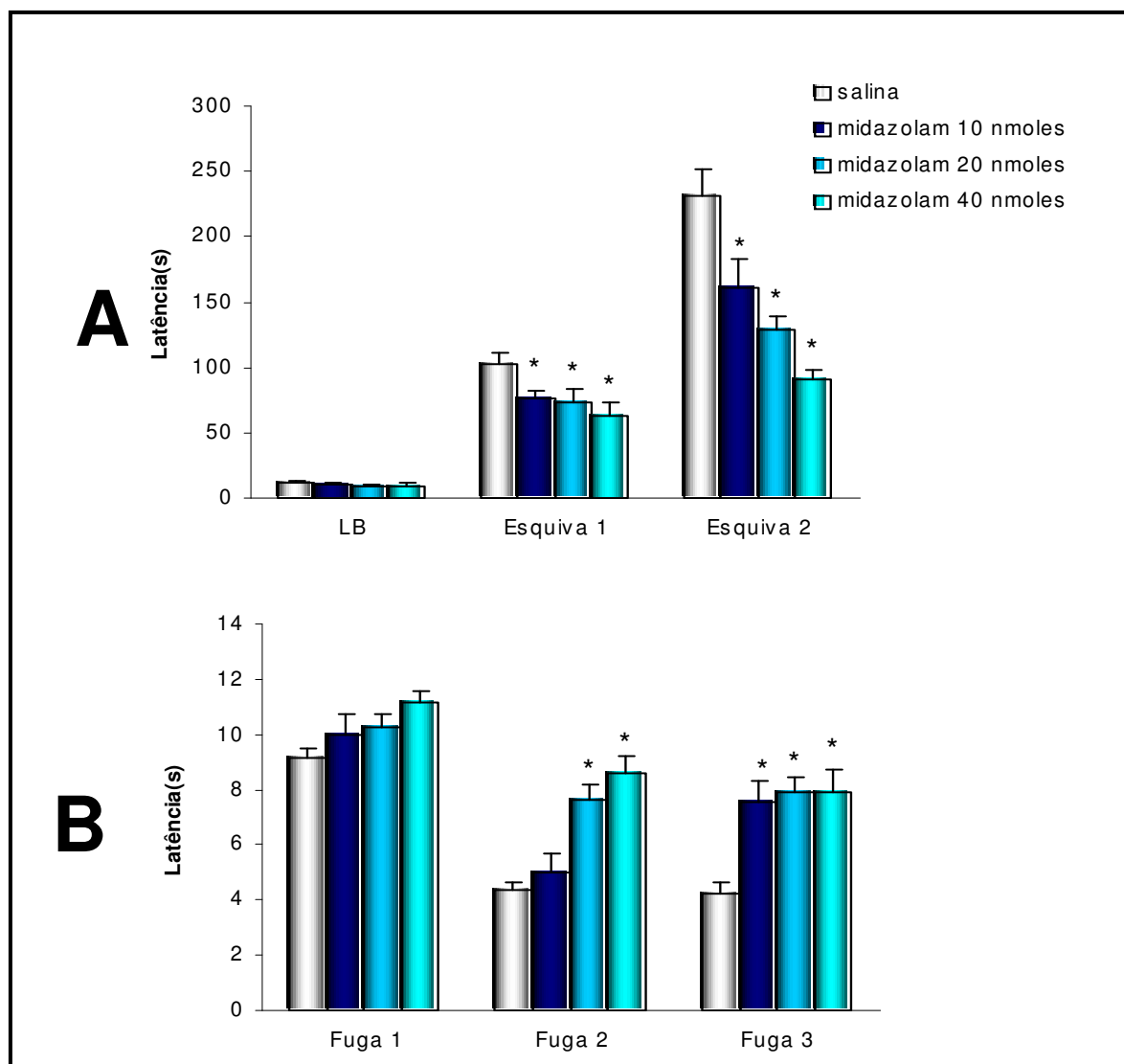


Figura 11 – Efeito do midazolam intra-DHVM sobre as medidas de esquiva inibitória e fuga dos braços abertos do labirinto em T elevado. Barras representam média $\pm$ EPM para 8 ratos para o grupo controle e de 8 - 9 ratos para o grupo tratado com midazolam (10, 20 e 40 nmoles). As medidas de Latência 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 veículo. * $p < 0,05$ em relação ao controle (ANOVA seguida do teste *post-hoc* de *Duncan*).

4.5.2. Efeito da administração de midazolam intra-DHVM sobre o comportamento locomotor de ratos na arena

Na tabela 6 estão descritos os efeitos dos tratamentos 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 [$F(3,29)=0,6651$; $p=0,5803$] e número de levantamentos [$F(3,29)=0,7361$; $p=0,5390$].

4.6.1. Efeito da administração de baclofen intra-DHVM no labirinto em T elevado

A Figura 12A demonstra os efeitos do tratamento com baclofen sobre a esQUIVA inibitória dos braços abertos do labirinto em T elevado. A ANOVA do tipo split-plot indicou efeito significativo do tratamento [$F(3,26)=4,92$; $p<0,01$], das tentativas [$F(2,52)=161,21$; $p<0,001$], mas não da interação tratamento versus tentativas [$F(6,52)=1,97$; $p=0,09$]. A ANOVA de uma via indicou diferença significativa na esQUIVA 2 [$F(3,26)=3,90$; $p=0,02$]. O teste post-hoc de Duncan demonstrou que o efeito significativo se deu entre os grupos tratados com as doses de 4 e 8 nmoles da droga, em relação ao grupo controle ($p < 0,05$).

A figura 12B demonstra os efeitos dos tratamentos com baclofen sobre a fuga do braço aberto do modelo. A ANOVA do tipo split-plot indicou efeito significativo do tratamento [$F(3,26)=9,68$; $p<0,001$] e das tentativas [$F(2,52)=26,95$; $p<0,001$], mas não da interação tratamento versus tentativas [$F(6,52)=1,05$; $p=0,40$]. A ANOVA de uma via indicou diferença significativa na fuga 2 [$F(3,26)=6,65$; $p<0,01$] e fuga 3 [$F(3,26)=5,72$; $p<0,01$]. O teste post-hoc de Duncan indicou que os efeitos significativos se deram, tanto na fuga 2 quanto na 3, entre os três grupos tratados com baclofen (2, 4 e 8 nmoles) em relação ao controle ($p < 0,05$).

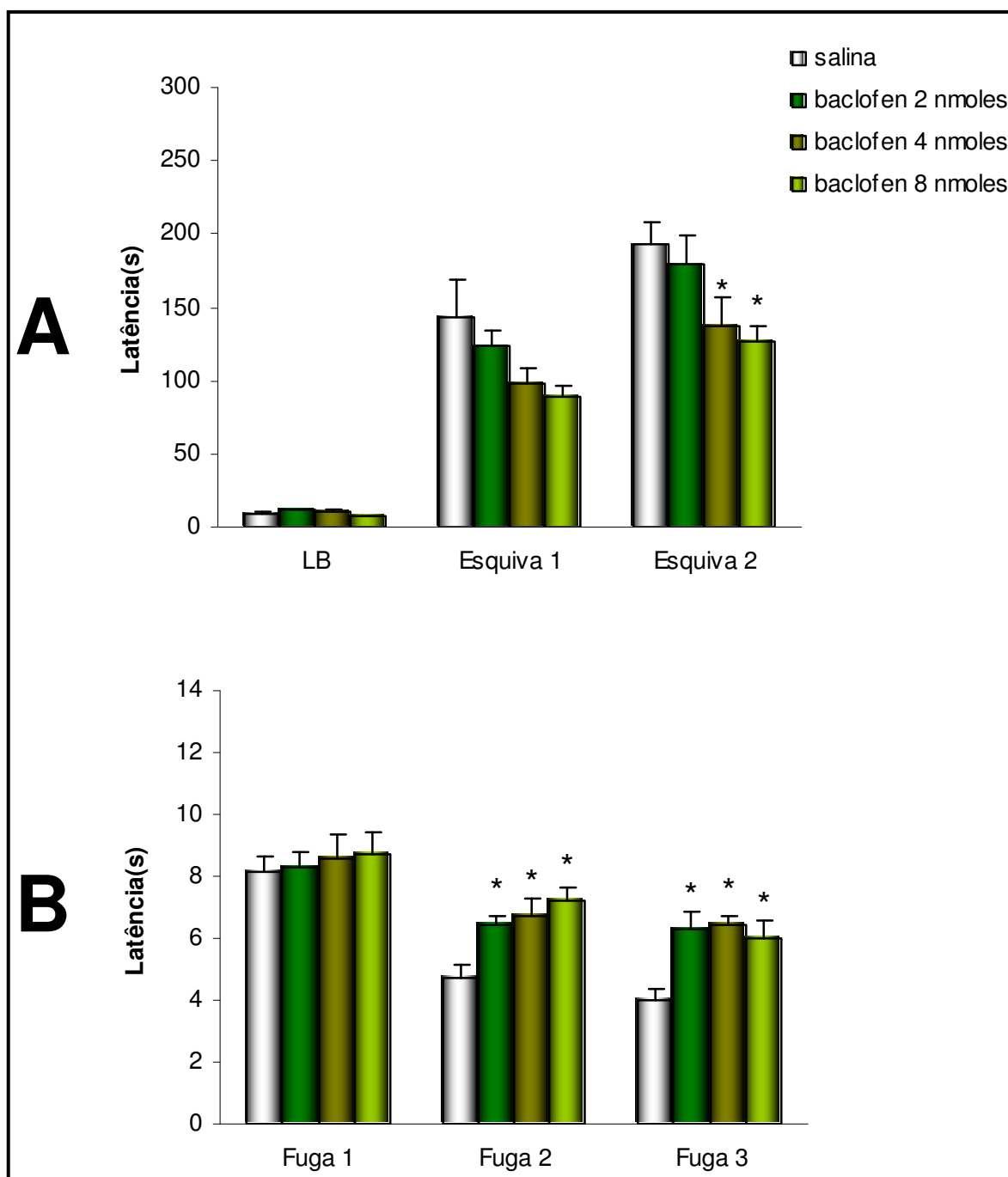


Figura 12 - Efeito do baclofen intra-DHVM sobre as medidas de esquiva inibitória (A) e fuga (B) dos braços abertos do labirinto em T elevado. Barras representam média $\pm$ EPM para 7-8 ratos por grupo de tratamento. As medidas de Latência Basal, Esquiva 1, Esquiva 2, Fuga 1, Fuga 2 e Fuga 3 foram realizadas com 30 segundos de intervalo entre cada, começando 10 minutos após a microinjeção de droga ou veículo. * $p < 0,05$ em relação ao controle (ANOVA seguida do teste *post-hoc* de Duncan).

4.6.2. Efeito da administração de baclofen intra-DHVM sobre o comportamento locomotor de ratos na arena

Na tabela 6 estão descritos os efeitos dos tratamentos 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 [$F(3,26)=0,27$; $p=0,85$] e número de levantamentos [$F(3,26)=1,36$; $p=0,28$].

4.7.1. Efeito da administração de FG 7142 intra-DHVM no labirinto em T elevado

A Figura 13A demonstra os efeitos do tratamento com FG 7142 sobre a esquivas inibitória dos braços abertos do labirinto em T elevado. A ANOVA do tipo split-plot indicou efeito significativo do tratamento [$F(3,27)=17,37$; $p<0,001$], das tentativas [$F(2,54)=272,22$; $p<0,001$], e da interação tratamento versus tentativas [$F(6,54)=3,93$; $p<0,01$]. A ANOVA de uma via indicou diferença significativa na esquivas 1 [$F(3,27)=8,42$; $p<0,001$] e na esquivas 2 [$F(3,27)=5,87$; $p<0,01$]. O teste post-hoc de Duncan demonstrou que o efeito significativo se deu na esquivas 1 entre o grupo tratado com 80 pmoles da droga, e na esquivas 2 entre os grupos tratados com as 3 doses da droga, todos em relação ao grupo controle ($p < 0,05$).

A figura 13B demonstra os efeitos dos tratamentos com FG 7142 sobre a fuga do braço aberto do modelo. A ANOVA do tipo split-plot indicou efeitos significativos do tratamento [$F(3,27)=21,46$; $p<0,01$], das tentativas [$F(2,54)=32,91$; $p<0,001$] e da interação tratamento versus tentativas [$F(6,54)=3,31$; $p<0,01$]. A ANOVA de uma via indicou diferença significativa na fuga 1 [$F(3,27)=11,49$; $p<0,001$], fuga 2 [$F(3,27)=10,02$; $p<0,001$] e fuga 3 [$F(3,27)=4,24$; $p<0,01$]. O teste post-hoc de Duncan indicou que os efeitos significativos se deram entre os grupos tratados com 40 e 80 pmoles de FG 7142 na fuga 1 e 3, e entre os 3 grupos de tratamento (20, 40 e 80 pmoles da droga) na fuga 2, todos em relação ao controle ($p < 0,05$).

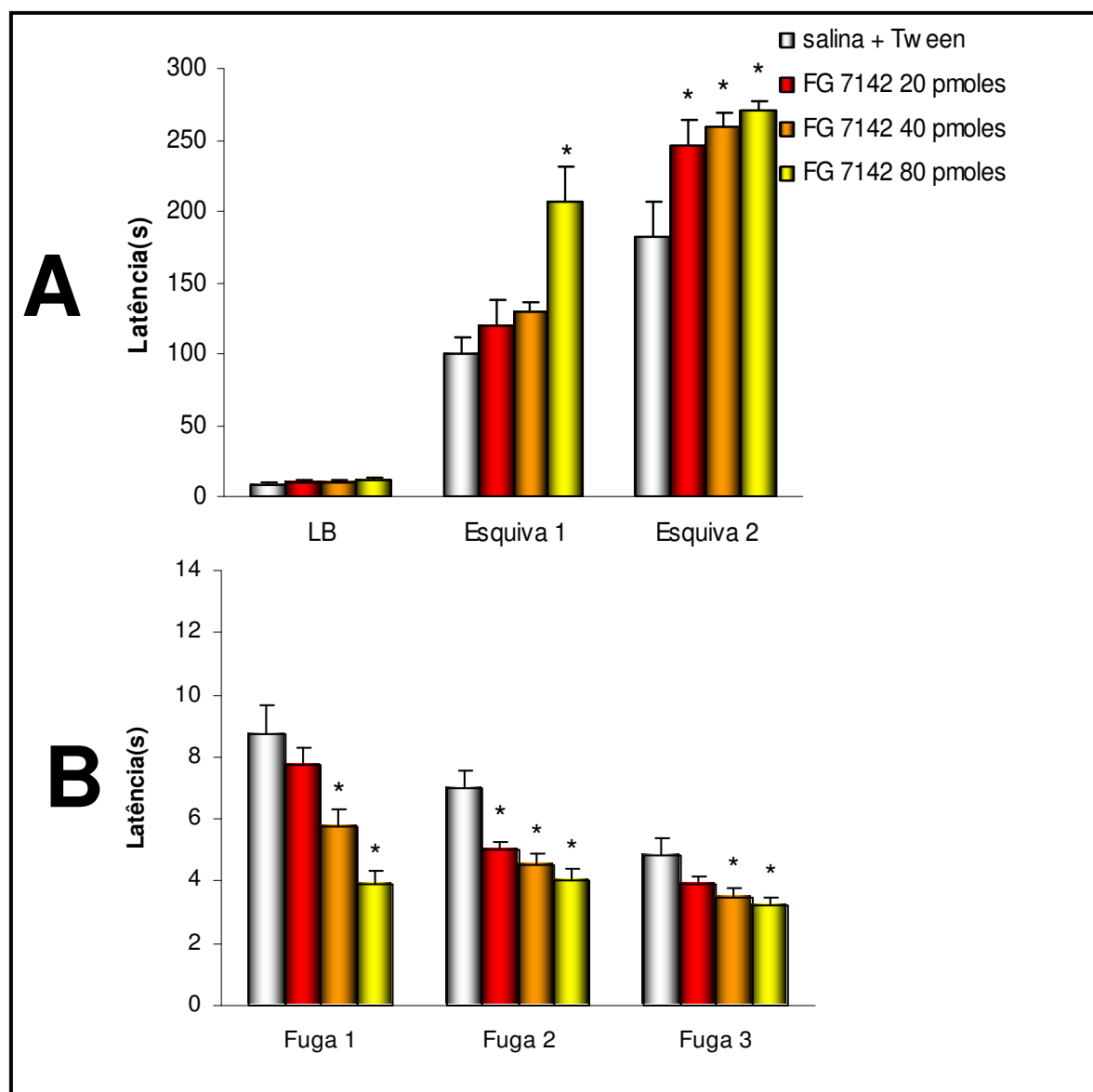


Figura 13 - Efeito do FG 7142 intra-DHVM sobre as medidas de esquiva inibitória (A) e fuga (B) dos braços abertos do labirinto em T elevado. Barras representam média $\pm$ EPM para 8 ratos por grupo de tratamento. As medidas de Latência Basal, Esquiva 1, Esquiva 2, Fuga 1, Fuga 2 e Fuga 3 foram realizadas com 30 segundos de intervalo entre cada, começando 10 minutos após a microinjeção de droga ou veículo. * $p < 0,05$ em relação ao controle (ANOVA seguida do teste *post-hoc* de Duncan).

4.7.2. Efeito da administração de FG 7142 intra-DHVM sobre o comportamento locomotor de ratos na arena

Na tabela 6 estão descritos os efeitos dos tratamentos 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 [$F(3,27)=0,45$; $p=0,72$] e número de levantamentos [$F(3,27)=0,65$; $p=0,59$].

4.8.1. Efeito da administração de muscimol intra-DHVM no labirinto em T elevado

A Figura 14A demonstra os efeitos do tratamento com muscimol sobre a esquivas inibitória dos braços abertos do labirinto em T elevado. A ANOVA do tipo *split-plot* indicou efeito significativo das tentativas [$F(2,70)=103,43$; $p<0,01$], do tratamento [$F(3,35)=5,52$; $p<0,01$] e da interação tratamento *versus* tentativas [$F(6,70)=5,96$; $p<0,01$]. A ANOVA de uma via indicou diferença significativa na esquiva 2 [$F(3,35)=12,63$; $p<0,01$] mas não das outras tentativas, latência basal [$F(3,35)=0,79$; $p=0,5037$] e esquiva 1 [$F(3,35)=0,71$; $p=0,5507$]. O teste *post-hoc* de *Duncan* demonstrou que o efeito significativo se deu com o grupo tratado com muscimol nas doses de 4 e 8 nmoles em relação ao grupo controle.

A figura 14B demonstra os efeitos dos tratamentos com muscimol sobre a fuga do braço aberto do modelo. A ANOVA do tipo *split-plot* indicou efeitos significativos do tratamento [$F(3,35)=15,49$; $p<0,01$], das tentativas [$F(2,70)=99,03$; $p<0,01$] e da interação tratamento *versus* tentativas [$F(6,70)=5,47$; $p<0,01$]. A ANOVA de uma via indicou diferença significativa na fuga 2 [$F(3,35)=16,09$; $p<0,01$] e fuga 3 [$F(3,35)=12,61$; $p<0,01$], mas não indicou diferença significativa entre o grupo tratado com muscimol e o grupo controle na primeira tentativa de fuga, fuga 1 [$F(3,35)=0,38$; $p=0,7705$]. O teste *post-hoc* de *Duncan* indicou que os efeitos significativos nas tentativas de fuga 2 e 3 foram dos grupos tratados com 4 e 8 nmoles de muscimol em relação ao controle.

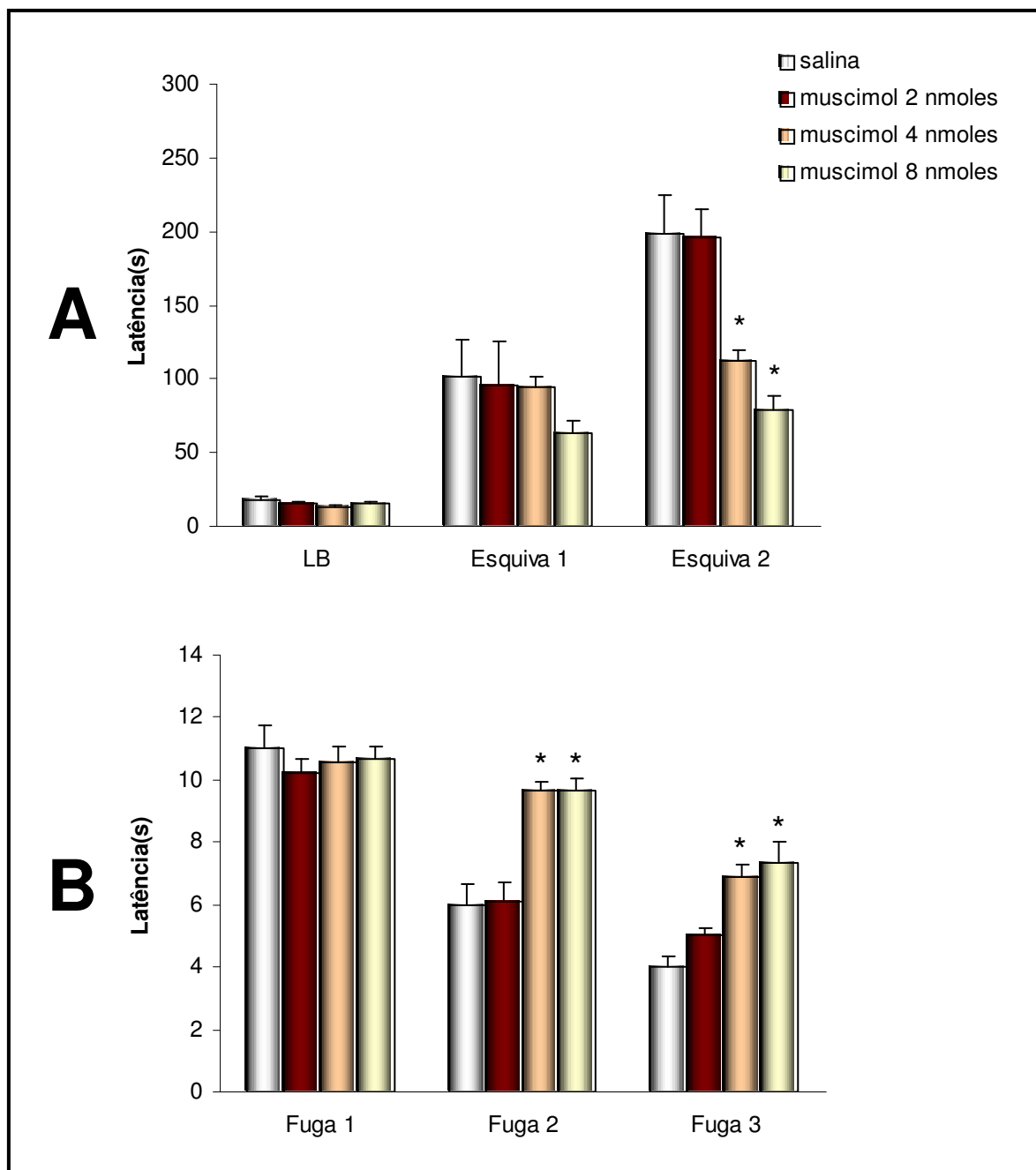


Figura 14 – Efeito do muscimol intra-DHVM sobre as medidas de esquiva inibitória e fuga dos braços abertos do labirinto em T elevado. Barras representam média $\pm$ EPM para 9 ratos para o grupo controle e de 9 - 11 ratos para o grupo tratado com muscimol (2, 4 e 8 nmol). As medidas de Latência Basal (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 veículo. * $p < 0,05$ em relação ao controle (ANOVA seguida do teste *post-hoc* de *Duncan*).

4.8.2. Efeito da administração de muscimol intra-DHVM sobre o comportamento locomotor de ratos na arena

Na tabela 6 estão descritos os efeitos dos tratamentos 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 [$F(3,35)=0,2048$; $p=0,8923$] e número de levantamentos [$F(3,35)=0,5791$; $p=0,6326$].

Tabela 6 – Média e E.P.M. no número de cruzamentos e levantamentos de ratos administrados intra-DHVM por midazolam (10, 20 e 40 nmoles), baclofen (2, 4 e 8 nmoles), FG 7142 (20, 40 e 80 pmoles) e muscimol (2, 4 3 8 nmoles).

Drogas	Cruzamentos	Levantamentos
Salina	45,25 ± 2,64	23,50 ± 1,97
midazolam (10 nmoles)	48,44 ± 3,25	25,44 ± 2,39
midazolam (20 nmoles)	53,25 ± 6,22	28,88 ± 3,18
midazolam (40 nmoles)	49,00 ± 2,87	26,63 ± 2,69
baclofen (2 nmoles)	39,29 ± 1,23	21,86 ± 0,74
baclofen (4 nmoles)	40,71 ± 2,08	21,86 ± 0,96
baclofen (8 nmoles)	41,00 ± 1,13	19,75 ± 0,70
Veículo	43,29 ± 2,77	20,71 ± 1,87
FG 7142 (20 pmoles)	47,38 ± 2,82	20,63 ± 1,21
FG 7142 (40 pmoles)	47,63 ± 2,97	23,25 ± 1,36
FG 7142 (80 pmoles)	46,25 ± 2,88	21,00 ± 1,78
Salina	50,44 ± 4,59	23,78 ± 2,06
muscimol (2 nmoles)	45,50 ± 3,36	24,10 ± 2,10
muscimol (4 nmoles)	48,27 ± 5,27	26,64 ± 1,24
muscimol (8 nmoles)	48,11 ± 3,89	24,33 ± 1,68

5. DISCUSSÃO

Diversas estruturas do SNC têm sido relacionadas com a mediação do comportamento defensivo. Especificamente a SCPD, e o hipotálamo medial, juntamente com algumas estruturas límbicas, como a amígdala e o sistema septo-hipocampal, parecem compor uma rede neural responsável por diferentes respostas comportamentais de defesa (BANDLER *et al.*, 1991; CARRIVE, 1993; BEITZ, 1990; SHIPLEY *et al.*, 1991). O presente trabalho optou por investigar duas das estruturas mencionadas: a SCPD e um núcleo hipotalâmico específico, o DHVM. Estas estruturas enviam projeções para diferentes regiões do tronco encefálico relacionadas com o controle motor (FLYNN *et al.*, 1971), o que se torna necessário, por exemplo, para a coordenação de comportamentos de luta e fuga, bem como de outras respostas comportamentais de defesa.

Os resultados deste trabalho demonstram que a estimulação de receptores GABA_A/BZD e GABA_B da SCPD pela administração local de midazolam, muscimol e baclofen prejudicou a fuga do labirinto em T elevado, um efeito panicolítico, sem alterar a esquiva inibitória. Por outro lado, a administração intra-SCPD do agonista inverso BZD FG 7142 facilitou tanto a fuga, quanto a esquiva inibitória dos braços abertos do modelo, caracterizando um efeito panicogênico e ansiogênico, respectivamente. Não foi observado resultado significativo com nenhuma das drogas no modelo de transição claro-escuro, nem sobre a atividade locomotora dos animais medida na arena. A ausência de alteração da atividade locomotora dos animais pode também ser comprovada pela não alteração da latência basal, primeira medida de esquiva inibitória tomada quando os animais já estão sob o efeito da droga. Já a administração intra-DHVM do agonista GABA_A muscimol, do agonista BZD midazolam e do agonista

GABA_B baclofen prejudicou tanto a fuga do labirinto em T elevado, efeito panicolítico, quanto a esquiva inibitória dos braços abertos do modelo, efeito ansiolítico. Por outro lado, a administração do agonista inverso BDZ FG 7142 facilitou tanto a esquiva inibitória, efeito ansiogênico, quanto a fuga de uma via, efeito panicogênico. De maneira semelhante ao observado com a SCPD, não foram observados resultados significativos com essas drogas, administradas intra-DHVM, na arena e nem na latência basal da esquiva inibitória. Estes últimos resultados reforçam a idéia de que os efeitos observados no labirinto em T elevado após os diferentes tratamentos não são devidos a alterações motoras.

Desde que Nashold e colaboradores (1969) verificaram, em pacientes submetidos a neurocirurgias, que a estimulação elétrica da SCPD acarretava uma série de alterações fisiológicas e comportamentais que se assemelhavam a um ataque de pânico, a relação da estrutura com este distúrbio de ansiedade vem sendo aventada. Em ratos, a estimulação elétrica ou química da estrutura desencadeia respostas de fuga, acompanhada por uma série de alterações neurovegetativas, como aumento da pressão arterial, taquicardia, vasodilatação dos músculos estriados e hiperventilação similares àquelas evocadas no animal quando do confronto com predadores, ou seja, situações naturais de perigo/ameaça (OLDS & OLDS, 1962; SANDNER *et al.*, 1987; FANSELOW, 1991; SCHENBERG *et al.*, 2001). Como estes sintomas são também descritos por pacientes que experienciam ataques de pânico, alguns autores propõem que a fuga decorrente da estimulação elétrica ou química da SCPD pode ser considerada como um modelo experimental de pânico (GRAEFF, 1988; 1990; 1991; DI BORTOLI *et al.*, 2006; BERTOGLIO E ZANGROSSI, 2005; MOREIRA E GUIMARÃES, 2005; MEZZASALMA *et al.*, 2004).

Nesse sentido, e em concordância com os resultados experimentais obtidos com a fuga evocada pela estimulação elétrica da estrutura (BOVIER *et al.*, 1982; GRAEFF *et al.*, 1986; AUDI & GRAEFF, 1987; RUSSO *et al.*, 1991; 1993), os resultados do presente trabalho sugerem efeito do tipo panicolítico do midazolam e do muscimol administrados intra-SCPD em uma resposta de fuga induzida por uma situação naturalística, espaço aberto e elevado do chão. Corroborando nossos resultados e utilizando a estimulação elétrica da SCPD como modelo experimental de pânico, Graeff e colaboradores (1986; AUDI & GRAEFF, 1987) mostraram que a administração de GABA e dos agonistas de receptores GABA_A muscimol, isovugacina e THIP aumentou o limiar aversivo, definido como a menor intensidade de corrente elétrica capaz de induzir comportamento de fuga. Adicionalmente, efeito anti-aversivo foi observado no mesmo modelo após a administração intra-SCPD dos BDZs midazolam e clordiazepóxido (BOVIER *et al.*, 1982; GRAEFF *et al.*, 1986; AUDI & GRAEFF, 1987). Por outro lado, tanto a bicuculina quanto a picrotoxina, ambos antagonistas GABA_A, induzem resposta de fuga semelhante à observada com a estimulação elétrica desta mesma estrutura mesencefálica (BRANDAO *et al.*, 1982; DI SCALA *et al.*, 1984; GRAEFF *et al.*, 1986; EICHENBERGER *et al.*, 2002).

De maneira semelhante à SCPD, a estimulação elétrica do hipotálamo medial, e mais especificamente do hipotálamo dorsomedial, também produz uma resposta comportamental de fuga que pode ser relacionada ao distúrbio do pânico (VALENSTEIN *et al.*, 1968; PANKSEPP, 1971; LIPP *et al.*, 1978; LAMMERS *et al.*, 1988; SILVEIRA *et al.*, 1995). Entretanto, as respostas de fuga eliciadas a partir da estimulação do hipotálamo diferem das oriundas a partir da estimulação da SCPD. Foi demonstrado, por exemplo, que a estimulação química do hipotálamo medial de ratos

testados em uma arena acarretava saltos e comportamentos locomotores coordenados, aparentemente voltados para o objetivo de encontrar a saída (SCHIMITT *et al.*, 1986). Esta observação tem levado alguns autores a rejeitarem a idéia da fuga oriunda da estimulação elétrica do hipotálamo medial como modelo experimental de pânico (SCHIMITT *et al.*, 1986; GRAEFF & ZANGROSSI JR., 2002). De qualquer forma, respostas de fuga, semelhantes às observados através da estimulação elétrica da estrutura, têm sido obtidas a partir da microinjeção intra-hipotálamo dorsomedial de drogas que diminuem a neurotransmissão gabaérgica (DI SCALA *et al.*, 1984; SCHMITT *et al.*, 1986; BRANDÃO *et al.*, 1986; SHEKAR & DI MICCO, 1987; MILANI & GRAEFF, 1987). Adicionalmente, Silveira & Graeff (1992) mostraram que a administração intra-hipotálamo dorsomedial do agonista de receptores GABA_A THIP foi capaz de reverter o efeito aversivo produzido pela administração intra-núcleo de ácido caínico.

O presente estudo sugere que além do hipotálamo dorsomedial, um outro núcleo hipotalâmico também se encontra implicado com respostas de fuga, o DHVM. Neste sentido, foi demonstrado que a administração intra-DHVM de muscimol e midazolam prejudicou a resposta de fuga de um dos braços abertos do labirinto em T elevado. Nossos resultados corroboram o que já havia sido observado por Canteras e colaboradores (1997) com a técnica de imunorreatividade à proteína Fos. No estudo mencionado, os autores mostraram que a exposição direta ao predador, capaz de evocar comportamento de *freezing*, bem como saltos e respostas de fuga em ratos, era também capaz de aumentar a expressão de Fos em diferentes núcleos da região medial do hipotálamo, incluindo o DHVM. Resultados similares foram obtidos quando os animais foram expostos ao odor de gato (STAPLES *et al.*, 2005). Além disso, foi

demonstrado que a resposta de fuga induzida pela estimulação elétrica da SCPD também é capaz de provocar um aumento na ativação da proteína Fos no mesmo núcleo (VIANNA *et al.*, 2003).

De maneira similar ao midazolam e ao muscimol, o baclofen intra-SCPD e intra-DHVM prejudicou a fuga, sugerindo o envolvimento de receptores GABA_B das estruturas na mediação desta resposta defensiva. Contrariando estes resultados, um estudo prévio mostrou que a injeção intra-SCPD deste agonista não modificou a fuga induzida pela estimulação elétrica da estrutura (GRAEFF *et al.*, 1986). No entanto, como no estudo supracitado apenas uma dose de baclofen (10 nmoles) foi avaliada, é possível que essa discrepância reflita diferenças entre os dois testes em relação à sensibilidade ou seletividade da droga.

Em concordância com os atuais achados envolvendo o labirinto em T elevado, estudos clínicos também relacionam receptores GABA_B com a fisiopatologia do distúrbio do pânico. Em um estudo duplo-cego, resultados mostram que o baclofen reduziu significativamente a incidência de ataques de pânico em pacientes diagnosticados como portadores do distúrbio de pânico e que não faziam uso de medicamentos (BRESLOW *et al.*, 1989). São ainda desconhecidas quais estruturas neuroanatômicas estão envolvidas com este efeito panicolítico, mas estudos experimentais com animais têm demonstrado que pelo menos a SCPD é rica em receptores GABA_B (LOVICK, 2000). De fato, tem sido demonstrado que, entre os setores anatômicos da SCP, os receptores GABA_B foram particularmente mais encontrados na porção dorsal desta estrutura (BOWERY *et al.*, 1987; LOVICK, 2000).

Contrariamente aos efeitos observados com o midazolam ou com os agonistas GABAérgicos muscimol e baclofen, a administração intra-SCPD e intra-DHVM do agonista inverso BDZ FG 7142 facilitou a fuga, efeito panicogênico (DOROW *et al*, 1983). Tem sido demonstrado que esta droga provoca intenso desconforto, tensão intolerável e sentimentos de morte iminente em voluntários humanos saudáveis. Em alguns indivíduos, esta reação, que se assemelha a um ataque de pânico, foi tão severa que os experimentos tiveram que ser abandonados por motivos éticos (MALIZIA *et al*, 1995). Embora o efeito sistêmico do FG 7142 no labirinto em T elevado não tenha sido ainda verificado, já foi demonstrado que a droga aumenta a propensão à fuga em ratos testados no labirinto em cruz elevado, uma resposta comportamental também associada ao pânico (JONES *et al*, 2002).

Dentre todas as drogas administradas intra-SCPD utilizadas no presente estudo, o FG 7142 foi a única a alterar a esquiva inibitória do labirinto em T elevado. A droga facilitou significativamente a aquisição desta resposta, o que é um indicativo de seu efeito ansiogênico. Corroborando este resultado, efeitos ansiogênicos da administração intra-SCPD de FG 7142 já haviam sido demonstrados no labirinto em cruz elevado (RUSSO *et al*, 1993). É interessante lembrar que ao contrário do labirinto em cruz elevado, que tem sido considerado como um modelo misto de ansiedade (HANDLEY & MCBLANE, 1993; GRAEFF & ZANGROSSI JR., 2002), as respostas comportamentais medidas no labirinto em T tem sido relacionadas a subtipos específicos de ansiedade encontrados na clínica (GRAEFF *et al*, 1993; VIANA *et al*, 1994; ZANGROSSI, Jr. & GRAEFF, 1997). Neste sentido, a esquiva inibitória tem sido relacionada, tendo por base sua validação comportamental e farmacológica, à ansiedade generalizada, à semelhança das respostas comportamentais de defesa medidas no modelo da

transição claro-escuro. Entretanto, apesar de ter alterado significativamente a resposta de esquiva inibitória do labirinto em T, o FG 7142 não apresentou nenhum efeito significativo nem no número de transições e nem no tempo gasto no compartimento claro do modelo da transição claro-escuro. O porquê da ausência de efeito da droga no modelo é controverso e merece ser melhor investigado. É possível, entretanto, que os resultados tenham sido comprometidos pela experiência prévia dos animais com o labirinto. Assim, para os experimentos com o DHVM, optamos por não incluir os testes com o modelo da transição claro-escuro subsequentemente aos testes com o labirinto em T elevado.

Contrariando o que foi observado com a SCPD, todas as drogas administradas intra-DHVM alteraram significativamente, além da resposta de fuga, a resposta de esquiva inibitória do labirinto em T elevado. Corroborando estes resultados, evidências prévias demonstram que a administração intra-DHVM de GABA apresenta efeito ansiolítico em duas tarefas distintas que envolvem a esquiva como resposta de defesa, a esquiva de uma plataforma iluminada e a esquiva de uma situação potencialmente perigosa (TALALAENKO *et al*, 2001). Adicionalmente, a administração intra-DHVM do antagonista GABA_A bicuculina diminuiu o tempo gasto no compartimento claro do modelo da transição claro-escuro (ZAGRODZKA *et al*, 2000), resposta comportamental de defesa, que com base em sua validação farmacológica, também tem sido associada à ansiedade generalizada. Finalmente, a administração intra-DHVM do agonista BZD midazolam apresentou efeito ansiolítico na porcentagem de entrada e tempo gasto nos braços abertos do modelo do labirinto em cruz elevado, bem como nas medidas realizadas no teste do beber-punido de Vogel (JARDIM *et al*, 2005).

Assim, quando comparados, os resultados obtidos com ambas as estruturas, SCPD e DHVM, no presente estudo, diferem no seguinte sentido: Com exceção do que foi observado com o FG 7142, que quando administrado intra-SCPD alterou também as respostas de esquiva, todas as outras drogas administradas intra-SCPD foram, diferentemente do DHVM, seletivas para a tarefa de fuga. Esta observação, que corrobora o que tem sido demonstrado na literatura, nos leva a concluir que, embora os receptores GABA/BDZ da SCPD estejam primordialmente envolvidos na mediação de um comportamento defensivo que tem sido associado ao distúrbio do pânico, a fuga dos braços abertos do labirinto em T, os mesmos receptores no DHVM aparentemente encontram-se relacionados aos dois subtipos de ansiedade associados às tarefas comportamentais medidas, o distúrbio do pânico e o distúrbio da ansiedade generalizada.

6. Conclusões

Os receptores GABA/BZD de ambas as estruturas estudadas no presente trabalho, SCPD e DHVM, parecem estar envolvidos com a modulação de diferentes respostas comportamentais de defesa medidas através do modelo do labirinto em T elevado, associadas, em termos clínicos, a diferentes distúrbios de ansiedade encontrados na clínica.

- A manipulação do sistema GABA/BZD da SCPD alterou apenas a resposta de fuga de um dos braços abertos do labirinto em T elevado, relacionada, em termos de psicopatologia, ao distúrbio do pânico.
- Já a manipulação do sistema GABA/BZD do DHVM alterou ambas as respostas comportamentais de defesa medidas no labirinto em T elevado, a esquiva inibitória e a fuga de uma via, respectivamente relacionadas, em termos clínicos, com o distúrbio de ansiedade generalizada e com o distúrbio do pânico.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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.

ARTAIZ, I.; ZAZPE, A.; DEL RIO, J. Characterization of serotonergic mechanisms involved in the behavioural inhibition induced by 5-hydroxytryptophan in a modified light-dark test in mice. **Behav. Pharmacol.** v.9, p.103-112. 1998.

AUDI, E.A. & GRAEFF, F.G. Benzodiazepine receptors in the periaqueductal grey mediate anti-aversive drug action. **Eur. J. Pharmacol.** v.103, p.279-285. 1984.

AUDI, E.A. & GRAEFF, F.G. GABA_A receptors in the midbrain central grey mediate the antiaversive action of GABA. **Eur. J. Pharmacol.** v.135, p.225-229. 1987.

AZEVEDO, R. The defense reactions elicited by midbrain and hypothalamic stimulation in the rabbit. **J Physiol.** v. 301, p.56-57. 1980.

BANDLER, R.; CARRIVE, P.; DEPAULIS, A. Introduction: emerging principles of organization of the midbrain periaqueductal gray matter . In: DEPAULIS, A. & BANDLER, R. **The midbrain periaqueductal matter: functional, anatomical and neurochemical organization.** Plenum Press. New York. p.1-8. 1991.

BARD, P. A Diencephalic mechanism for the expression of rage with special reference to the sympathetic nervous system. **Am J Physiol.** v.84, p. 490-513. 1928.

BEHBEHANI, M.M. Functional characteristics of the midbrain periaqueductal gray. **Prog. Neurobiol.** v.46, p.575-605. 1995.

BEHBEHANI, M.M.; PARK, M.R.; CLEMENT, M.E. Interactions between the lateral hypothalamus and the periaqueductal gray. **J. Neurosci.** v.8, p.2780-2787. 1988.

- BEITZ, A.J. Central Gray . In: BEITZ, A.J. **The human nervous system**. Academic Press. p.307-320. 1990.
- BEITZ, A.J.; CLEMENTS, J.R.; MULLET, M.A.; ECKLUND, L.L. Differential origin of brainstem serotonergic projections to the midbrain periaqueductal gray and superior colliculus of the rat. **J. Comp Neurol**. v.250, p.498-509. 1986.
- BERNARDIS, L.L.; BELLINGER, L.L. The dorsomedial hypothalamic nucleus revisited: 1998 update. **Proc Soc Exp Biol Med**. v.218(4), p.284-306. 1998.
- BERTOGLIO, L.J.; ZANGROSSI, H. JR. Involvement of dorsolateral periaqueductal gray cholecystokinin-2 receptors in the regulation of a panic-related behavior in rats. **Brain Res**. v.1059(1), p.46-51. 2005.
- BLANCHARD, D.C.; BLANCHARD, R.J. Ethoexperimental approaches to the biology of emotion. **Ann. Rev. Psychol.**, v.39, p.43-68. 1998.
- BORELLI, K.G.; FERREIRA-NETTO, C.; BRANDAO, M.L. Distribution of Fos immunoreactivity in the rat brain after freezing or escape elicited by inhibition of glutamic acid decarboxylase or antagonism of GABA-A receptors in the inferior colliculus. **Behav Brain Res**. v.170(1):84-93. 2006.
- BOVIER, P.; BROEKKAMP, C.L.; LLOYD, K.G. Enhancing GABAergic transmission reverses the aversive state in rats induced by electrical stimulation of the periaqueductal grey region. **Brain Res**. v.248, p.313-320. 1982.
- BOWERY, N.G.; HUDSON, A.L.; PRICE, G.W. GABAA and GABAB receptor site distribution in the rat central nervous system. **Neuroscience**. v.20(2), p.365-383. 1987.
- BRANDAO, M.L. et al. GABA mediation of the anti-aversive action of minor tranquilizers. **Pharmacol. Biochem. Behav**. v.16, p.397-402. 1982.

BRANDAO, M.L.; DI SCALA, G.; BOUCHET, M.J.; SCHMITT, P. Escape behavior produced by blockade of glutamic acid decarboxylase (GAD) in mesencephalic central gray. **Pharmacol. Biochem. Behav.** v.24, p.497-501. 1986.

BRANDÃO, M.L. **As Bases Biológicas do Comportamento: Introdução à Neurociência**, Editora Pedagógica Universitária (EPU), 2004.

BRESLOW, M.F.; FANKHAUSER, M.P.; POTTER, R.L.; MEREDITH, K.E.; MISIASZEK, J.; HOPE, D.G. JR.. Role of gamma-aminobutyric acid in antipanic drug efficacy. **Am. J. Psychiatry** v.146, p.353-356. 1989.

BRUTUS, M.; SHAIKH, M.B.; SIEGEL, A. Differential control of hypothalamically elicited flight behavior by the midbrain periaqueductal gray in the cat. **Behav. Brain Res.** v. 17, p. 235-244. 1985.

CANTERAS, N.S. The medial hypothalamic defensive system: hodological organization and functional implications. **Pharmacol Biochem Behav.** v.71(3), p.481-491. 2002.

CANTERAS, N.S.; CHIAVEGATTO, S.; VALLE, L.E.; SWANSON, L.W. Severe reduction of rat defensive behavior to a predator by discrete hypothalamic chemical lesions. **Brain Res Bull.**v.44(3), p.297-305. 1997.

CARLI, M.; PRONTERA, C.; SAMANIN, R. Evidence that central 5-hydroxytryptaminergic neurones are involved in the anxiolytic activity of buspirone. **Br. J. Pharmacol.** v.96, p.829-836. 1989.

CARRIVE, P. The periaqueductal gray and defensive behavior: functional representation and neuronal organization. **Behav. Brain Res.** v.58, p.27-47. 1993.

CARSTENS, E.; LEAH, J.; LECHNER, J.; ZIMMERMANN, M. Demonstration of extensive brainstem projections to medial and lateral thalamus and hypothalamus in the rat. **Neuroscience.** v.35, p.609-626. 1990.

CHAOULOFF, F.; DURAND, M.; MORMEDE, P. Anxiety- and activity-related effects of diazepam and chlordiazepoxide in the rat light/dark and dark/light tests. **Behav. Brain Res.** v.85, p.27-35. 1997.

COIMBRA, N.C.; DE OLIVEIRA, R.; FREITAS, R.L.; RIBEIRO, S.J.; BORELLI, K.G.; PACAGNELLA, R.C.; MOREIRA, J.E.; DA SILVA, L.A.; MELO, L.L.; LUNARDI, L.O.; BRANDAO, M.L. Neuroanatomical approaches of the tectum-reticular pathways and immunohistochemical evidence for serotonin-positive perikarya on neuronal substrates of the superior colliculus and periaqueductal gray matter involved in the elaboration of the defensive behavior and fear-induced analgesia. **Exp Neurol.** v.197(1), p.93-112. 2006.

COSTALL, B.; DOMENEY, A.M.; FARRE, A.J.; KELLY, M.E.; MARTINEZ, L.; NAYLOR, R.J. Profile of action of a novel 5-hydroxytryptamine_{1A} receptor ligand E-4424 to inhibit aversive behavior in the mouse, rat and marmoset. **J. Pharmacol. Exp. Ther.** v.262, p.90-98. 1992.

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

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

CRAWLEY, J. & GOODWIN, F.K. Preliminary report of a simple animal behavior model for the anxiolytic effects of benzodiazepines. **Pharmacol. Biochem. Behav.** v.13, p.167-170. 1980.

CULLINAN, W.E.; HERMAN, J.P.; BATTAGLIA, D.F.; AKIL, H.; WATSON, S.J. Pattern and time course of immediate early gene expression in rat brain following acute stress.

Neuroscience. v.64(2), p.477-505. 1995.

CULLINAN, W.E.; HELMREICH, D.L.; WATSON, S.J. Fos expression in forebrain afferents to the hypothalamic paraventricular nucleus following swim stress. **J Comp Neurol.** v.368(1), p.88-99. 1996.

CUSTÓDIO-TEIXEIRA, R.; ZANGROSSI, H. JR.; GRAEFF, F.G. Behavioral effects of acute and chronic imipramine in the elevated T-maze model of anxiety. **Pharmacol. Biochem. Behav.** v.65, p.571-576. 2000.

DARWIN, C. **The expression of the emotions in man and animals.** Chicago. The University of Chicago Press. 1965.

DAVIDSON, J.R. Pharmacotherapy of generalized anxiety disorder. **J. Clin. Psychiatry.** v.62 Suppl 11, p.46-50. 2001.

DE BORTOLI V.C., NOGUEIRA R.L., ZANGROSSI H. JR. Effects of fluoxetine and buspirone on the panicolytic-like response induced by the activation of 5-HT_{1A} and 5-HT_{2A} receptors in the rat dorsal periaqueductal gray. **Psychopharmacology** (Berl). v.183(4):422-428. 2006.

DI SCALA, G.; SCHMITT, P.; KARLI, P. Flight induced by infusion of bicuculline methiodide into periventricular structures. **Brain Res.** v.309, p.199-208. 1984.

DIELENBERG, R.A.; HUNT, G.E.; MCGREGOR, I.S. "When a rat smells a cat": the distribution of Fos immunoreactivity in rat brain following exposure to a predatory odor.

Neuroscience. v.104(4), p.1085-1097. 2001.

DOROW, R.; HOROWSKI, R.; PASCHELKE, G.; AMIN, M. Severe anxiety induced by FG 7142 a beta carboline ligand for benzodiazepine receptors. **Lancet**. v.8342, p.98-99. 1983.

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

EICHENBERGER, G.C.; RIBEIRO, S.J.; OSAKI, M.Y.; MARUOKA, R.Y.; RESENDE, G.C.; CASTELLAN-BALDAN, L.; CORREA, S.A.; DA SILVA, L.A.; COIMBRA, N.C. Neuroanatomical and psychopharmacological evidence for interaction between opioid and GABAergic neural pathways in the modulation of fear and defense elicited by electrical and chemical stimulation of the deep layers of the superior colliculus and dorsal periaqueductal gray matter. **Neuropharmacology**. v.42, p.48-59. 2002.

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

FLYNN, J. P.; EDWARDS, S.B.; BANDLER, R.J. JR. Changes in sensory and motor systems during centrally elicited attack. **Behav Sci**. v.16(1), p.1-19. 1971.

FOUCAULT, M. **Doença Mental e Psicologia**. Rio de Janeiro. Editora Tempo Brasileiro Ltda. 6ª. 2000.

FRAZÃO, J.R. & BATISTA, J.B. **A perspectiva antropológica do existencialismo**. Metanóia. v.1, p.65-68. 1998.

FREUD, S. **Inibição, Sintoma e Angústia**. Rio de Janeiro. Editora Estandart Brasileira. 2ª. 1970.

- FUCHS, S.A.; EDINGER, H.M.; SIEGEL, A. The organization of the hypothalamic pathways mediating affective defensive behavior in the cat. **Brain Res.** v. 330, p. 77-92. 1985.
- GELLER, I. & BLUM, K. The effects of 5-HTP on para-Chlorophenylalanine (p-CPA) attenuation of "conflict" behavior. **Eur. J. Pharmacol.** v.9, p.319-324. 1970.
- GENTIL, V. Ansiedade e Transtornos Ansiosos . In: GENTIL, V. et al. **Pânico, Fobias e Obsessões**. EDUSP. São Paulo. 3ª ed. p.29-36. 1997.
- GRAEFF, F.G. Minor tranquilizers and brain defense system. **Braz. J. Med. Biol. Res.** v.14, p.239-265. 1981.
- GRAEFF, F.G. Animal models of aversion . In: SIMON, P. et al. **Animal models of Psychiatry**. Karger. p.115-141. 1988.
- GRAEFF, F.G. Brain defense systems and anxiety. In: BURROWS, G.D. et al. Handbook of anxiety, vol.3: **The neurobiology of anxiety**. Elsevier Science Publishers. Amsterdam. p.307-354. 1990.
- GRAEFF, F.G. Neurotransmitters in the dorsal periaqueductal gray and animal models of panic anxiety . In: BRILEY, M. & FILE, S.E. **New Concepts in Anxiety**. MacMillan Press. London. p.288-312. 1991.
- GRAEFF, F.G. Ansiedade . In: GRAEFF, F.G. & BRANDAO, M.L. **Neurobiologia das Doenças Mentais**. Lemos Editorial. São Paulo. 5ª ed. p.135-178. 1999.
- GRAEFF, F.G. Medicamentos Ansiolíticos . In: GRAEFF, F.G. & GUIMARAES, F.S. **Fundamentos de Psicofarmacologia**. Editora Ateneu. São Paulo. p.123-160. 1999.
- GRAEFF, F.G.; BRANDAO, M.L.; AUDI, E.A.; MILANI, H. Role of GABA in the anti-aversive action of anxiolytics. **Adv. Biochem. Psychopharmacol.** v.42, p.79-86. 1986a.

- GRAEFF, F.G.; BRANDAO, M.L.; AUDI, E.A.; SCHUTZ, M.T. Modulation of the brain aversive system by GABAergic and serotonergic mechanisms. **Behav. Brain Res.** v.21, p.65-72. 1986b.
- GRAEFF, F.G.; GUIMARAES, F.S.; DE ANDRADE, T.G.; DEAKIN, J.F. Role of 5-HT in stress, anxiety, and depression. **Pharmacol. Biochem. Behav.** v.54, p.129-141. 1996.
- GRAEFF, F.G.; NETTO, C.F.; ZANGROSSI, H. JR. The elevated T-maze as an experimental model of anxiety. **Neurosci. Biobehav. Rev.** v.23, p.237-246. 1998.
- GRAEFF, F.G.; VIANA, M.B.; MORA, P.O. Opposed regulation by dorsal raphe nucleus 5-HT pathways of two types of fear in the elevated T-maze. **Pharmacol. Biochem. Behav.** v.53, p.171-177. 1996.
- GRAEFF, F.G.; VIANA, M.B.; MORA, P.O. Dual role of 5-HT in defense and anxiety. **Neurosci. Biobehav. Rev.** v.21, p.791-799. 1997.
- GRAEFF, F.G.; VIANA, M.B.; TOMAZ, C. The elevated T maze, a new experimental model of anxiety and memory: effect of diazepam. **Braz. J. Med. Biol. Res.** v.26, p.67-70. 1993.
- GRAEFF, F.G.; ZANGROSSI JR, H. Animal models of anxiety . In: D'HAENEN et al. **Biological Psychiatric.** John Wiley & Sons Ltd. p.1-15. 2002.
- GRIMAL, P. **Dicionário da Mitologia Grega e Romana.** Rio de Janeiro. Editora Bertrand Brasil. 2ª ed. 1993.
- HAINES, D. E. **Neurociência Fundamental.** São Paulo. Editora Elsevier. Brasil. 3ª ed. 2006.
- HANDLEY, S.L. & MCBLANE, J.W. 5HT drugs in animal models of anxiety. **Psychopharmacology** (Berl). v.112, p.13-20. 1993.

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

JARDIM, M.C.; AGUIAR, D.C.; MOREIRA, F.A.; GUIMARAES, F.S. Role of glutamate ionotropic and benzodiazepine receptors in the ventromedial hypothalamic nucleus on anxiety. *Pharmacol Biochem Behav.* v.82(1), p.182-189. 2005.

JONES, N.; KING, S.M.; DUXON, M.S. Further evidence for the predictive validity of the unstable elevated exposed plus-maze, a behavioural model of extreme anxiety in rats: differential effects of fluoxetine and chlordiazepoxide. *Behav. Pharmacol.* v.13, p.525-35. 2002.

JUNG, M.E.; DEPOORTERE, R.; OGLESBY, M.W. Use of negatively reinforcing electrical brain stimulation to detect conventional and nonconventional anxiolytics as well as an anxiogenic drug. *Pharmacol Biochem Behav.* v.68(1):33-42. 2001.

KIERKEGAARD, S.A. **O Desespero Humano: Doença até a Morte**. São Paulo. Abril Cultural. 1984.

LAMMERS, J.H.; KRUK, M.R.; MEELIS, W.; VAN DER POEL, A. M. Hypothalamic substrates for brain stimulation-induced attack, teeth-chattering and social grooming in the rat. *Brain Res.* v.449(1-2), p.311-327. 1988.

LAPLANCHE, J. **Novos Fundamentos para a Psicanálise**. São Paulo. Editora Martins Fontes. 1992.

LI, H.Y.; SAWCHENKO, P.E. Hypothalamic effector neurons and extended circuitries activated in "neurogenic" stress: a comparison of footshock effects exerted acutely, chronically, and in animals with controlled glucocorticoid levels. *J Comp Neurol.* v.393(2), p.244-266. 1998.

- LIMA, L.P. **Dicionário da Psicologia Prática**. São Paulo. Editora Honor. 2ª ed. 1970.
- LIPP, H.P.; HUNSPERGER, R.W. Threat, attack and flight elicited by electrical-stimulation of ventromedial hypothalamus of marmoset monkey *callithrix-jacchus*. **Brain Behav. Evol.** V. 15, p. 260-293. 1978.
- LOVICK, T.A. Panic disorder-A malfunction of multiple transmitter control system within the midbrain periaqueductal gray matter? **Neuroscientist** v.6, p.48-59. 2000.
- MALIZIA, A.L.; COUPLAND, N.J.; NUTT, D.J. Benzodiazepine receptor function in anxiety disorder. **Adv Biochem Psychopharmacol.** v.48, p.115-33. 1995.
- MARTINEZ, R.C.; DE OLIVEIRA, A.R.; BRANDAO, M.L. Conditioned and unconditioned fear organized in the periaqueductal gray are differentially sensitive to injections of muscimol into amygdaloid nuclei. **Neurobiol Learn Mem.** v.85(1), p.58-65. 2006.
- MEZZASALMA, M.A.; VALENCA, A.M.; LOPES F.L.; NASCIMENTO, I.; ZIN, WA; NARDI, A.E. Neuroanatomy of panic disorder. **Rev Bras Psiquiatr.** v.26(3), p.202-206. 2004.
- NASHOLD, B. S. JR; WILSON, W.P.; SLAUGHTER, D. G. Sensations evoked by stimulation in the midbrain of man. **J Neurosurg.** v.30(1), p.14-24. 1969.
- MIGUEL, T.T.; NUNES-DE-SOUZA, R.L. Defensive-like behaviors and antinociception induced by NMDA injection into the periaqueductal gray of mice depend on nitric oxide synthesis. **Brain Res.** v.1076(1), p.42-48. 2006.
- MILANI, H. & GRAEFF, F.G. GABA-benzodiazepine modulation of aversion in the medial hypothalamus of the rat. **Pharmacol. Biochem. Behav.** v.28, p.21-27. 1987.
- MOREIRA F.A.; GUIMARAES F.S. Role of serotonin receptors in panic-like behavior induced by nitric oxide in the rat dorsolateral periaqueductal gray: effects of chronic clomipramine treatment. **Life Sci.** v.77(16), p-1972-1982. 2005.

- NASHOLD, B.S. JR.; WILSON, W.P.; SLAUGHTER, D.G. Sensations evoked by stimulation in the midbrain of man. **J. Neurosurg.** v.30, p.14-24. 1969.
- NETTER, F.H. **Atlas of Human Anatomy.** Second Edition. Saunders. NY. 2006
- NOBACK, C.; STROMINGER, N. L.; DEMAREST, R. J. **Neuroanatomia. estrutura e função do sistema nervoso humano.** 5 Ed. Editorial Premier. Sao Paulo. 1999.
- NUTT, D.J. Anxiety and its therapy: today and tomorrow . In: BRILEY, M. & FILE, S.E. **New Concepts in Anxiety.** Macmillan. London. p.1-12. 1991.
- OLDS, M.E. & OLDS, J. Approach-escape interactions in rat brain. **American Journal of Physiology.** v.203, p.803-810. 1962.
- ONAVI, E.S. & MARTIN, B.R. Neuropharmacological and physiological validation of a computer-controlled two-compartment black and white box for the assessment of anxiety. **Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry.** v.13, p.963-976. 1989.
- ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE **Classificação estatística internacional de doenças e problemas relacionados à saúde - 10ª revisão.** São Paulo. EDUSP. 7ª. 1999.
- PANKSEPP, J. Aggression elicited by electrical stimulation of the hypothalamus in albino rats. **Physiol. Behav.** v.25, p. 321-329, 1971.
- PAXINOS, G. & WATSON, C. **The rat brain in stereotaxic coordinates.** Australia. Academic Press Inc. 3ª. 1998.
- PELLOW, S.; CHOPIN, P.; FILE, S.E.; BRILEY, M. Validation of open:closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. **J. Neurosci. Methods.** v.14, p.149-167. 1985.

- PELLOW, S. & FILE, S.E. Anxiolytic and anxiogenic drug effects on exploratory activity in an elevated plus-maze: a novel test of anxiety in the rat. **Pharmacol. Biochem. Behav.** v.24, p.525-529. 1986.
- POLTRONIERI, S.C.; ZANGROSSI, H. JR.; VIANA, M.B. Antipanic-like effect of serotonin reuptake inhibitors in the elevated T-maze. **Behav Brain Res.** v.147(1-2), p.185-92. 2003
- RIZVI, T.A.; ENNIS, M.; BEHBEHANI, M.M.; SHIPLEY, M.T. Connections between the central nucleus of the amygdala and the midbrain periaqueductal gray: topography and reciprocity. **J. Comp Neurol.** v.303, p.121-131. 1991.
- RIZVI, T.A.; ENNIS, M.; SHIPLEY, M.T. Reciprocal connections between the medial preoptic area and the midbrain periaqueductal gray in rat: a WGA-HRP and PHA-L study. **J. Comp Neurol.** v.315, p.1-15. 1992.
- RODGERS, R.J.; CAO, B.J.; DALVI, A.; HOLMES, A. Animal models of anxiety: an ethological perspective. **Braz. J. Med. Biol. Res.** v.30, p.289-304. 1997.
- RUSSO, A.S.; GUIMARAES, F.S.; DE AGUIAR, J.C.; GRAEFF, F.G. Anxiolytic effect of midazolam microinjected into the dorsal periaqueductal grey area of rats. **Braz. J. Med. Biol. Res.** v.24, p.607-609. 1991.
- RUSSO, A.S.; GUIMARAES, F.S.; DE AGUIAR, J.C.; GRAEFF, F.G. Role of benzodiazepine receptors located in the dorsal periaqueductal grey of rats in anxiety. **Psychopharmacology** (Berl). v.110, p.198-202. 1993.
- SANCHEZ, C. Serotonergic mechanisms involved in the exploratory behaviour of mice in a fully automated two-compartment black and white text box. **Pharmacol. Toxicol.** v.77, p.71-78. 1995.

- SANCHEZ, C. 5-HT(1A) receptors play an important role in modulation of behavior of rats in a two-compartment black and white box. **Behav. Pharmacol.** v.7, p.788-797. 1996.
- SANDNER, G.; SCHMITT, P.; KARLI, P. Mapping of jumping, rearing, squealing and switch-off behaviors elicited by periaqueductal gray stimulation in the rat. **Physiol Behav.** v.39, p.333-339. 1987.
- SARTRE, J.P. **Com a morte na alma**. Rio de Janeiro. Editora Nova Fronteira. 4^a. 1983.
- SCHENBERG, L.C.; BITTENCOURT, A.S.; SUDRE, E.C.; VARGAS, L.C. Modeling panic attacks. **Neurosci. Biobehav. Rev.** v.25, p.647-659. 2001.
- SCHENBERG, L.C. & GRAEFF, F.G. Role of the periaqueductal gray substance in the antianxiety action of benzodiazepines. **Pharmacol. Biochem. Behav.** v.9, p.287-295. 1978.
- SCHMITT, P.; DI SCALA, G.; BRANDAO, M.L.; KARLI, P. Behavioral effects of microinjections of SR 95103, a new GABA-A antagonist, into the medial hypothalamus or the mesencephalic central gray. **Eur. J. Pharmacol.** v. 117, p. 149-158. 1985.
- SENA, L.M.; BUENO, C.; POBBE, R.L.; ANDRADE, T.G.; ZANGROSSI, H. JR.; VIANA, M.B. The dorsal raphe nucleus exerts opposed control on generalized anxiety and panic-related defensive responses in rats. **Behav. Brain Res.** v.142, p.125-133. 2003.
- SHEKHAR, A.; HINGTGEN, J.N.; DI MICCO, J.A. GABA receptors in the posterior hypothalamus regulate experimental anxiety in rats. **Brain Res.** v.512(1), p.81-88. 1990.
- SHIPLEY, M.T. Topographical specificity of forebrain in the periaqueductal gray and inputs to the midbrain periaqueductal gray: Evidence for discrete longitudinally organized input columns. In: DEPAULIS, A. & BANDLER, R. **The midbrain**

periaqueductal gray matter: Functional, anatomical and neurochemical organization. Plenum Press. New York. p.417-448. 1991.

SILVEIRA, M.C.L. & GRAEFF, F.G. Regional distribution of Fos-like immunoreactivity in the rat brain after exposure to fear-inducing stimuli. **Brazilian J. Med. Biol. Res.** v. 27, p.1077-1081. 1994.

SILVEIRA, M.C.; SANDNER, G.; DI SCALA, G.; GRAEFF, F.G. C-fos immunoreactivity in the brain following electrical or chemical stimulation of the medial hypothalamus of freely moving rats. **Brain Res.** v. 674, p.265-274. 1995.

TALALAENKO, A.N.; GORDIENKO, D.V.; PANKRAT'EV, D.V.; ZINKOVICH, I.I.; KRIVOBOK, G.K. The role of neurochemical mechanisms of ventromedial hypothalamus in various models of anxiety in rats. **Bull Exp Biol Med.** v.131(1), p.38-40. 2001.

THOMPSON, R.H.; CANTERAS, N.S.; SWANSON, L.W. Organization of projections from the dorsomedial nucleus of the hypothalamus: a PHA-L study in the rat. **J Comp Neurol.** v.376(1), p.143-173. 1996.

THOMPSON, R.H.; SWANSON, L.W. Organization of inputs to the dorsomedial nucleus of the hypothalamus: a reexamination with Fluorogold and PHAL in the rat. **Brain Res Rev.** v.27(2):89-118. 1998.

VALENSTEIN, E.S.; COX, V.C.; KAKOLEWSKI, J.W. Modification of motivated behavior elicited by electrical stimulation of hypothalamus. **Science.** v. 159, p. 1119-1121, 1968.

VARGAS, L.C.; SCHENBERG, L.C. Long-term effects of clomipramine and fluoxetine on dorsal periaqueductal grey-evoked innate defensive behaviours of the rat. **Psychopharmacology** (Berl). v.155, p.260-268. 2001.

VEENING, J. Hypothalamic projections to the PAG in the rat: Topographical, immunoelectronmicroscopical and functional aspects. In: DEPAULIS, A. & BANDLER, R. **The**

midbrain periaqueductal gray matter: Functional, anatomical and neurochemical organization. Plenum Press. New York. p.211-235. 1991.

VIANA, M.B.; TOMAZ, C.; GRAEFF, F.G. The elevated T-maze: a new animal model of anxiety and memory. **Pharmacol. Biochem. Behav.** v.49, p.549-554. 1994.

VIANNA, D.M.L.; LANDEIRA-FERNANDEZ, J. BRANDÃO, M.L. Dorsolateral and ventral region of periaqueductal grey matter are involved in distinct types of fear. **Neurosci. Biobehav. Rev.** v.25, p. 711-719. 2001,

VIANNA, D.M.; BORELLI, K.G.; FERREIRA-NETTO, C.; MACEDO, C.E.; BRANDAO, M.L. Fos-like immunoreactive neurons following electrical stimulation of the dorsal periaqueductal gray at freezing and escape thresholds. **Brain Res Bull.** v.62(3):179-189. 2003.

WOLFLE, T.L.; MAYER, D.J.; CARDER, B.; LIEBESKIND, J.C. Motivational effects of electrical stimulation in dorsal tegmentum of the rat. **Physiol Behav.** v.7, p.569-574. 1971.

YARDLEY, C.P., HILTON, S.M. The hypothalamic and brainstem areas from which the cardiovascular and behavioural components of the defense reactions are elicited in the rat. **J. Auton. Nerv. Syst.** v. 15, p. 227-244. 1986.

ZAGRODZKA, J.; ROMANIUK, A.; WIECZOREK, M.; BOGUSZEWSKI, P. Bicuculline administration into ventromedial hypothalamus: effects on fear and regional brain monoamines and GABA concentrations in rats. **Acta Neurobiol Exp (Wars).** v.60(3), p.333-43. 2000.

ZANGROSSI, H., Jr.; GRAEFF, F.G. Behavioral validation of the elevated T-maze, a new animal model of anxiety. **Brain Res. Bull.** v.44, p.1-5. 1997.

Zanoveli JM, Netto CF, Guimaraes FS, Zangrossi H Jr. Systemic and intra-dorsal periaqueductal gray injections of cholecystokinin sulfated octapeptide (CCK-8s) induce a panic-like response in rats submitted to the elevated T-maze. **Peptides**. v.25(11), p.1935-1941. 2004.

De acordo com:

Manual de Referências e Citações Bibliográficas do Sistema Integrado de Bibliotecas da USP, baseado nas normas da ABNT (Associação Brasileira de Normas Técnicas).

7. APÊNDICE

7.1. Sítios Histológicos da SCPD

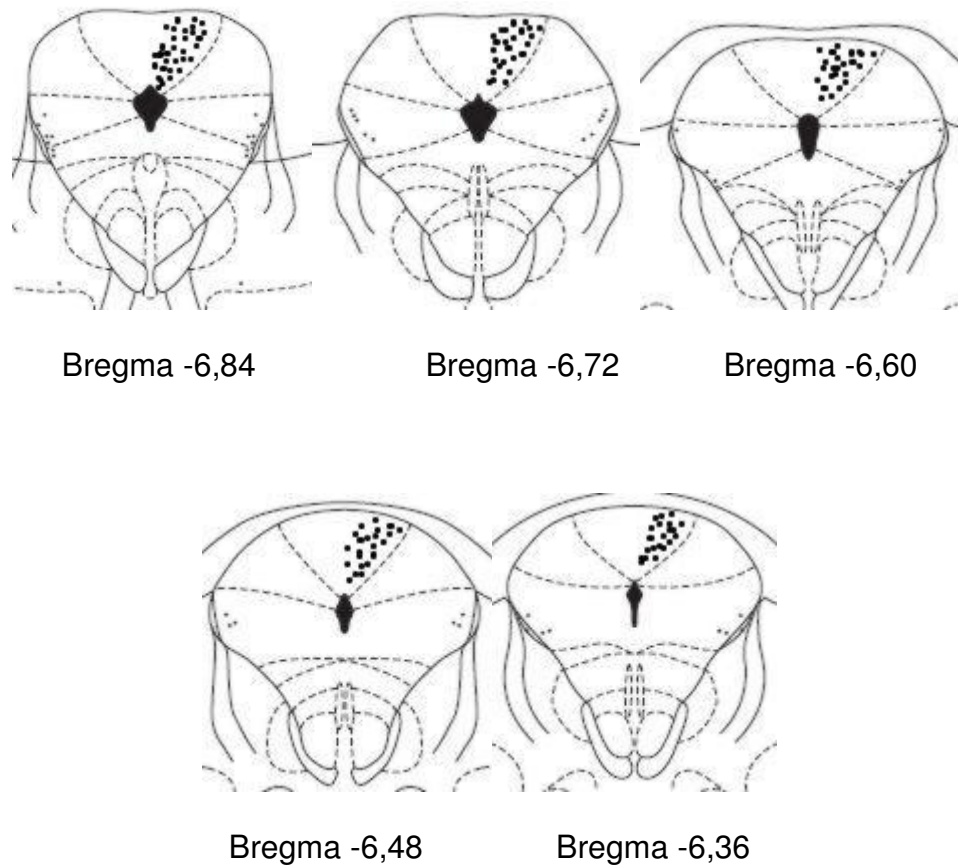


Fig. 15 - Sítios de administração intra-SCPD de midazolam, muscimol, baclofen e FG 7142.

7.2. Sítios Histológicos do DHVM

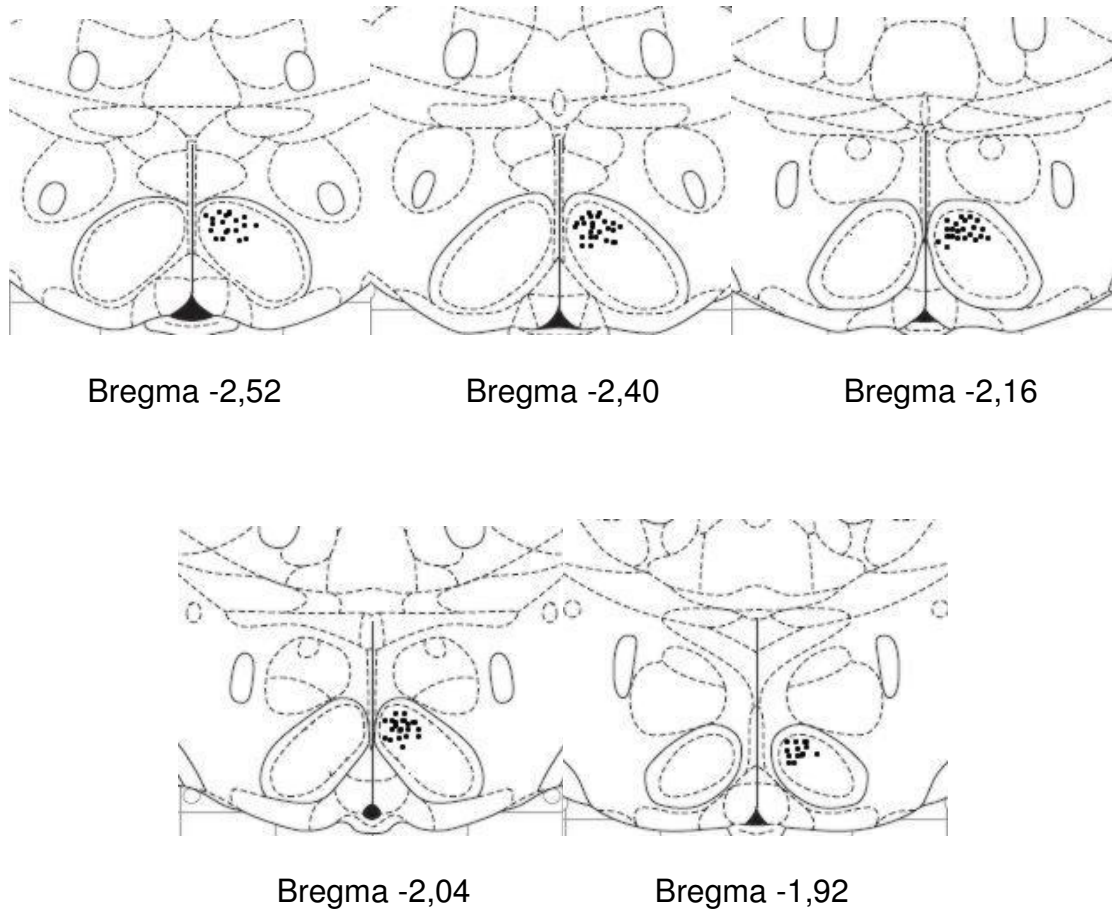


Fig. 16 - Sítios de administração intra-DHVM de midazolam, muscimol, baclofen e FG 7142.

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](#)