UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
Faculdade de Medicina Ribeirão Preto
Departamento de Farmacologia

Papel dos receptores do tipo 5-HT_{2C} do núcleo basolateral do complexo amigdalóide de ratos na modulação de comportamentos defensivos associados à ansiedade e ao pânico

Maria Adrielle Vicente

Ribeirão Preto
2009

Livros Grátis

http://www.livrosgratis.com.br

Milhares de livros grátis para download.

Maria Adrielle Vicente

Papel dos receptores do tipo 5-HT_{2C} do núcleo basolateral do complexo amigdalóide de ratos na modulação de comportamentos defensivos associados à ansiedade e ao pânico

Dissertação de Mestrado apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo para a obtenção do título de Mestre em Ciências.
Área de concentração: Farmacologia

Orientador: Hélio Zangrossi Júnior

Ribeirão Preto
2009

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

FICHA CATALOGRÁFICA

Vicente, Maria Adrielle

Papel dos receptores do tipo 5-HT_{2C} do núcleo basolateral do complexo amigdalóide de ratos na modulação de comportamentos defensivos associados à ansiedade e ao pânico. Ribeirão Preto, 2009.

81 p.: il.

Dissertação de Mestrado, apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto/USP. Área de concentração; Farmacologia.

Orientador: Zangrossi Júnior, Hélio.

1. Núcleo basolateral do complexo amigdalóide. 2. Ratos. 3. Serotonina. 4. receptores do tipo 5-HT_{2C}. 5. Labirinto em T elevado. 6. Ansiedade.

RESUMO

Vicente, Maria Adrielle. **Papel dos receptores do tipo 5-HT_{2C} do núcleo basolateral do complexo amigdalóide de ratos na modulação de comportamentos defensivos associados à ansiedade e ao pânico.** 2009. 81f. Dissertação (mestrado) – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo – Ribeirão Preto, 2009.

Evidências na literatura apontam o núcleo basolateral do complexo amigdalóide como uma estrutura importante na elaboração e controle das respostas defensivas. O sistema serotonérgico é um dos tantos sistemas de neurotransmissão que estão envolvidos nessas respostas. Dentre os diferentes subtipos de receptores serotonérgicos existentes, os do tipo 5-HT_{2C} é um dos mais estudados com relação à mediação dos processos de ansiedade. A estimulação de receptores 5-HT_{2C} tem efeito do tipo ansiogênico em diferentes modelos animais de ansiedade. Porém, não se conhece ainda a real participação desses receptores localizados no núcleo basolateral do complexo amigdalóide sobre as respostas de esquiva e fuga geradas no labirinto em T elevado relacionas, respectivamente, com ansiedade generalizada e pânico. Assim, o presente trabalho teve por objetivo verificar o papel dos receptores serotonérgicos do tipo 5-HT_{2C} do núcleo basolateral do complexo amigdalóide na modulação das respostas defensivas associadas à ansiedade generalizada e ao pânico. Foram realizadas injeções bilaterais intra-núcleo basolateral do agonista endógeno serotonina, do agonista preferencial de receptores 5-HT_{2C} MK-212 ou do antagonista seletivo desses receptores SB242084 em ratos submetidos ao teste do labirinto em T elevado e teste de transição claro-escuro. Os resultados mostram que a administração do agonista endógeno serotonina e do agonista de receptores do tipo 5-HT_{2C} MK-212 promove uma facilitação na aquisição da esquiva inibitória em ratos testados no labirinto em T elevado. A administração dos agonistas também diminui o tempo gasto pelos animais no compartimento claro da caixa claro-escuro, também sugerindo um efeito do tipo ansiogênico. Por outro lado, a administração local do antagonista dos receptores 5-HT_{2C} SB-242084 prejudica tal resposta. Esse mesmo tratamento não altera a resposta no teste de transição claro-escuro. A administração prévia de SB-242084 é capaz de bloquear o efeito ansiogênico promovido pela serotonina. Nem a ativação nem o bloqueio desses receptores exerceu efeito sobre a resposta de fuga. Em suma, nossos resultados sugerem que os receptores 5-HT_{2C} do núcleo basolateral do complexo amigdalóide têm papel regulatório sobre a resposta de esquiva inibitória, mas não sobre a resposta de fuga gerada no labirinto em T elevado.

ABSTRACT

Vicente, Maria Adrielle. **Role of 5-HT_{2C} receptors of basolateral nucleus of the amygdala in defensive behaviors related to anxiety and panic.** 2009. 81f. Dissertação (mester degree) – School of Medicine of Ribeirão Preto – University of São Paulo – Ribeirão Preto, 2009.

A wealth of evidence highlights the importance of serotonergic mechanisms within the basolateral nucleus of the amygdala for the regulation of defensive responses. However, conflicting evidence exists on the role of played by different 5-HT receptor subtypes such as 5-HT_{1A}, 5-HT_{2A} and 5-HT_{2C} receptors in this process. For instance, previous studies show that whereas activation of the former two subtypes causes anxiolytic-like effect in the elevated T-maze, stimulation of 5-HT_{2C} receptors has anxiogenic consequences in different animal models of anxiety. In this study we further explored the role played by 5-HT_{2C} receptors of the basolateral nucleus of the amygdala in the regulation of defensive behaviors that have been associated with generalized anxiety and panic. The results showed that bilateral injection of the endogenous agonist serotonin or the 5-HT_{2C} receptor agonist MK-212 facilitates inhibitory avoidance acquisition in rats tested in the elevated T-maze. Both drugs decreased the time spent by the animals in the light compartment of a light-dark box, also suggesting an anxiogenic-like effect. On the other hand, local administration of the 5-HT_{2C} receptor antagonist SB-242084 impaired inhibitory avoidance acquisition in the elevated T-maze, but was without effect upon the behaviors measured in the light-dark transition test. Previous administration of SB-242084 blocked the anxiogenic effect of serotonin on inhibitory avoidance acquisition in the T-maze. Neither the blockade nor the activation of 5-HT_{2C} receptors of the basolateral nucleus of the amygdala affected escape performance in the elevated T-maze. In summary, the results obtained in the present study are indicative that 5-HT_{2C} receptors in the basolateral nucleus of the amygdala are selectively involved in the regulation of defensive behaviors that are associated with generalized anxiety but not panic disorder.

INTRODUÇÃO

Ansiedade e Reações de Defesa

A ansiedade pode ser caracterizada como uma experiência subjetiva, de caráter desagradável ou não prazeroso, cuja expressão plena envolve alterações comportamentais, fisiológicas e cognitivas (Graeff, 1994). Até um determinado nível, a ansiedade é importante para o bom desempenho do indivíduo, ativando e mobilizando o organismo à sua adaptação ao ambiente. Porém, quando se torna excessiva, a ansiedade pode ser considerada patológica, prejudicando a execução de funções básicas (Graeff e Brandão, 1999).

Segundo o Manual de Diagnóstico e Estatístico das Doenças Mentais (American Psychiatry Association, 1994), a ansiedade patológica primária é classificada em diversos transtornos, sendo eles: transtorno de ansiedade generalizada, transtorno de pânico sem ou com agorafobia, agorafobia sem história de transtorno de pânico, fobia específica, fobia social, transtorno obsessivo-compulsivo, transtorno de estresse pós-traumático, transtorno de estresse agudo, transtorno de ansiedade devido a uma condição médica geral, transtorno de ansiedade induzido por substância e transtorno de ansiedade sem nenhuma especificação. No entanto, essas diferentes formas de ansiedade nem sempre respondem aos mesmos tratamentos farmacológicos e abordagens terapêuticas.

Muito do que se conhece sobre as bases neurais e do tratamento dos diferentes distúrbios de ansiedade foi obtido através da utilização de modelos animais de ansiedade. A correlação dos estados emocionais em humanos com as respostas comportamentais emitidas pelos animais é feita com base na perspectiva evolutiva proposta por Charles Darwin, publicada em seu livro: *A expressão das emoções nos homens e nos animais* (1872). Segundo Darwin, o homem, tendo

outros animais como ancestrais, compartilharia com esses tanto características físicas quanto comportamentais. De acordo com essa perspectiva, os estados emocionais de ansiedade e medo humano teriam raízes filogenéticas nos comportamentos defensivos de animais frente a estímulos que representam perigo ou ameaça à sobrevivência.

Baseados na observação de comportamentos de roedores frente a predadores, os pesquisadores Caroline e Robert Blanchard classificaram a estratégia defensiva adotada pelo animal de acordo com o nível de ameaça ao qual os roedores são expostos: potencial, distal ou proximal. O primeiro nível, caracterizado pela incerteza da existência do perigo, gera a resposta de exploração cautelosa em direção a fonte de ameaça, como os comportamentos de avaliação de risco e esquiva. No segundo nível, quando o perigo é real, mas se apresenta a uma certa distância, o animal tenta escapar da situação com a resposta de fuga. No entanto, quando a fuga não é possível, o animal tende a permanecer imóvel, no estado de congelamento, diminuindo, assim, a probabilidade dele ser identificado pelo predador. Já no terceiro nível, quando o predador está muito próximo ou em contato com a presa, ocorrem tentativas explosivas de fuga ou respostas de agressão defensiva (Blanchard et al., 1993; Blanchard et al., 2001). Experimentos de validação farmacológica também foram conduzidos por Blanchard e colaboradores (1986; 1993; 1998; 2001) a fim de se estabelecer uma relação entre os diferentes níveis de defesa e distintos transtornos de ansiedade, como transtorno de pânico e ansiedade generalizada. Assim, o emprego de drogas utilizadas no tratamento do transtorno de ansiedade generalizada, como ansiolíticos benzodiazepínicos, agonistas serotonérgicos como a buspirona e antidepressivos tricíclicos (tratamento crônico) causava uma redução nos comportamentos de avaliação de risco e esquiva

(Blanchard et al., 1993; 2001). Embora eficazes no tratamento da ansiedade generalizada, os benzodiazepínicos (exceto os de alta potencia) e a buspirona, quando utilizados no tratamento de transtorno de pânico, são ineficazes (Tesar e Rosenbaum, 1993). Da mesma forma, os comportamentos de congelamento, de fuga ou de ataques defensivos emitidos por animais frente à aproximação do perigo não são alterados com esses tratamentos (Blanchard et al., 1986). Ainda, com a administração crônica de imipramina e fluoxetina, tanto a resposta de avaliação de risco e esquiva como a resposta de fuga dos animais foram alteradas (Blanchard et al., 2001). Essas últimas drogas são eficazes tanto no tratamento do transtorno de ansiedade generalizada, como do transtorno de pânico (Nutt, 1991; Rickels et al., 1993).

Gray e McNaughton (2000) fizeram algumas considerações a esta análise etoexperimental do casal Blanchard, baseados no conceito de distância defensiva. Estes autores introduziram o conceito de direção defensiva, no qual a situação de conflito entre a aproximação e a esquiva seria essencial para se caracterizar a ansiedade. Segundo os autores, a ansiedade só existe quando ocorre tendência de aproximação do animal da fonte de perigo, como, por exemplo, no comportamento de avaliação de risco. Adicionalmente, Gray e McNaughton salientam que estímulos condicionados, que sinalizam punição ou a perda de uma recompensa esperada, também desencadeiam respostas do primeiro nível de defesa. Para os autores, quando o comportamento de fuga está presente, existe o medo. Desta forma, os autores fazem a distinção entre ansiedade e medo.

As bases neurais

Desde o final do século XIX, muitos estudos têm sido realizados a fim de se investigar os substratos neurais envolvidos nas emoções. Vários pesquisadores, com base em dados da clínica ou de pesquisas com animais, começaram a elaborar teorias apontando determinadas estruturas cerebrais como participantes dos processos emocionais, delineando sistemas neurais capazes de gerar e controlar as respostas emocionais (LeDoux, 1988; Panksepp, 1998).

Em 1927, Cannon, estudando o efeito de lesões em diversas áreas cerebrais, observou que animais com lesão no hipotálamo apresentavam respostas emocionais inapropriadas relacionadas com estímulos ambientais. Tais descobertas apontavam o hipotálamo como um dos centros emocionais do cérebro. Levando em conta a participação do córtex, inicialmente proposto por Willian James desde 1884 (*apud* Panksep, 1998) como estrutura envolvida no controle das emoções, Cannon sugeriu que o hipotálamo e o córtex tinham acesso às informações ao mesmo tempo, o que explicava porque a retirada do córtex não impedia a expressão das emoções (LeDoux, 1988; Panksep, 1998).

Mais tarde, James Papez (1937) elaborou uma teoria associando a experiência subjetiva das emoções à ativação de um circuito de conexões entre o hipotálamo e o córtex medial. Papez propôs uma rede neural mais detalhada que a de Cannon, onde ele enfoca a idéia de que as mensagens sensoriais provindas do corpo encaminham-se para o tálamo e podem ser transmitidas por duas vias. Uma, onde as informações sensoriais, através de vias talâmicas, chegam até o córtex e são transformadas em percepções, pensamentos e lembranças, e outra, que consiste de vias que vão para o hipotálamo, possibilitando a geração das reações corporais características das emoções. Os processos de memória são ativados por

uma via que liga o hipotálamo ao tálamo e daí a informação segue para o córtex cingulado chegando até o hipocampo. Do hipocampo a informação é retransmitida ao hipotálamo que permite que os pensamentos localizados no córtex cerebral controlem as reações emocionais. Essa série de conexões recebeu o nome de circuito de Papez (para revisão ver Panksep, 1998).

As pesquisas sobre a origem cerebral das emoções continuaram avançando. Paul MacLean (1952) reafirmou importância do hipotálamo e do córtex na expressão e na experiência emocional. Observou também que a estimulação de regiões como o córtex cingulado, o complexo amigdalóide e o hipocampo produziam reações autonômicas e que essas estruturas mantinham ligações entre o córtex e o hipotálamo. A partir daí, MacLean ampliou a teoria de Papez, adicionando ao circuito de Papez outras estruturas: o complexo amigdalóide, o septo e o hipocampo. Esse circuito neural, capaz de controlar as emoções, recebeu o nome de sistema límbico.

A idéia da existência de um grande sistema emocional responsável pela elaboração e controle dos estados emocionais foi bem aceita durante muitos anos. Atualmente, muitos pesquisadores sustentam que as emoções possuam grande valor adaptativo para o individuo. Assim, se diferentes emoções estão associadas a diferentes funções de sobrevivência, provavelmente requeiram ativação de diferentes sistemas cerebrais. Nesse sentido, há fortes indícios da existência de um sistema responsável pelo processamento de informações aversivas e organização das respostas comportamentais e situações de perigo (Graeff, 1990; Brandão et al., 1993; LeDoux, 1994; Brandão et al., 1999). Assim, Graeff, em 1981, levantou a hipótese da existência de um sistema que estaria envolvido com o comando de comportamentos defensivos e a elaboração de estados motivacionais e emocionais aversivos, o qual denominou de sistema cerebral aversivo.

O sistema cerebral aversivo seria composto por estruturas como o hipotálamo medial, a substância cinzenta periaquedutal dorsal e o complexo amigdalóide. A estimulação elétrica dessas estruturas produz um padrão característico de respostas, como atividade motora intensa e algumas reações neurovegetativas, similares àquelas evocadas quando o animal é confrontado com estímulos aversivos ou dolorosos em situação natural (Deakin e Graeff, 1991; Deakin et al., 1994; Graeff, 1994). Dentre as estruturas que fazem parte das bases do sistema cerebral aversivo, o complexo amigdalóide é de particular interesse para o presente trabalho.

O Complexo amigdalóide

O primeiro relato da existência do complexo amigdalóide foi feito no século IXX, quando Burdach observou cortes de hemisférios cerebrais humanos e descobriu, no lobo temporal, uma massa cinzenta que chamou de núcleo amigdalar (Burdach, 1819, *apud* Swanson e Petrovich, 1998). Essa massa cinzenta identificada por Burdach era um grupo de células que hoje corresponde a um dos grupos amigdalóides, o grupo basolateral. Posteriormente, estruturas que circundavam este grupo de células foram identificadas e incorporadas ao que atualmente é conhecido como complexo amigdalóide (Swanson e Petrovich, 1998; Sah et al., 2003).

Um século após sua identificação no cérebro, surgiam as primeiras evidências neurobiológicas de que o complexo amigdalóide estaria envolvido na modulação das respostas emocionais. Tais evidências foram obtidas à partir dos estudos de Heinrich Kluver e Paul Bucy (1939), nos quais foi observado que lesões do lobo temporal de primatas afetavam profundamente a relação entre o animal e o

ambiente. As lesões observadas pelos autores causavam uma gama de alterações comportamentais onde os animais permaneciam dóceis na presença de estímulos, anteriormente temíveis. Estudos posteriores revelaram que esse quadro se manifestava devido à lesão de uma área específica do lobo temporal, o complexo amigdalóide. Assim, um grande número de estudos foi realizado para se entender melhor essas alterações. Para isso, foram realizadas lesões no complexo amigdalóide, de modo que foi observada a diminuição da resposta de medo a estímulos ameaçadores em diferentes espécies (Rosvolde et al., 1954; Downer, 1961; Fonberg, 1965; Ursin, 1965; Horel et al., 1975; Dafters, 1976; Kapp et al., 1979; LeDoux, 1990; Adolphs et al., 1994).

Outros trabalhos mostraram ainda que a estimulação elétrica do complexo amigdalóide de animais eliciava respostas comportamentais e autonômicas que normalmente são produzidas em situações de perigo ou ameaça, como: congelamento, luta, fuga, aumento da pressão arterial e freqüência cardíaca (Ursin e Kaada, 1960; Kapp et al., 1982; Shekhar et al., 2003) e sensação de medo em humanos (Halgren, 1993). Dessa forma, cada vez mais se consolidava a importância do complexo amigdalóide como um componente essencial na modulação de comportamentos defensivos e de alterações autonômicas que os acompanham (Fernadez de Molina e Hunsperger, 1959; Downer, 1961; Horel et al., 1975; Aggleton e Passingham, 1981). Enquanto alguns autores mostraram que a lesão do complexo amigdalóide diminuía as respostas de medo (Jellestad e Bakke, 1985; Yamashita et al., 1989; Yadin et al., 1991; Davis, 1992; Helmstetter, 1992), outros relatavam que a lesão não alterava (Jonason e Enloe, 1973; Kolb e Nonneman, 1974) ou potencializava as diferentes respostas defensivas (Rosvold et al., 1954; Goddard, 1964). Tais contradições, observadas após lesões no complexo amigdalóide,

apontavam para um fato que já vinha sendo observado: a participação diferencial dos núcleos amigdalóides na modulação de respostas defensivas.

Desde a primeira descrição dos diferentes subnúcleos amigdalóides, inúmeras variações são encontradas na literatura quanto à organização e subdivisões do complexo amigdalóide (McDonald, 1998; Swanson e Petrovich, 1998; Pitkanen, 2000; Sah et al., 2003). De acordo com uma proposta recentemente formulada por Sah e colaboradores (2003), o complexo amigdalóide pode ser dividido em três grandes grupos que são diferenciados de acordo com seus aspectos anatômicos, fisiológicos e funcionais. São eles: 1- grupo basolateral, composto pelos núcleos lateral, basolateral e basomedial; 2- grupo centro medial, formado pelos núcleos medial e central; 3- o grupo cortical, que inclui os núcleos corticais anterior e posterior.

Os estudos sobre o papel diferencial dos núcleos do complexo amigdalóide tiveram início com trabalhos de estimulação elétrica de regiões amigdalóide de gatos (Ursin e Kaada, 1960; Horvath, 1963; Ursin, 1965). A partir de então, este fato vem sendo verificado em estudos que utilizam diferentes técnicas, desde a lesão até a marcação da proteína *fos* (Campeau et al., 1991; De Oliveira et al., 2000) e manipulações farmacológicas (Hodges et al., 1987; Shibata et al., 1982; 1986; Duxon et al., 1997). Nestes estudos o papel do núcleo basolateral na modulação/regulação das respostas defensivas tem sido fortemente destacado, como discutido mais adiante.

Além desses diferentes núcleos, diferentes sistemas de neurotransmissão no complexo amigdalóide têm sido envolvidos na modulação das várias respostas defensivas, dentre eles, ressaltamos o sistema serotonérgico (Graeff, 1981; File et al., 1981; Hodges, 1987).

A serotonina, a teoria de Deakin e Graeff e o labirinto em T elevado

A confirmação clínica das propriedades ansiolíticas de drogas serotonérgicas, como a buspirona (Eison et al., 1989) e antidepressivos/ansiolíticos (Argyropoulos et al., 2000), impulsionou a investigação sobre o envolvimento da serotonina na fisiopatologia da ansiedade, bem como do mecanismo de ação dessas drogas (Graeff, 1981; 1990; 1993; 1994; Griebel, 1995; Gray e McNaughton, 2000; Zangrossi et al., 2001; Graeff e Zangrossi, 2002).

As primeiras evidências relacionando serotonina e ansiedade foram obtidas utilizando os modelos animais de ansiedade, mais especificamente modelos que envolvem conflito. Nesses modelos, o comportamento operante do animal é, ao mesmo tempo, mantido pela apresentação de uma recompensa e suprimido pela apresentação de estímulos aversivos, por exemplo, choques elétricos (Geller e Seifter, 1960).

Em 1970, foi observado que a administração sistêmica do inibidor da síntese de serotonina, o para-cloro-fenilalanina (pCPA), e de dois antagonistas serotonérgicos não seletivos, a metisergida e o ácido bromolisérgico, liberava a expressão de comportamentos punidos, caracterizando um efeito ansiolítico (Robichaud e Sledge, 1969; Graeff e Schoenfeld, 1970). Além disso, corroborando tais evidências, foi verificado que a administração do precursor da síntese de serotonina, o 5-hidroxitriptofano (5-HTP), bloqueava o efeito do tipo ansiolítico induzido pelo pCPA (Geller e Blum, 1970).

Ainda utilizando modelos de punição, Wise e colaboradores (1972) verificaram que a administração sistêmica do agonista de receptores benzodiazepínicos, oxazepam, interferia na transmissão serotonérgica, liberando o

comportamento punido e diminuindo a taxa de renovação de serotonina (5-HT), principalmente no tronco encefálico. A partir destas informações, Wise e colaboradores formularam o primeiro modelo teórico sobre o papel da serotonina na ansiedade, no qual a ativação do sistema serotonérgico em regiões prosencefálicas e mesencefálicas acarretaria no aumento da ansiedade.

De fato, Hodges e colaboradores (1987) observaram que a administração dos agonistas serotonérgicos 8-OH-DPAT, bem como da própria serotonina, no núcleo lateral/basolateral do complexo amigdalóide promoveu um efeito do tipo ansiogênico em ratos submetidos a um modelo de punição, enquanto o antagonista serotonérgico metisergida aumentou o número de respostas punidas.

Apesar de alguns estudos apontarem para o papel ansiogênico da serotonina (Geller, 1970; Graeff e Schoenfels, 1970; Wise et al., 1972; Tye et al., 1977; Hodges et al., 1987), outros estudos mostravam o papel ansiolítico deste neurotransmissor (Kiser et al., 1980; Jenck et al., 1990; Nogueira e Graeff, 1995) na modulação das respostas de ansiedade medidas em diferentes modelos animais.

Resultados conflitantes também são observados na clínica, onde a administração do antagonista serotonérgico ritanserina atenua quadros de ansiedade generalizada (Celeumans et al., 1985), mas não causa efeito (Den Bôer e Westenberg, 1990), ou então, piora quadros de transtorno de pânico (Deakin et al., 1992). Essas observações foram ainda confirmadas em testes experimentais conduzidos em humanos tanto em modelos relacionados à ansiedade generalizada (Hensman et al., 1991) como em modelos relacionados ao transtorno de pânico (Guimarães et al., 1997).

Tais evidências aparentemente contraditórias levaram Deakin e Graeff (1991) a propor uma teoria onde diferentes vias serotonérgicas modulariam diferentes

substratos neurais relacionados ao transtorno de ansiedade generalizada e ao transtorno de pânico. De acordo com esta teoria, duas estruturas cerebrais, ainda que não exclusivamente, estariam envolvidas nesses processos: a substância cinzenta periaquedutal e o complexo amigdalóide.

Tanto a substância cinzenta periaquedutal, quanto o complexo amigdalóide são inervados por fibras provenientes do núcleo dorsal da rafe através dos tratos periventricular e prosencefálico, respectivamente (Azmitia, 1978). Assim, Deakin e Graeff (1991) propuseram que diante de estímulos aversivos estas vias serotonérgicas seriam ativadas, ocasionando o aumento da liberação de serotonina em ambas as estruturas. A ativação dessas vias modularia diferentes respostas comportamentais defensivas. Mais especificamente, na substância cinzenta periaquedutal, o aumento da concentração de serotonina inibiria a expressão de comportamentos desencadeados por ameaças reais ou proximais, como a luta e/ou fuga. Já no complexo amigdalóide este aumento favoreceria a expressão de comportamentos que ocorrem em resposta a estímulos ameaçadores potenciais ou distantes e que envolvem conflito entre a aproximação e a esquiva, como os comportamentos de avaliação de risco e esquiva (Gray e McNaughton, 2000). Assim, a serotonina exerceria um papel dual, uma vez que integraria diferentes tipos de reações comportamentais de defesa. Além disso, os autores propõem que enquanto a serotonina diminuiria o pânico agindo na substância cinzenta periaquedutal dorsal, este mesmo neurotransmissor aumentaria a ansiedade atuando no complexo amigdalóide (Deakin e Graeff, 1991; Graeff, 1993; Graeff et al., 1996; 1997).

Com a finalidade de testar esta teoria em laboratório, foi desenvolvido o teste do labirinto em T elevado (Graeff et al., 1993; 1996; 1998; Viana et al., 1994;

Zangrossi e Graeff, 1997), no qual é possível mensurar em um mesmo animal, duas respostas diferentes, a esquiva inibitória e a fuga. O aparato experimental é formado por três braços de iguais dimensões, dispostos em forma de T e elevados em relação ao solo. Um dos braços é circundado por paredes e é disposto perpendicularmente aos dois outros braços desprovidos de paredes. Durante o teste, os animais realizam duas tarefas consecutivas, a esquiva inibitória e a fuga. Em ambas as tarefas, os animais passam por três tentativas.

Para verificar o comportamento de esquiva inibitória, o animal é colocado na extremidade do braço fechado e o tempo de saída do animal deste braço é registrado. A cada tentativa o animal permanece por mais tempo dentro deste braço, evidenciando a aprendizagem da esquiva dos braços abertos. A situação gerada durante a tarefa de esquiva se caracteriza pelo conflito entre o impulso exploratório e o medo inato que os animais apresentam por espaços abertos.

Após a última tomada da tarefa de esquiva, os animais são colocados na extremidade distal de um dos braços abertos para a realização da tarefa de fuga. Nessa, é registrado o tempo gasto pelo animal para a saída do braço aberto.

Estudos farmacológicos envolvendo a administração sistêmica de drogas benzodiazepínicas e serotonérgicas mostram que a injeção aguda de diazepam e buspirona prejudica a aquisição da resposta de esquiva inibitória. Por outro lado, estes fármacos não alteram a resposta de fuga dos animais (Graeff et al., 1993; Viana et al., 1994; Graeff et al., 1998). Na clínica, os antidepressivos tricíclicos mostram-se efetivos somente após o tratamento crônico (Johnson et al., 1995). Da mesma forma, a imipramina, um antidepressivo tricíclico, reduziu a latência de esquiva e aumentou a latência de fuga somente após a administração crônica (Teixeira et al., 2000; Zanoveli et al., 2005). Esses resultados estão de acordo com a

eficácia clínica dessa droga tanto no tratamento do transtorno de pânico como no tratamento da ansiedade generalizada (Rickels et al., 1993; Johnson et al., 1995).

Evidências experimentais obtidas nos últimos anos corroboram a hipótese proposta por Deakin e Graeff (1991) de que a facilitação da transmissão serotonérgica na substância cinzenta periaquedutal inibiria a resposta de fuga (De Paula Soares et al., 2004; Zanoveli et al., 2005). No entanto, resultados conflitantes, como discutidos a seguir, têm sido observados em relação ao papel da serotonina no complexo amigdalóide (Hodges et al., 1987; Zangrossi et al., 1999).

O núcleo basolateral do complexo amigdalóide e os receptores 5-HT$_{2C}$

O complexo amigdalóide como um todo parece desempenhar papel importante na elaboração e controle das respostas defensivas. Entretanto, alguns núcleos, como o basolateral, têm funções mais conhecidas e são os mais comumente relacionados a essas respostas (Duncan et al., 1996; Sah et al., 2003; Silveira et al., 2001; Rosen, 2004).

Além do envolvimento de núcleos amigdalóides distintos, a existência de diversos subtipos de receptores serotonérgicos no sistema nervoso central torna ainda mais complexo o entendimento sobre as diferentes funções da serotonina na mediação das respostas defensivas. Atualmente, são reconhecidas mais de 15 subfamílias de receptores serotonérgicos que se diferenciam em alguns aspectos como afinidade pela serotonina e por agentes agonistas e antagonistas, distribuição regional e posição nos neurônios pré ou pós-sinápticos (Hoyer et al., 2002; Hannon e Hoyer, 2008). Dentre os diferentes subtipos de receptores serotonérgicos

existentes, os dos tipos 5-HT_{1A}, 5-HT_{2A} e 5-HT_{2C} têm sido mais estudados com relação à mediação dos processos de ansiedade (Deakin et al., 1992; Graeff, 1997; Millan, 2003).

Hodges e colaboradores (1987) observaram efeito do tipo ansiogênico quando os agonistas serotonérgicos 8-OH-DPAT e serotonina foram administrados intra-núcleo basolateral/lateral do complexo amigdalóide de animais submetidos a um teste de punição. Esses resultados foram fundamentais para embasar a proposta de Deakin e Graeff (1991) quanto ao papel da serotonina no complexo amigdalóide facilitando a ansiedade. Contraditoriamente, um efeito do tipo ansiolítico foi observado após a injeção do mesmo agonista serotonérgico 8-OH-DPAT nestes mesmos núcleos do complexo amigdalóide em animais submetidos ao teste do labirinto em T elevado (Zangrossi et al., 1999). O problema parece, então, advir da diferença entre os testes utilizados: um teste de punição e outro etologicamente fundamentado. Os resultados obtidos por Zangrossi e colaboradores (1999) foram confirmados em outro estudo onde Strauss (2005) realizou manipulações farmacológicas dos receptores serotonérgicos dos tipos 5-HT_{1A} e 5-$HT_{2A/2C}$ do núcleo basolateral do complexo amigdalóide. Ao utilizar agonista de receptores 5-HT_{1A} 8-OH-DPAT e o agonista de receptores 5-HT_{2A} DOI observou-se que a ativação desses receptores nesse núcleo prejudicava a aquisição da esquiva inibitória bem como a resposta de fuga. É importante ressaltar que agonista DOI apesar de se ligar tanto a receptores do tipo 5-HT_{2A}, quanto 5-HT_{2C} tem maior afinidade por receptores do tipo 5-HT_{2A} (Griebel, 1995).

Tais resultados obtidos no labirinto em T elevado contrastam com a proposta de Deakin e Graeff (1991), já que ao invés de facilitar, este agonista serotonérgico

prejudicou a resposta de esquiva inibitória, quando injetado no complexo amigdalóide.

Mais recentemente, foi verificado que a injeção do agonista não seletivo ou seletivo de receptores 5-HT_{2C} m-CPP e IL-639, respectivamente, no núcleo basolateral do complexo amigdalóide produz efeito ansiogênico no teste do campo aberto, e este efeito foi atenuado pelo pré-tratamento com o antagonista preferencial de receptores 5-HT_{2C} SB 242084 (Campbell e Merchant, 2003). Outro estudo mostrou que a injeção do antagonista de receptores 5-HT_{2C} ritanserina neste mesmo núcleo bloqueia o efeito ansiogênico causado pela injeção sistêmica do agonista preferencial de receptores 5-HT_{2C} MK-212 sobre as medidas de ansiedade no labirinto em cruz elevado. Como a ritanserina apresenta maior afinidade por receptores 5-HT_{2C} do que por receptores 5-HT_{2A} (Leysen, 2004), os autores sugerem que os efeitos observados no labirinto em cruz elevado sejam mediados pelos receptores 5-HT_{2C} no núcleo basolateral (De Melo Cruz et al., 2005). Essas são algumas das evidências que tornam os receptores serotonérgicos do tipo 5-HT_{2C} do núcleo basolateral do complexo amigdalóide alvo do presente estudo.

Até o momento, os resultados relacionados com a ativação dos receptores 5-HT_{2C} e ansiedade sugerem um efeito ansiogênico. No entanto, nada se conhece acerca da participação desses receptores nas respostas de esquiva e fuga geradas no labirinto em T elevado, que são relacionadas com ansiedade generalizada e pânico, respectivamente.

OBJETIVO

O presente trabalho teve por objetivo verificar o papel dos receptores serotonérgicos do tipo 5-HT_{2C} do núcleo basolateral do complexo amigdalóide na modulação de respostas defensivas relacionadas à ansiedade generalizada e ao pânico.

Para tal, foram realizadas injeções bilaterais intra-núcleo basolateral do agonista endógeno serotonina, do agonista preferencial de receptores do tipo5-HT_{2C} MK-212 ou do antagonista de receptores do tipo 5-HT_{2C} SB-242084 em ratos submetidos ao teste do labirinto em T elevado e teste de transição claro-escuro.

A fim de verificar se os resultados obtidos nos testes do labirinto em T elevado e de transição claro-escuro poderiam ser decorrentes de possíveis efeitos sobre a atividade locomotora dos animais, o comportamento dos mesmos também foi avaliado no teste do campo aberto.

MATERIAIS E MÉTODOS

Animais

Foram utilizados ratos *Wistar*, machos, provenientes do biotério Central do campus da Universidade de São Paulo – Ribeirão Preto, pesando, no início do experimento, entre 290 – 310g. Os animais foram alojados em caixas de polipropileno (38 x 32 x 18 cm), forradas com serragem (cinco animais por caixa), até o dia da cirurgia. Após a cirurgia para a implantação das cânulas-guia, os animais foram mantidos aos pares em gaiolas de acrílico (24 x 18 x 35 cm) com serragem no assoalho. Os animais permaneceram no biotério do próprio laboratório após a chegada do biotério geral do Campus. O biotério seguia com um ciclo de claro-escuro de 12 horas (07:00 às 19:00h) e temperatura controlada em 22 ± 1º C. Os animais tiveram livre acesso à água e ração durante todo o experimento, exceto durante a realização dos testes comportamentais.

Drogas

Foram utilizadas as seguintes drogas:

- **5-HT** (5-hidroxitriptoamina, complexo de sulfato de creatinina; Sigma, EUA);
- **MK-212** (cloridrato de 6-Cloro-2-(1-piperazinil)pirazina; Tocris, EUA);
- **SB-242084** (dicloreto hidratado de 6-Cloro-2,3-di-hidro-5-metil-N-[6-[(2-metil-3-piridinil)oxi]-3-piridinil]-1H-indol-1-carboxiamida; Sigma, EUA).

Aparatos

Labirinto em T elevado

O labirinto em T elevado (Figura 1) é composto de três braços de madeira medindo, cada um, 50 cm de comprimento por 12 cm de largura. Um dos braços é circundado lateralmente por paredes opacas de 40 cm e é disposto perpendicularmente aos dois braços, que permanecem abertos. Todo o conjunto está elevado a 50 cm do solo. Para evitar a queda dos animais, os braços abertos são circundados por uma tira de acrílico transparente de 1 cm de altura. A luminosidade na sala experimental foi de 40 lux, medida na área de cruzamento entre os braços abertos e o braço fechado do labirinto em T elevado.

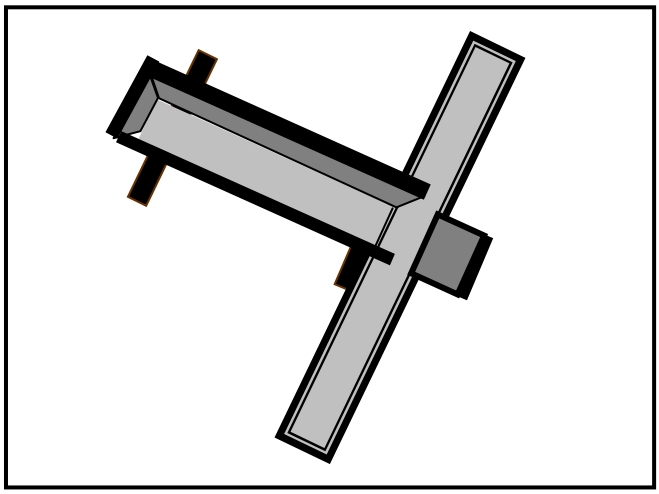


Figura 1 **- Labirinto em T elevado.**

Campo aberto

O teste do campo aberto foi realizado em uma arena de madeira, medindo 60 x 60 cm, com paredes laterais de 40 cm de altura (Figura 2). A luminosidade na sala experimental foi de 40 lux, medida no quadrado central da arena.

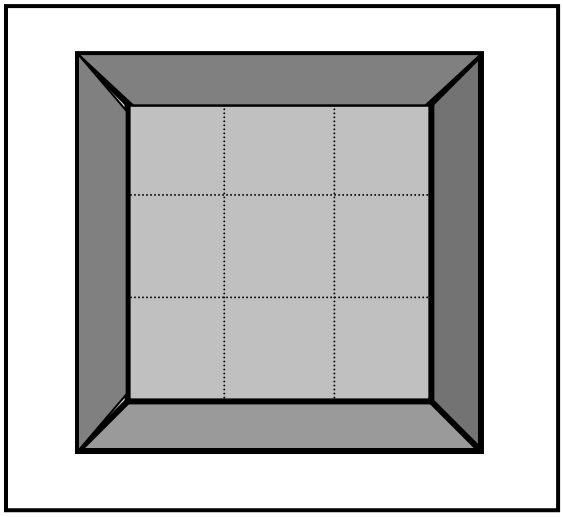


Figura 2 **- Arena do teste do campo aberto.**

Caixa claro-escuro

O teste de transição claro-escuro foi realizado em uma caixa confeccionada em madeira de 47 x 22 x 22 cm, divida em dois compartimentos de iguais dimensões, um de cor branca (compartimento claro) e outro de cor preta (compartimento escuro). Entre os dois compartimentos há um orifício (7 x 6 cm) que permite a transição do animal entre os 2 compartimentos. O assoalho é constituído por barras de aço espaçadas em 1 cm. A caixa possui ainda uma tampa de acrílico pintada de preto sobre o compartimento escuro, e transparente, sobre o compartimento claro (Figura 3). A luminosidade na sala experimental foi de 40 lux, medida no centro do compartimento claro da caixa claro-escuro.

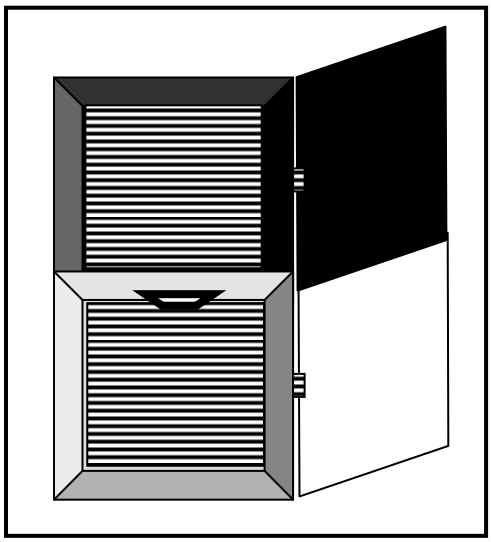


Figura 3 **- Caixa claro-escuro.**

Procedimentos experimentais

Cirurgia estereotáxica para implantação das cânulas

Os animais foram anestesiados com 2,2,2 tribromoetanol (Aldrich, EUA) a 2,5% (10 mL/kg, i.p.). Após a tricotomia na região da cabeça, estes foram fixados a um aparelho estereotáxico (David-Kopf, EUA), de forma que a barra dos incisivos estava situada 3,3 mm abaixo do plano interaural. Uma associação antibiótica de largo espectro (Pentabiótico, Fontoura-Wyenth-Brasil) foi administrada (0,2 mL/animal, i.m.), a fim de prevenir possíveis infecções. Além disso, foi administrado (2,5 mg/mL/kg, s.c.) de agente analgésico com atividade anti-inflamatória e antipirética Banamine (Schering-Ploug S/A – Brasil).

Após a realização da limpeza do campo cirúrgico, com uma solução hidroalcoólica contendo iodo a 2%, foi administrado, via subcutânea, o anestésico local cloridrato de lidocaína associado a um vasoconstritor (Novocol 100, White-Brasil). Posteriormente, foi feita uma incisão longitudinal nos tecidos cutâneos e subcutâneos da área cirúrgica. Através de orifícios na superfície craniana, perfurados por meio de uma broca, cânulas guia de 15 mm (0,6 mm de diâmetro externo) foram introduzidas bilateralmente no encéfalo. As cânulas foram direcionadas para o núcleo basolateral do complexo amigdalóide de acordo com as seguintes medidas: AP = -2,5 mm; LM = 5,1 mm e DV = 6,2 mm, tendo o bregma como referência (Paxinos e Watson, 1998). As cânulas foram fixadas no crânio por uma prótese de resina acrílica autopolimerizável presa a um parafuso de aço inoxidável fixado à calota craniana. Por fim, foi introduzido em cada cânula guia um mandril de aço inoxidável de mesmo comprimento para evitar possíveis entupimentos de cânulas.

Após a cirurgia, os animais foram alojados aos pares e retornaram ao biotério do laboratório, onde permaneceram por 5 dias, até a realização dos testes comportamentais.

Procedimentos para realização dos testes comportamentais

Habituação

Dois dias antes do teste, os animais foram manuseados pelo experimentador por 2 vezes (1 vez por dia, durante 5 minutos). Após cada sessão de manuseio, os animais foram colocados por 5 minutos em uma caixa de acrílico de 24 x 18 x 35 cm com serragem no assoalho. Esta caixa foi posteriormente utilizada como auxiliar na execução do teste no labirinto em T elevado. A sala onde os testes e a habituação foram feitos foi iluminada por uma lâmpada de 40W e possui um exaustor de ar com ruído de fundo constante.

Exposição prévia a um dos braços abertos do labirinto em T elevado

Vinte e quatro horas antes do teste no labirinto em T elevado, os animais foram pré-expostos por 30 minutos a um dos braços abertos deste aparato. Cada animal foi colocado individualmente em um dos braços abertos que permaneceu isolado dos demais braços por uma parede de madeira, disposta na linha de separação entre a área central do labirinto e a porção proximal do braço aberto. Teixeira e colaboradores (2000) demonstraram que a exposição prévia a um dos braços abertos do labirinto em T elevado potencializa a expressão do comportamento de fuga, reduzindo reações comportamentais à novidade, tais como exploração e inibição comportamental.

Injeções intra-núcleo basolateral

No dia do teste, em todos os experimentos, as injeções foram feitas simultaneamente nos dois hemisférios por meio de duas agulhas odontológicas (Mizzy, 17 mm) inseridas pelas cânulas guia, até atingir o alvo 2 mm abaixo da extremidade das cânulas. Cada agulha odontológica foi conectada a uma microseringa (Hamilton 701-RN, EUA) de 5 µL através de um tubo de polietileno (PE-10). Para controle do volume e do tempo de injeção das drogas, foi utilizada uma bomba microinjetora digital (Harvard Apparatus, modelo 55-2222). A agulha de injeção sempre foi retirada da cânula-guia 60 segundos após a microinjeção das drogas. Este procedimento foi adotado para se evitar o refluxo das mesmas.

No experimento 1, após escolha aleatória, os animais receberam a injeção bilateral intra-núcleo basolateral (0,2 µL/ 2 min) do agonista endógeno serotonina (5-HT 16 nmoles, n=10) ou salina (n=11). Dez minutos após a administração de salina ou 5-HT, os animais foram testados sequencialmente no labirinto em T elevado, no teste do campo aberto e no teste de transição claro-escuro.

No experimento 2, os animais receberam injeções bilaterais intra-núcleo basolateral (0,2 µL/ 2 min) do agonista 5-HT_{2C} MK-212 (0,01; 0,1 e 1 nmol, n=8-9) ou salina (n= 10). Dez minutos após a administração de salina ou MK-212, os animais foram testados sequencialmente no labirinto em T elevado, no teste do campo aberto e no teste de transição claro-escuro.

No experimento 3, os animais foram microinjetados bilateralmente intra-núcleo basolateral (0,2 µL/ 2min) com o antagonista $5HT_{2C}$ SB-242084 (0,1; 1 e 10 nmoles, n= 7-9) ou salina (n=8). Dez minutos após administração da droga ou salina, os animais foram testados sequencialmente no labirinto em T elevado, no teste do campo aberto e no teste de transição claro-escuro.

No experimento 4, salina ou SB-242084 (0,01 nmol) foram administrados intra-núcleo basolateral (0,2 µL/ 2 min) 5 minutos anteriores à microinjeção (0,2 µL/ 2min) de salina ou 5-HT (16 nmoles). Assim foram formados os grupos: sal/sal (n=7), SB/sal (n=7), 5-HT/sal (n= 6) e SB/5-HT (n=7). Os animais foram submetidos aos testes no labirinto em T elevado, no campo aberto e no teste de transição claro-escuro 10 minutos após a última microinjeção.

Teste no labirinto em T elevado

Inicialmente, foi verificada a resposta de esquiva inibitória. Para tal, o animal foi colocado na extremidade distal do braço fechado e o tempo de saída, com as quatro patas, deste braço foi cronometrado (Linha de Base). A mesma medida foi tomada por mais 2 vezes com intervalos regulares de 30 segundos entre elas (Esquiva 1 e Esquiva 2). Os animais tiveram o tempo máximo de 5 minutos, em cada uma das tentativas, para saírem do braço fechado.

Trinta segundos após a tomada da esquiva 2, foi verificada a resposta de fuga dos animais. Nesse caso, cada animal é colocado na extremidade de um dos braços abertos e o tempo de saída deste braço, com as quatro patas, é cronometrado (Fuga 1). A latência de saída do braço aberto é tomada por mais duas vezes (Fuga 2 e Fuga 3), com intervalos de 30 segundos entre elas. Durante os intervalos os animais foram colocados na caixa de acrílico descrita no procedimento de habituação.

Campo aberto

Imediatamente após o teste no labirinto e T elevado, os animais foram testados, individualmente, no campo aberto, com a finalidade de verificar se o tratamento adotado interfere na atividade locomotora. Durante 5 minutos, a distância total percorrida por cada animal foi registrada por meio do programa analisador de imagem (Ethovision – versão 1.96; Noldus, Holanda).

Teste de Transição Claro-Escuro

Imediatamente após o teste do campo aberto, os animais foram colocados, individualmente, no compartimento claro da caixa claro-escuro, com a cabeça voltada para a porta divisória. O comportamento dos animais no teste claro-escuro foi filmado e gravado para posterior análise. Durante os cinco minutos que sucedem a primeira entrada do animal no compartimento escuro, foram registrados a porcentagem de tempo gasto em cada compartimento e o número de transições realizadas entre os dois compartimentos.

Um estudo recente mostrou que a exposição ao labirinto em T elevado e ao campo aberto previamente ao teste de transição claro-escuro não altera as medidas comportamentais avaliadas no mesmo (Sena, 2002).

Perfusão

Após o término dos testes comportamentais, os animais foram sacrificados com uretana a 25% e perfundidos transcardiacamente com salina (NaCl a 0,9%) e formol (10%), para a verificação da localização do sítio de injeção. Antes da perfusão, uma microagulha (Mizzy, 16 mm) foi inserida pela cânula guia e injetado 0,2 µL de corante azul de Evans 1%. O encéfalo foi removido e mantido por, no mínimo, 48 horas em formol a 10%, até a confecção das lâminas para posterior análise histológica.

Histologia

Os encéfalos foram levados ao criostato (Leica CM1850), onde secções coronais de 60 µm foram realizadas e adequadamente montadas em lâminas, para verificação macroscópica do sítio de microinjeção, segundo diagramas reproduzidos do Atlas de Paxinos e Watson (1998). Foram incluídos nas análises estatísticas somente os dados dos animais que tiveram a ponta de microinjeção localizada no núcleo basolateral do complexo amigdalóide, nos dois hemisférios cerebrais.

Análise estatística dos resultados

Os dados obtidos no labirinto em T elevado foram avaliados por uma análise de variância de dois fatores, tendo como fator independente o tratamento e como medidas repetidas as latências de saída dos braços fechados (Linha de Base, Esquiva 1, Esquiva 2) ou as latências de fuga (Fuga 1, Fuga 2, Fuga 3). Quando apropriado, foram realizadas comparações múltiplas pelo teste de Duncan ou *t* de Student. A atividade locomotora, bem como os dados colhidos no teste de transição claro-escuro foram analisados através da ANOVA de uma via, seguido pelo teste de

Duncan. Os resultados foram expressos em média ± erro padrão da média (epm). O nível de significância considerado foi de $p < 0,05$.

RESULTADOS

Análise histológica

Foram operados 34 animais para a realização do experimento 1. Destes, 21 tiveram o sítio de injeção no núcleo basolateral do complexo amigdalóide nos dois hemisférios. Em 6 animais, este núcleo foi atingido em apenas um dos hemisférios; em 5 animais não foi atingido em nenhum dos hemisférios e 2 não tiveram os sítios identificados por problemas metodológicos.

Para o experimento 2, foram operados 66 animais. 35 tiveram seus dados incluídos na análise estatística. Dos 31 animais restantes, 18 tiveram o núcleo basolateral atingido em apenas um dos hemisférios; em 8 animais nenhum dos hemisférios foi atingido e 5 animais foram descartados por apresentarem inflamação na área operada ou déficit motor antes dos testes.

Dos 71 animais operados no experimento 3, 31 animais tiveram o núcleo basolateral atingido bilateralmente. Outros 22 animais tiveram o núcleo atingido em foram acertados em apenas um dos hemisférios e 7 animais não receberam injeções em nenhum dos hemisférios. 5 animais não puderam ser avaliados por terem caído de um dos braços abertos no dia da pré-exposição e 2 animais apresentaram inflamação da área operada. 2 animais foram descartados por não terem recebido as injeções simultaneamente nos dois hemisférios e 2 animais morreram por possíveis complicações pós cirúrgicas.

Já no experimento 4, dos 48 animais operados, 27 tiveram o sítio de injeção no núcleo basolateral do complexo amigdalóide nos dois hemisférios. Em 13 animais este núcleo foi atingido em apenas um dos hemisférios e em 5 animais este núcleo não foi atingido. Dois animais caíram do labirinto no dia da pré exposição a um dos braços abertos e 1 dos animais operados e testados não pode ter seus sítios de injeção identificados por problemas histológicos.

Os sítios de injeções observados nos quatro experimentos estão ilustrados na Figura 4.

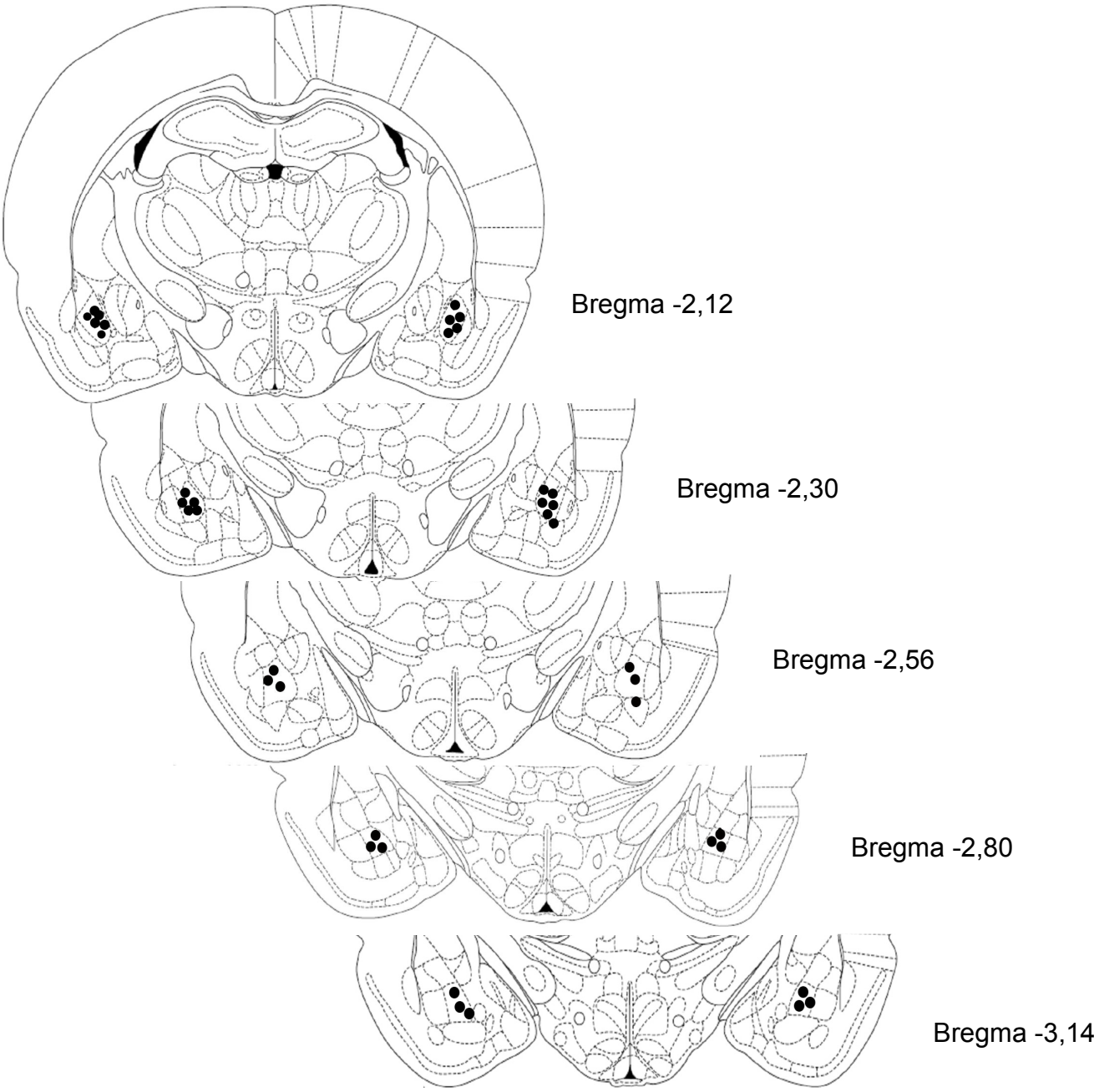


Figura 4 - Ilustração dos sítios de injeções no núcleo basolateral do complexo amigdalóide observados nos quatro experimentos, através do plano ântero-posterior (bregma 2,12- 3,14 mm), de acordo com referencias do Atlas Paxinos e Watson (2007). O número de pontos na figura é menor do que o total de animais usados devido às muitas sobreposições.

Experimento 1

Efeito da administração do agonista endógeno 5-HT intra-núcleo basolateral do complexo amigdalóide

Labirinto em T elevado

A Figura 5 ilustra o comportamento de animais que receberam injeções de salina ou de 5-HT e foram testados no labirinto em T elevado.

Em relação à resposta de esquiva inibitória (painel A), a ANOVA mostrou que houve aquisição desta resposta [fator tentativa: $F(2,38)=18,96$; $p<0,05$], efeito do tratamento [fator tratamento: $F(1,19)=4,57$; $p<0,05$], bem como interação entre esses dois fatores [fator interação: $F(2,38)=3,99$; $p<0,05$]. O teste *t* de Student mostrou que a 5-HT facilitou a aquisição da esquiva inibitória 2 (E2), quando comparado ao grupo controle.

Ainda na Figura 5 (painel B) pode ser observado o comportamento de fuga no labirinto em T elevado. A ANOVA indicou que não houve efeito das tentativas [fator tentativa: $F(2,38)=1,60$; $p=0,215$], do tratamento [fator tratamento: $F(1,19)=0,01$; $p=0,930$], nem interação entre estes dois fatores [fator interação: $F(2,38)=2,22$; $p=0,123$].

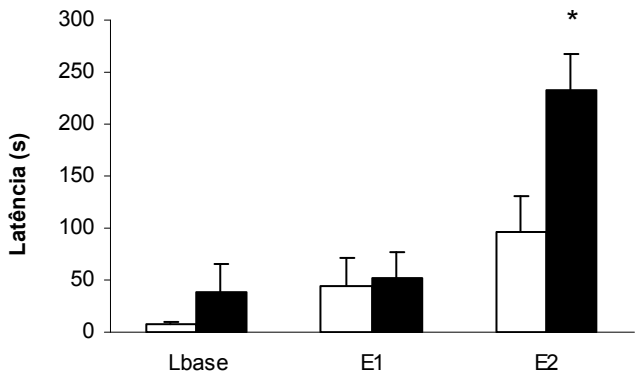
Claro-Escuro

A Figura 6 mostra o efeito do tratamento intra-núcleo basolateral com 5-HT ou salina no teste de transição claro-escuro. O teste *t* de Student indicou que a 5-HT reduziu [$t(19)=2,31$; $p<0,05$] a porcentagem de tempo gasto pelos animais no compartimento claro do modelo (painel A). Além disso, essa droga não alterou o número de transições entre os compartimentos claro e escuro [$t(19)=0,79$; $p=0,440$] (painel B).

Campo aberto

Conforme observado na Tabela 1, a administração intra-núcleo basolateral de 5-HT não alterou a distância percorrida pelos animais no teste do campo aberto [$t(12,04)=1,42$; $p=0,49$].

A



B

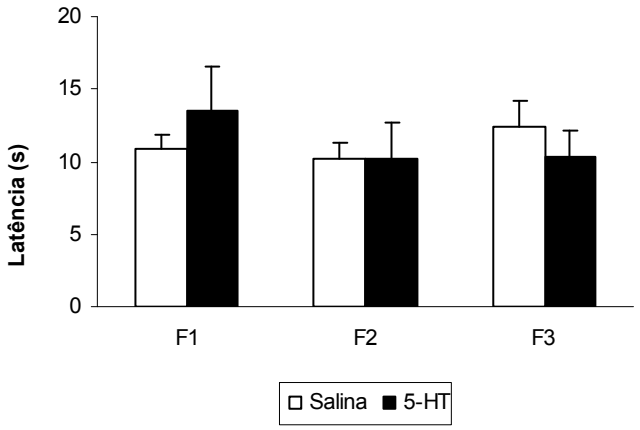


Figura 5 – Efeito (Média ± EPM) da injeção de salina ou 5-HT (16 nmoles) no núcleo basolateral sobre as respostas de esquiva inibitória (A)[1] e fuga (B)[2] no teste do labirinto em T elevado (n = 10-11 por grupo). * $p < 0,05$, em relação ao grupo salina.

1 - o animal é colocado na extremidade do braço fechado e é medido o tempo (em segundos) que o animal leva pelo animal para ir para o braço aberto. São realizadas três tentativas consecutivas, com intervalos entre elas de 30 segundos. A primeira tentativa chamada de Linha de base (Lbase) e as duas seguintes esquivas 1 e 2 (E1 e E2, respectivamente).

2 - o animal é colocado na extremidade do braço aberto e é medida a latência gasta (em segundos) pelo animal para sair de tal braço, essa resposta é tomada por três vezes consecutivas com intervalos de 3 segundos entre cada fuga, denominadas Fuga 1, Fuga 2 e Fuga 3 (F1, F2 e F3).

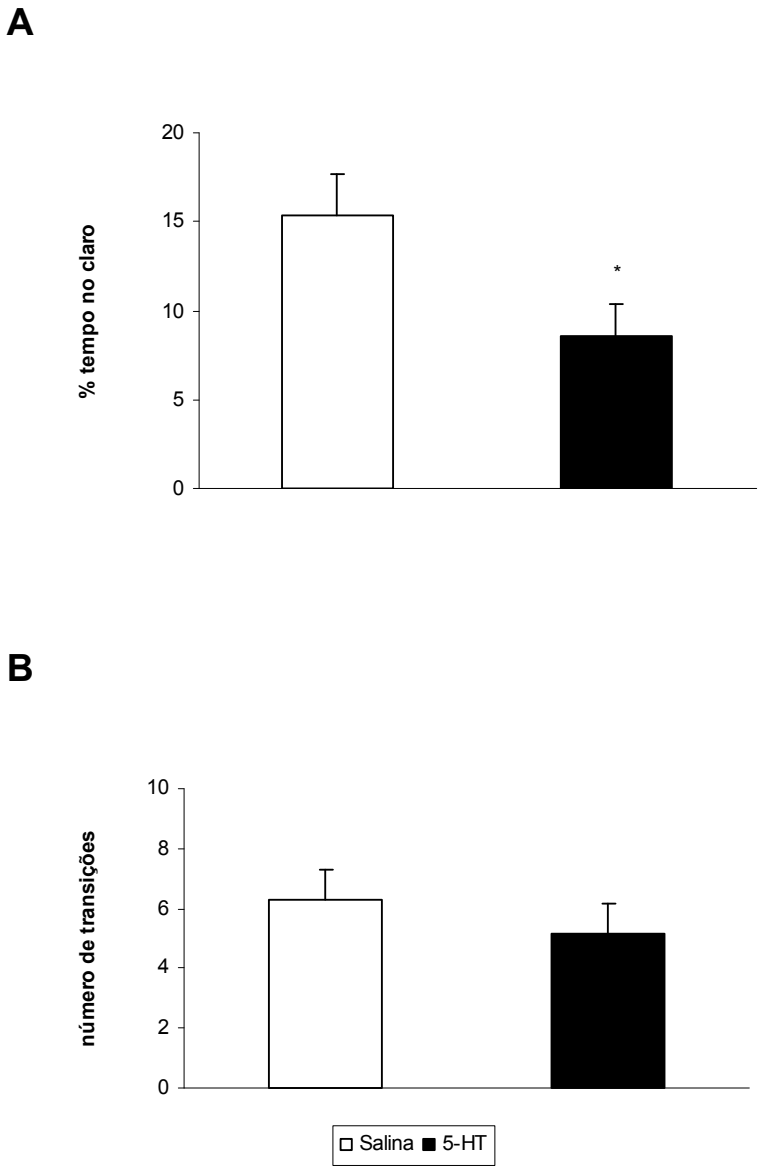


Figura 6 – Efeito (Média ± EPM) da injeção de salina ou 5-HT (16 nmoles) no núcleo basolateral sobre a porcentagem de tempo de permanência no compartimento claro (A), e o número de transições (B) realizadas no teste de transição claro-escuro (n = 10-11 por grupo). *p<0,05, em relação ao grupo salina.

Experimento 2

Efeito da administração do agonista preferencial de receptores do tipo 5-HT_{2C} MK-212 intra-núcleo basolateral do complexo amigdalóide

Labirinto em T elevado

A Figura 7 mostra os comportamentos de esquiva inibitória (painel A) e fuga (painel B) de animais que receberam injeções de MK-212 ou de salina e foram testados no labirinto em T elevado.

A ANOVA mostrou que houve aquisição de esquiva inibitória (painel A) [fator tentativa: $F(2,62)=33,95$; $p<0,05$], assim como o efeito do tratamento [fator tratamento $F(3,31)=3,31$; $p<0,05$]. Em relação à interação entre estes dois fatores foi observado um efeito marginal [fator interação $F(6,62)=1,93$; $p=0,089$]. O teste *post-hoc* de Duncan mostra que o tratamento com MK-212 nas doses de 0,01 e 0,1 nmol facilitou a aquisição da E2 ($p<0,05$), quando comparado ao grupo salina.

O painel B da mesma figura ilustra a ausência de efeito dessa droga sobre a resposta de fuga. A ANOVA revela que não houve efeito das tentativas [fator tentativa: $F(2,62)=1,90$; $p=0,158$], do tratamento [fator tratamento: $F(3,31)=0,80$; $p=0,505$], nem da interação tentativa-tratamento [fator interação: $F(6,62)=0,31$; $p=0,931$].

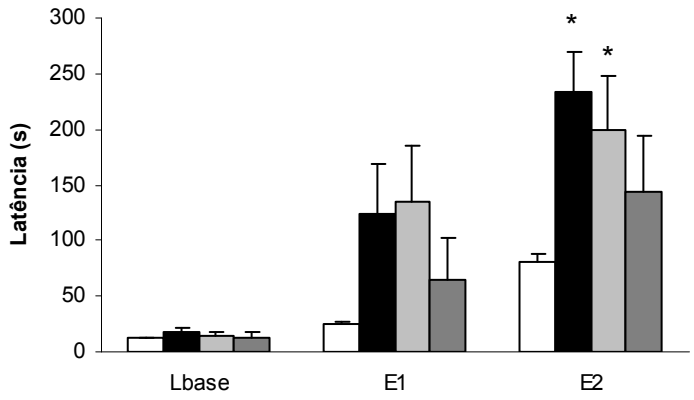
Claro-Escuro

A Figura 8 representa o efeito do mesmo tratamento com MK-212 ou salina no teste de transição claro-escuro. Quando avaliada a porcentagem de tempo de permanência no lado claro da caixa, a análise estatística mostra que o tratamento com este agonista na dose de 0,1 nmol diminuiu o tempo de permanência nesse compartimento se comparado com o grupo salina (A) [$F(3,31)=3,49$; $p<0,05$], porém, nenhuma das doses da droga alteraram o número de transições entre os dois compartimentos (painel C) [$F(3,31)=0,65$; $p=0,587$].

Campo aberto

A administração intra-núcleo basolateral de MK-212 não promoveu alteração na atividade locomotora dos animais no teste do campo aberto [$F(3,28)=0,69$; $p=0,565$], como observado na Tabela 1.

A



B

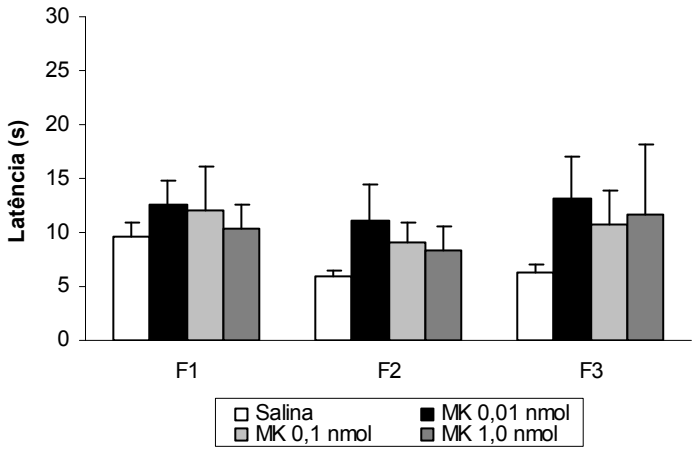


Figura 7 – Efeito (Média ± EPM) da injeção de salina ou MK-212 (0,01; 0,1 e 1 nmol) no núcleo basolateral sobre as respostas de esquiva inibitória (A)[1] e fuga (B)[2] no teste do labirinto em T elevado (n = 8 - 10 por grupo). * p<0, 05, em relação ao grupo salina.

1,2 – Para maiores especificações ver figura 5.

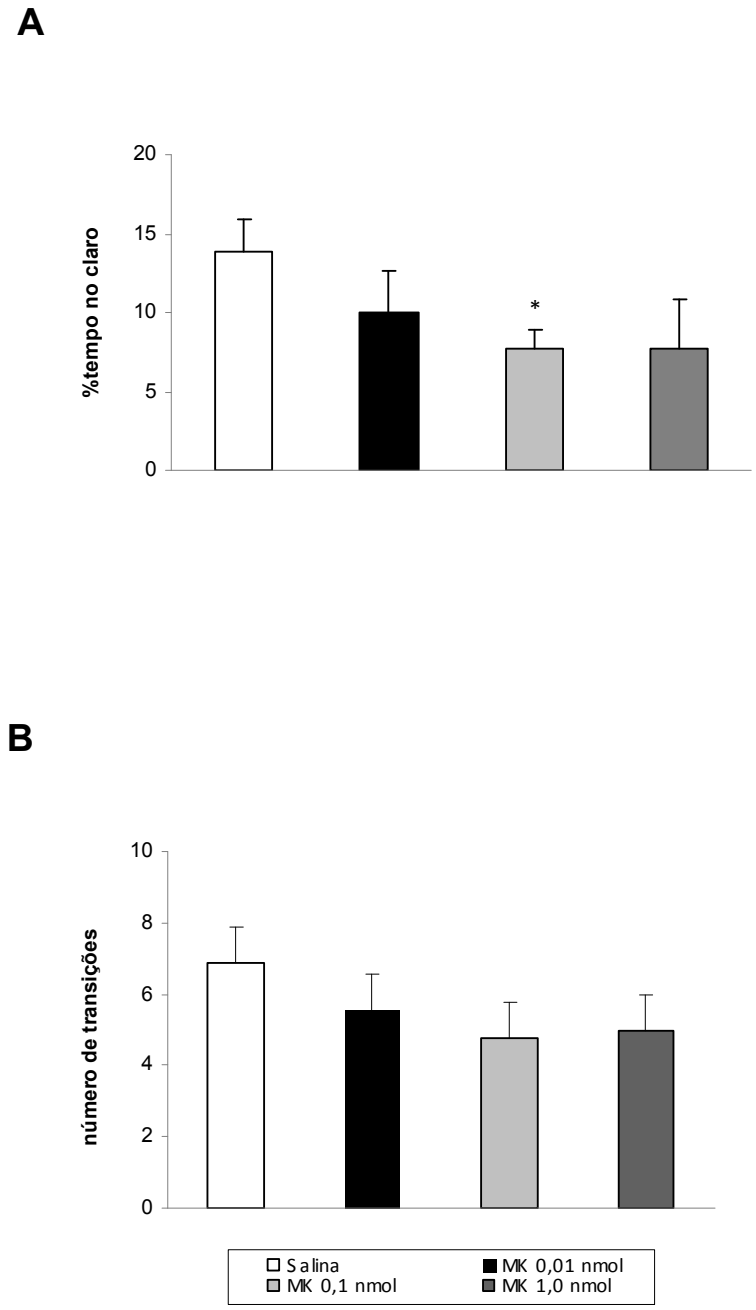


Figura 8 – Efeito (Média ± EPM) da injeção de salina ou MK-212 (0,01; 0,1 e 1 nmol) no núcleo basolateral sobre a porcentagem de tempo de permanência no compartimento claro (A) e o número de transições (B) realizados no teste do claro-escuro (n = 8 - 10 por grupo). *p<0,05, em relação ao grupo salina.

Experimento 3

Efeito da administração do antagonista seletivo de receptores do tipo 5-HT_{2C} SB-242084 intra-núcleo basolateral do complexo amigdalóide

Labirinto em T elevado

Pode-se observar na Figura 9 (painel A) o efeito das injeções intra-núcleo basolateral de SB-242084 ou salina sobre o comportamento de esquiva inibitória. A ANOVA revela aquisição de esquiva inibitória no labirinto em T elevado [fator tentativa: $F(2,48)=13,03$; $p<0,05$]. Houve uma tendência quanto ao efeito do tratamento [fator tratamento: $F(3,24)=2,71$; $p=0,067$]. A análise estatística mostrou que houve interação entre os fatores tentativa e tratamento [fator interação: $F(6,48)=2,81$; $p<0,05$]. O teste de Duncan mostrou que as doses de 0,1 e 10 nmoles diminuíram significativamente a latência de saída dos braços fechados na E2 ($p<0,05$).

O painel B mostra que não existe efeito desse tratamento na resposta de fuga dos animais. A ANOVA mostrou que não houve efeito estatisticamente significativo desse tratamento sobre o fator tentativa [fator tentativa: $F(2,48)=1,90$; $p=0,161$], tratamento [fator tratamento: $F(3,24)=0,68$; $p=0,575$] e interação entre esses fatores [fator interação: $F(6,48)=1,84$; $p=0,112$].

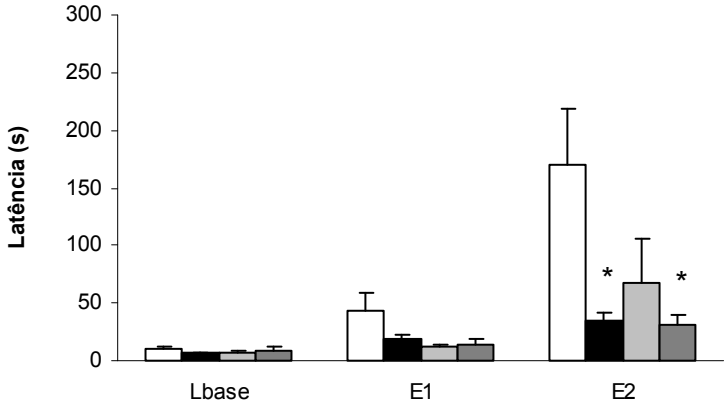
Claro-Escuro

A análise de variância mostrou que não houve efeito das diferentes doses de SB-242084 sobre o tempo de permanência no compartimento claro [F (3,24)=0,984; p=0,416] ou no número de transições [F(3,24)=1,077; p=0,377] realizadas na caixa claro-escuro e representadas na Figura 10.

Campo aberto

Como observado na Tabela 1, após o tratamento central com SB-242084 não houve alteração significativa da atividade locomotora dos animais no teste do campo aberto [F(3,27)=1,464; p=0,246].

A



B

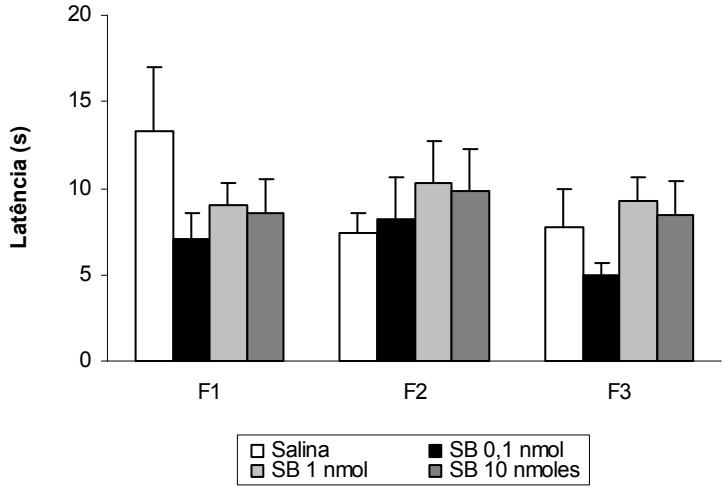


Figura 9 – Efeito (Média ± EPM) da injeção de salina ou SB-242084 (0,1; 1 e 10 nmoles) no núcleo basolateral sobre as respostas de esquiva inibitória (A)[1] e fuga (B)[2] no teste do labirinto em T elevado (n = 6-8 por grupo). * $p < 0,05$ em relação ao grupo salina.

1,2 – Para maiores especificações ver figura 5.

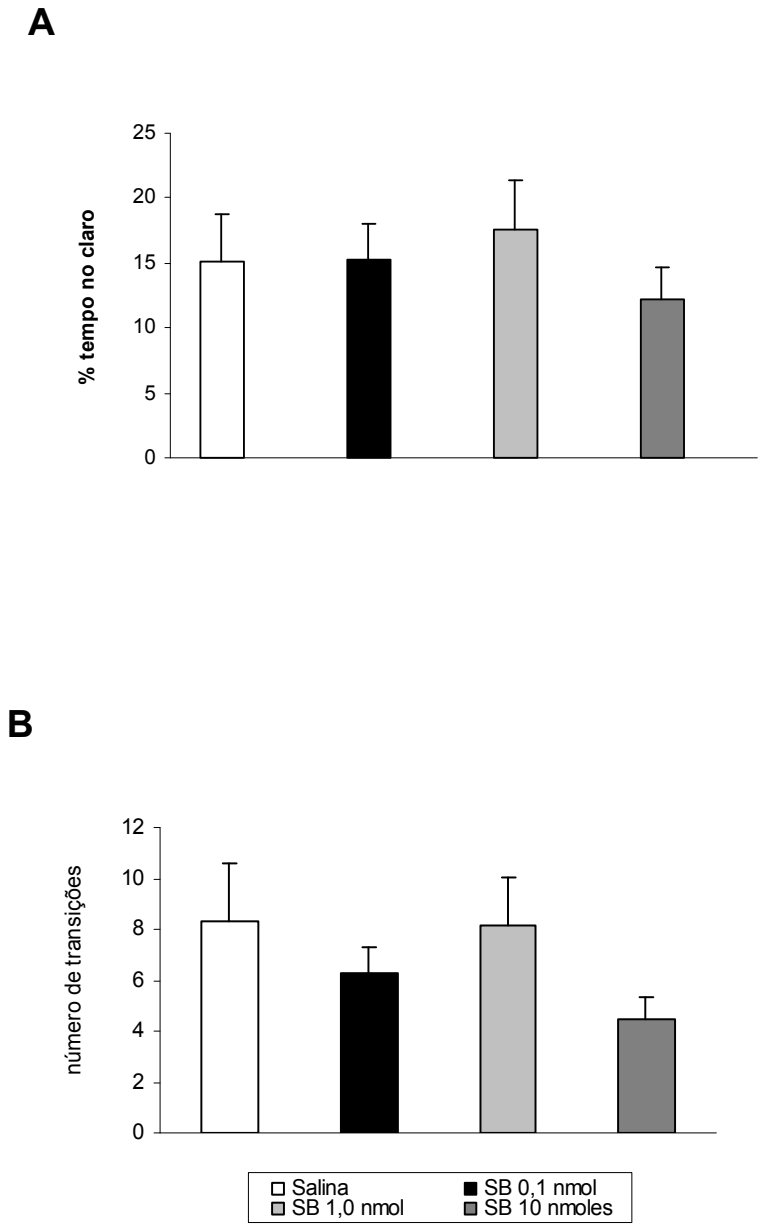


Figura 10 – Efeito (Média ± EPM) da injeção de salina ou SB-242084 (0,1; 1 e 10 nmoles) no núcleo basolateral sobre a porcentagem de tempo de permanência no compartimento claro (A) e o número de transições (B) realizados no teste de transição claro-escuro (n = 6-8 por grupo).

Experimento 4

Efeito da administração prévia de SB-242084 sobre a alteração comportamental induzida pela injeção de 5-HT intra-núcleo basolateral do complexo amigdalóide

Labirinto em T elevado

A Figura 11 (painel A) ilustra o efeito da injeção de SB-242084 previamente à administração intra-núcleo basolateral de serotonina sobre a resposta de esquiva inibitória dos animais no labirinto em T elevado.

A ANOVA mostrou efeito das tentativas [$F(2,44)=22,53$; $p<0,05$], do tratamento [$F(3,22)=5,74$; $p<0,05$], bem como interação entre os fatores tratamento e tentativa [$F(6,44)=3,34$; $p<0,05$].

O teste de Duncan mostrou que o tratamento com serotonina aumentou a latência de saída do braço fechado na Esquiva 1 e 2, indicando efeito do tipo ansiogênico. A administração prévia de SB-242084 foi capaz de reverter o efeito ansiogênico causado por este agonista.

Na Figura 11 (painel B) observa-se a ausência do efeito da administração de SB-242084 sobre a resposta de fuga dos animais no labirinto em T elevado. A ANOVA mostrou que não houve efeito significativo dos fatores tentativas [$F(2,44)=0,29$; $p=0,751$], tratamento [$F(3,22)=0,43$; $p=0,736$], bem como não houve interação entre estes dois fatores [$F(6,44)=0,79$; $p=0,581$].

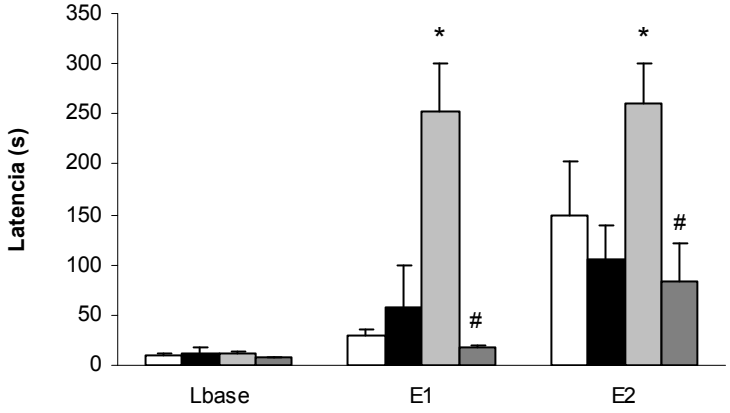
Claro-Escuro

A ANOVA mostrou que não houve diferença significativa entre os grupos quanto à porcentagem de tempo de permanência no compartimento claro [$F(3,22)=1,428$; $p=0,261$], e ao número de transições [$F(3,22)=0,271$; $p=0,842$] realizados pelos animais (Figura 12).

Campo aberto

Nenhum dos tratamentos promoveu alterações significativas na atividade locomotora dos animais no teste do campo aberto [$F(3,22)=0,440$; $p=0,726$], como observado na Tabela 1.

A



B

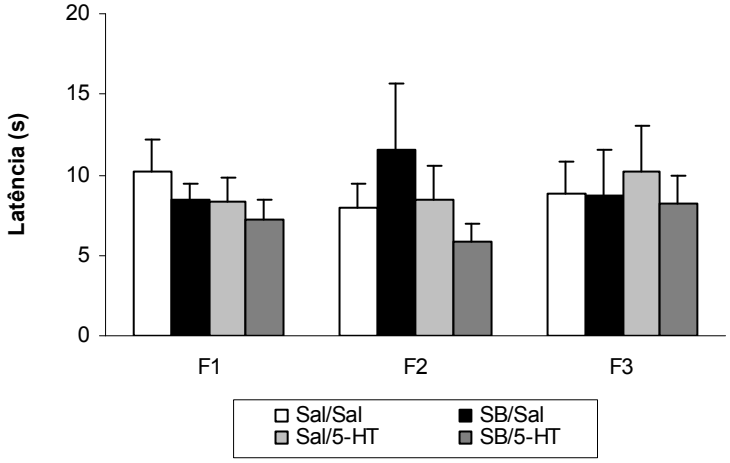


Figura 11 – Efeito (Média ± EPM) da injeção intra-núcleo basolateral de SB-242084 (0,01nmol) ou Salina previamente à administração de 5-HT (16 nmoles) ou Salina sobre as respostas de esquiva inibitória (A)[1] e fuga (B)[2] no teste do labirinto em T elevado (n = 6-7 por grupo). * $p < 0,05$, em relação ao grupo Sal/Sal, #$p < 0,05$, em relação ao grupo Sal/5-HT.

1,2 – Para maiores especificações ver figura 5.

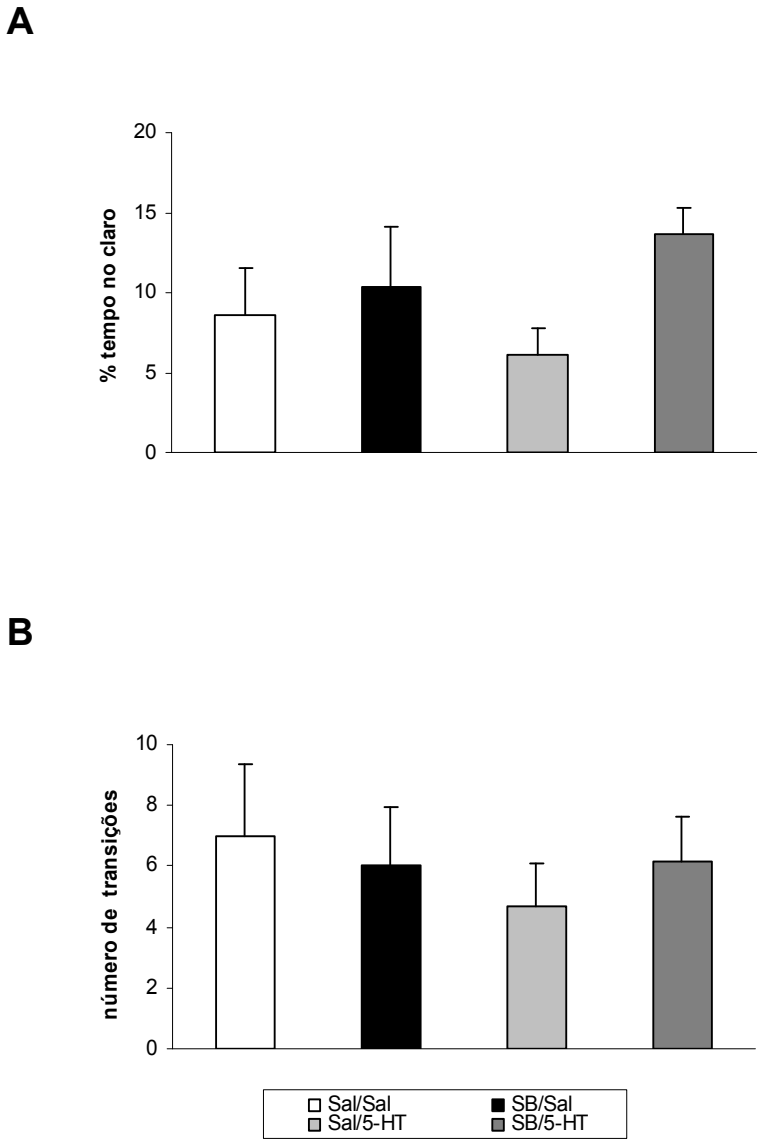


Figura 12 – Efeito (Média ± EPM) da injeção intra-núcleo basolateral de Salina ou SB-242084 (0,01nmol) previamente à administração de 5-HT (16 nmoles) sobre a porcentagem de tempo de permanência no compartimento claro (A) e o número de transições (B) de animais submetidos ao teste de transição claro-escuro (n = 6-7 por grupo).

Tabela 1 - Média (±EPM) da distância percorrida (DP) no teste do campo aberto por animais submetidos à microinjeção intra-núcleo basolateral de salina, 5-HT, MK-212, e SB-242084

TRATAMENTO	DP(m)
Experimento 1	
salina	27,72±3,22
5-HT (16 nmoles)	23,53±1,40
Experimento 2	
salina	21,87±1,51
MK (0,05 nmol)	21,00±1,69
MK (0,5 nmol)	21,35±1,11
MK (5 nmoles)	26,66±1,92
Experimento 3	
salina	24,57±3,34
SB (0,1 nmol)	28,89±4,16
SB (1 nmol)	32,28±4,83
SB (10 nmoles)	22,13±3,85
Experimento 4	
sal/sal	24,50±1,78
SB/sal	23,56±2,01
sal/5-HT	22,27±2,36
SB/5-HT	23,96±1,82

DISCUSSÃO

Dados da literatura mostram-se conflitantes quanto à participação de receptores serotonérgicos do complexo amigdalóide na modulação de respostas defensivas associadas tanto à ansiedade generalizada, quanto ao pânico (Petersen e Scheel-Kruger, 1984; Hodges et al., 1987; Zangrossi e Graeff, 1999; Silveira et al., 2001).

O presente trabalho teve por objetivo verificar o papel dos receptores serotonérgicos do tipo 5-HT_{2C} do núcleo basolateral do complexo amigdalóide na modulação de respostas defensivas relacionadas à ansiedade generalizada e ao pânico geradas em ratos submetidos ao teste do labirinto em T elevado e teste de transição claro-escuro. Tanto a resposta de esquiva inibitória no labirinto em T elevado, quanto o tempo de permanência no compartimento claro no teste de transição claro-escuro têm sido associados à ansiedade generalizada, enquanto a resposta de fuga no labirinto em T elevado tem sido associada ao pânico (Graeff e Zangrossi, 2002).

Ainda, utilizamos o teste do campo aberto, no qual nenhum dos tratamentos alterou significativamente o comportamento dos animais, sugerindo que os dados obtidos no labirinto em T elevado e no teste de transição claro-escuro parecem não decorrer de alterações na atividade locomotora dos mesmos.

Com relação ao experimento que avaliou o efeito da administração de serotonina na dose de 16 nmoles diretamente no núcleo basolateral do complexo amigdalóide, os resultados mostram-nos um efeito do tipo ansiogênico da mesma, que facilitou a aquisição da esquiva inibitória no labirinto em T elevado, bem como diminuiu o tempo de permanência do animal no compartimento claro do teste de transição claro-escuro. Vale ressaltar que, apesar de se ligar a todos os receptores serotonérgicos, este agonista endógeno possui maior afinidade por 5-HT_{2C} e 5-HT_{1A},

quando comparados aos demais receptores (Griebel, 1995). Esse resultado corrobora com a teoria do papel dual da serotonina, onde os autores sugerem que o aumento desse neurotransmissor no complexo amigdalóide promoveria um efeito do tipo ansiogênico (Deakin e Graeff, 1991). Como já citado na introdução, quando foi proposta, essa teoria considerava o complexo amigdalóide como um todo, não levando em conta os diferentes núcleos existentes nem tão pouco a diversidade de receptores serotonérgicos ali presentes, embora os estudos que levaram os autores a propor essa teoria, utilizavam manipulações de drogas nos núcleos lateral/basolateral do complexo amigdalóide e os receptores manipulados eram basicamente os do tipo 5-HT_{1A} e 5-HT_2 (Petersen e Scheel-Kruger, 1984; Hodges et al., 1987).

O resultado mostrando efeito do tipo ansiogênico da serotonina por nós obtido corrobora os estudos de Hodges e colaboradores (1987), no qual fora observado que a serotonina endógena, administrada intra-núcleo lateral/basolateral do complexo amigdalóide promoveu uma diminuição do número de pressões à barra num modelo de ansiedade que envolvia resposta punida. O mesmo resultado foi observado quando administrado o agonista 5-HT_{1A} 8-OH-DPAT. Mais recentemente, Martinez e colaboradores (2007) mostraram, no modelo do medo condicionado, que a fluoxetina, um inibidor seletivo da recaptação de serotonina, quando administrada diretamente no núcleo basolateral, promoveu um aumento significativo no comportamento de congelamento dos animais.

Buscando elucidar se o efeito do tipo ansiogênico promovido pela serotonina seria decorrente da ativação de receptores 5-HT_{2C} do núcleo basolateral do complexo amigdalóide, realizamos a administração do agonista de receptores 5-HT_{2C} MK-212, a administração do antagonista seletivo desses receptores SB-242084,

bem como um experimento visando antagonizar o efeito ansiogênico provocado pela serotonina.

Da mesma forma que a serotonina, a administração do agonista preferencial de receptores serotonérgicos do tipo 5-HT_{2C} MK-212 facilitou a aquisição da esquiva inibitória no labirinto em T elevado, isto é, um efeito do tipo ansiogênico. Nesse sentido, no teste de transição claro escuro, a dose de 0,1 nmol diminuiu significativamente o tempo de permanência no lado claro da caixa, reforçando a proposta de que receptores do tipo 5-HT_{2C} estejam envolvidos no efeito ansiogênico da 5-HT.

Ainda nessa direção estão nossos resultados envolvendo o antagonista seletivo 5-HT_{2C}. É interessante mencionar que o antagonista por nós utilizado SB-242084 é o primeiro antagonista seletivo de receptores 5-HT_{2C} de alta afinidade (Kennett et al., 1997). O tratamento intra-núcleo basolateral com SB-242084 prejudicou a resposta de esquiva inibitória dos animais. Este mesmo antagonista não promoveu diferença significativa quanto ao tempo de permanência no compartimento claro do teste de transição claro-escuro.

Quando avaliado o efeito da administração prévia de uma dose "ineficaz" (0,01 nmol) do antagonista de receptores 5-HT_{2C} SB-242084 sobre o efeito ansiogênico da serotonina, observa-se um nítido bloqueio deste efeito. Sendo assim, os animais que receberam serotonina posteriormente ao antagonista SB-242084, não mais exibiram a facilitação na esquiva inibitória. Embora existam tendências que favoreçam os resultados obtidos no labirinto em T elevado, a análise estatística do teste de transição claro-escuro não mostrou diferença significativa entre os grupos.

Evidências em relação ao papel dos receptores 5-HT_{2C} do núcleo basolateral do complexo amigdalóide também foram obtidos em outros modelos experimentais.

Por exemplo, o estudo de Campbell e Merchant (2003), utilizando outros modelos de ansiedade, como o teste do campo aberto e o teste de vocalização ultrassônica, mostrou que os receptores do tipo 5-HT_{2C} do complexo amigdalóide, mais especificamente o núcleo basolateral, estão envolvidos na ansiedade. Tais autores relatam que a infusão do agonista não seletivo 5-HT_{2C} m-CPP e do agonista seletivo 5-HT_{2C} IL-639 nesse núcleo amigdalóide elevou as respostas de medo em ratos submetidos a diferentes modelos animais de ansiedade, e, mais que isto, esse efeito ansiogênico foi bloqueado pelo pré-tratamento sistêmico com o antagonista seletivo 5-HT_{2C} SB-242084. Adicionalmente, De Mello Cruz e colaboradores (2005) também forneceram evidências de que a ativação dos receptores 5-HT_{2C} do núcleo basolateral causa efeito ansiogênico. Estes autores mostraram que a injeção do antagonista de receptores 5-$HT_{2A/2C}$ ritanserina nesse núcleo bloqueia o efeito ansiogênico causado pela injeção sistêmica do agonista preferencial de receptores 5-HT_{2C} MK-212 em animais submetidos ao labirinto em cruz elevado. Como a ritanserina apresenta maior afinidade por receptores 5-HT_{2C}, quando comparados aos receptores 5-HT_{2A} (Leisen, 2004), os autores sugerem que os efeitos observados no labirinto em cruz elevado sejam mediados pelos receptores 5-HT_{2C} do núcleo basolateral do complexo amigdalóide (De Mello Cruz et al., 2005).

De acordo com nossos resultados também estão estudos realizados em camundongos submetidos ao teste do labirinto em cruz elevado (Cornélio e Nunes-de-Souza, 2007). Um desses estudos mostrou que a administração de m-CPP no complexo amigdalóide promoveu uma redução no tempo de permanência dos animais no braço aberto, indicando um efeito do tipo ansiogênico (Cornélio e Nunes-de-Souza, 2007).

Estudos utilizando técnicas modernas de biologia celular e molecular têm ajudado a desvendar o papel dos receptores serotonérgicos relacionados com a ansiedade, dentre eles o receptor 5-HT_{2C}.

Segundo Heisler e colaboradores (2007), os receptores 5-HT_{2C} são responsáveis pela regulação dos comportamentos relacionados com a ansiedade. Este grupo realizou um trabalho com animais geneticamente modificados que não expressavam a proteína que codifica os receptores 5-HT_{2C}. Os resultados foram obtidos a partir de testes em modelos animais de ansiedade, como o labirinto em zero elevado e o teste do campo aberto, onde os animais geneticamente modificados apresentaram comportamentos que indicam uma diminuição da ansiedade. Nesse mesmo estudo foi realizada a marcação da expressão da proteína *fos* no complexo amigdalóide e foi verificado que nos animais que expressavam normalmente todas as proteínas, a porcentagem de neurônios marcados foi consistentemente maior após a exposição ao teste do campo aberto.

Um outro trabalho envolvendo técnicas de biologia molecular, que permite quantificar a expressão de genes, constatou que existe uma elevação na expressão de receptores 5-HT_{2C} no complexo amigdalóide de animais que passaram por uma sessão de estresse. Além de um aumento na expressão desses receptores, os mesmos animais apresentaram maior porcentagem de congelamento (Harada et al., 2008). Esta é mais uma evidência de que os receptores 5-HT_{2C} estão envolvidos nos processos de ansiedade.

O fato do SB-242084 ter promovido efeito ansiolítico quando administrado isoladamente sugere que os receptores do tipo 5-HT_{2C} do núcleo basolateral do complexo amigdalóide sugere que a serotonina endógena estimule tonicamente

estes receptores, favorecendo a expressão de comportamentos associados à ansiedade, tal como a resposta de esquiva inibitória.

Em relação à resposta de fuga, essa não foi alterada pelos tratamentos intra-núcleo basolateral com agonistas e com o antagonista de receptores 5-HT_{2C}, contrastando com o observado com as respostas de esquiva inibitória. Isso difere dos resultados obtidos por Strauss (2005), onde é evidente a participação dos receptores 5-HT_{1A} e 5-HT_{2A} do núcleo basolateral na resposta de fuga no labirinto em T elevado. Nesse mesmo estudo foi observado que a ativação de receptores 5-HT_{1A} em outro núcleo do complexo amigdalóide, o núcleo medial, altera a resposta de esquiva inibitória sem alterar a resposta de fuga. Esses resultados ressaltam a importância da distinção dos diferentes núcleos do complexo amigdalóide, bem como dos diferentes subtipos de receptores serotonérgicos envolvidos nas respostas eliciadas no labirinto em T elevado.

Recentemente, McNaughton e Corr (2004) formularam uma hipótese quanto aos substratos neurais responsáveis pela elaboração do medo e da ansiedade. Esses autores introduziram o conceito de sistema bidimensional de defesa, que está fundamentado nos conceitos de direção defensiva (Gray e McNaughton, 2000) e distância defensiva (Blanchard e Blanchard, 1988; Blanchard et al., 1993; Blanchard et al., 2001), ambos mencionados na introdução do presente estudo. McNaughton e Corr propõem que as estruturas envolvidas nos sistemas de defesa que controlam a ansiedade e o medo, respectivamente caracterizados por comportamentos que visam à aproximação e a retirada do animal da situação de perigo, são interconectadas. Assim, as estruturas que compõem estes sistemas atuam de acordo com a distância em que se encontra a fonte de perigo. Enquanto comportamentos expressos em resposta a estímulos potenciais seriam controlados

primordialmente por estruturas mais rostrais e corticais, comportamentos expressos em resposta a estímulos proximais seriam regulados por estruturas mais caudais e subcorticais. Segundo os autores, todas as estruturas envolvidas modulam tanto os comportamentos elaborados como, por exemplo, a esquiva inibitória, quanto respostas mais rápidas e explosivas, como a fuga. Dentre as estruturas que participam destes dois sistemas está o complexo amigdalóide, elaborando a resposta defensiva mais apropriada para cada situação (McNaughton e Corr, 2004).

Dessa forma, em conjunto, nossos resultados ajudam a elucidar o papel do complexo amigdalóide e dos receptores serotonérgicos envolvidos na elaboração das respostas de medo e ansiedade proposta por McNaughton e Corr (2004). Ao que parece, os receptores serotonérgicos do núcleo basolateral exercem um papel pontual na resposta de fuga por ativação de receptores do tipo 5-HT_{1A} e 5-HT_{2A} e não pela ativação de 5-HT_{2C}. É possível que o núcleo medial também esteja envolvido na resposta de fuga, mas até o momento, o que temos é que nem a ativação de receptores 5-HT_{1A} nem de 5-HT_{2A} está envolvida nesta resposta.

Em suma, nossos resultados mostram que a ativação de receptores 5-HT_{2C} do núcleo basolateral do complexo amigdalóide promove um efeito ansiogênico. Após a administração dos agonistas serotonina e MK-212, os animais submetidos ao teste do labirinto em T elevado apresentaram uma facilitação na aquisição da esquiva inibitória. O bloqueio desses receptores realizado pela administração do antagonista SB-242084 prejudicou a aquisição da esquiva inibitória. Enquanto a inativação desses receptores promove um efeito do tipo ansiolítico, o efeito ansiogênico provocado pela ativação de receptores 5-HT_{2C} é bloqueado pela administração prévia do antagonista seletivo. Adicionalmente, nem a ativação nem o bloqueio

desses receptores exercem efeito sobre a resposta de fuga dos animais no teste do labirinto em T elevado.

Em conjunto nossos resultados sugerem que os receptores 5-HT_{2C} do núcleo basolateral do complexo amigdalóide têm papel sobre a resposta de esquiva inibitória, mas não sobre a resposta de fuga gerada no labirinto em T elevado, revelando um papel diferenciado destes receptores na modulação de comportamentos defensivos relacionados à ansiedade generalizada e ao pânico.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Adolphs R, Tranel D, Damasio H, Damasio A. Impaired recognition of emotion in facial expressions following bilateral damage to the human amygdala. Nature, 372(6507):669-72; 1994.

Aggleton JP, Passingham RE. Stereotaxic surgery under X-ray guidance in the rhesus monkey, with special reference to the amygdala. Exp Brain Res, 44(3):271-6, 1981.

American Psychiatry Association. Diagnostic and statistical manual of mental disorders. 4th edition, text revision. 2000.

Argyropoulos SV, Sandford JJ, Nutt DJ. The psychobiology of anxiolytic drug. Part2: Pharmacological treatments of anxiety. Pharmacology Therapy, 88(3):213-27. Review, 2000.

Azmitia EC, Segal M. An autoradiographic analysis of the differential ascending projections of the dorsal and median raphe nuclei in the rat. Journal Comparison Neurology. 1;179(3):641-67, 1978.

Blanchard DC, Blanchard RJ. Ethoexperimental approaches to the biology of emotion. Annu Rev Psychol, 39:43-68. Review. 1988.

Blanchard DC, Griebel G, Blanchard RJ. Mouse defensive behaviors: pharmacological and behavioral assays for anxiety and panic. Neurosci Biobehav Rev, 25 (3):205-18, 2001.

Blanchard RJ, Flannelly KJ, Blanchard DC. Defensive behavior of laboratory and wild Rattus norvegicus. JComp Psycol, 100:101-107, 1986.

Blanchard RJ, Yudko EB, Rodger RJ, Magee LK, Blanchard DC. Defense system psychopharmacology: an ethological approach to the pharmacology of fear and anxiety. Behav Brain Res, 58:155-65, 1993.

Brandão ML, Anseloni VZ, Pandóssio JE, De Araújo JE, Castilho VM. Neurochemical mechanisms of the defensive behavior in the dorsal midbrain.Neurosci Biobehav Rev, 23(6):863-75. Review. 1999.

Brandão ML, Melo LL, Cardoso SH. Mechanisms of defense in the inferior colliculus. Behav Brain Res, 58(1-2):49-55. Review. 1993.

Campbell BM, Merchant KM. Serotonin 2C receptors within the basolateral amygdala induce acute fear-like responses in an open-field environment. Brain Research, 993: 1-9, 2003.

Campeau S, Hayward MD, Hope BT, Rosen JB, Nestler EJ, Davis M. Induction of the c-fos proto-oncogene in rat amygdala during unconditioned and conditioned fear. Brain Res, 565(2):349-52, 1991.

Ceulemans DL, Hoppenbrouwers ML, Gelders YG, Reyntjens AJ. The influence of ritanserin, a serotonin antagonist, in anxiety disorders: a double-blind placebo-controlled study versus lorazepam. Pharmacopsychiatry, (5):303-5, 1985.

Cornélio AM, Nunes-de-Souza RL. Anxiogenic-like effects of mCPP microinfusions into the amygdala (but not dorsal or ventral hippocampus) in mice exposed to elevated plus-maze. Behav Brain Res, 178(1):82-9, 2007.

Dafters RI. Effect of medial archistriatal lesions on the conditioned emotional response and on auditory discrimination performance of the pigeon. Physiol Behav, 17(4):659-65, 1976.

Darwin CA. A expressão das emoções nos homens e nos animais. Tradução de Garcia LSL, Companhia das letras, São Paulo, 2000.

Davis M. The role of the amygdala in fear and anxiety.Annu Rev Neurosci, 15:353-75. Review. 1992.

De Mello Cruz AP, Pinheiro G, Alves SH, Ferreira G, Mendes M, Faria L, Macedo CE, Mota V, Ladeira-Fernanades J. Behavioral effects of systemically administered MK-212 are prevented by ritanserin microinfusion into the basolateral amygdala of rats Psychopharmacology (Berl);182(3):345-54, 2005.

De Oliveira RW, Del Bel EA, Guimarães FS. Behavioral and c-fos expression changes induced by nitric oxide donors microinjected into the dorsal periaqueductal gray. Brain Res Bull, 51(6):457-64, 2000.

De Paula Soares V, Zangrossi H Jr. Involvement of 5-HT1A and 5-HT2 receptors of the dorsal periaqueductal gray in the regulation of the defensive behaviors generated by the elevated T-maze. Brain Res Bull, 64(2):181-8, 2004.

Deakin JF, Simpson MD, Slater P, Royston MC. Social signaling and schizophrenia: the significance of neurochemical and morphological abnormalities of the basolateral circuit. Clin Neuropharmacol.15 Suppl 1 Pt A:495A-497A. 1992.

Deakin JF. Neuropsychological implications of brain changes in schizophrenia: an overview. Psychopathology.;27(3-5):251-4. Review. 1994.

Deakin JFW, Graeff FG. 5-HT and mechanisms of defense. Journal of Psychopharmacology, 5:305-315, 1991.

Den Boer JA, Westenberg HG. Behavioral, neuroendocrine, and biochemical effects of 5-hydroxytryptophan administration in panic disorder. Psychiatry Res, 31(3):267-78, 1990.

Downer JL. Changes in visual gnostic functions and emotional behaviour following unilateral temporal pole damage in the 'split-brain' monkey. Nature, 191:50-1, 1961.

Duncan GE, Knapp DJ, Breese GR. Neuroanatomical characterization of Fos induction in rat behavioral models of anxiety.Brain Res, 713(1-2):79-91, 1996.

Duxon MS, Kennett GA, Lightowler S, Blackburn TP, Fone KC. Activation of 5-HT2B receptors in the medial amygdala causes anxiolysis in the social interaction test in the rat. Neuropharmacology, 36(4-5):601-8, 1997.

Eison AS, Eison MS, Yocca FD, Gianutsos G. Effects of imipramine and serotonin-2 agonists and antagonists on serotonin-2 and beta-adrenergic receptors following noradrenergic or serotonergic denervation.Life Sci, 44(19):1419-27, 1989.

Fernandez De Molina A, Hunsperger RW. Central representation of affective reactions in forebrain and brain stem: electrical stimulation of amygdala, stria terminalis, and adjacent structures. J. Physiol.;145(2):251-65, 1959.

File SE, James TA, MacLeod NK. Depletion in amygdaloid 5-hydroxytryptamine concentration and changes in social and aggressive behaviour. J Neural Transm, 50(1):1-12, 1981.

File SE. Usefulness of animal models with newer anxiolytics.Clin Neuropharmacol, 15 Suppl 1 Pt A:525A-526A.Fonberg E (1968) The role of the amygdaloid nucleus in animal behaviour.Prog Brain Res, 22:273-81, 1992.

Fonberg E. Effect of partial destruction of the amygdaloid complex on the emotional-defensive behaviour of dogs.Bull Acad Pol Sci Biol, 13(7):429-32, 1965.

Geller I. Effect of punishment on lever pressing maintained by food reward or brain stimulation. Physiol Behav. Feb;5(2):203-6, 1970.

Geller I, Seifter J. The effects of meprobamate, barbiturates, D-amphetamine, and promazine on experimentally induced conflict in the rat, *Psychopharmacologia* pp. 482–492, 1960.

Geller I, Blum K. The effects of 5-HTP on para-Chlorophenylalanine (p-CPA) attenuation of "conflict" behavior.Eur J Pharmacol.;9(3):319-24, 1970.

Goddard GV. Functions of the amygdala. Psychol Bull. Aug;62:89-109. Review. 1964.

Graeff FG. Brain defense system and anxiety. In: Burrows GD; Roth M; Noyes JR R. Handbook of anxiety: The neurobiology of Anxiety. Amsterdam: Elsevier Science Publishers, v.3, p. 307-54,1990.

Graeff FG. Role of 5-HT in defensive behavior and anxiety. Reviews in Neurosciences, 4(2):181-211,1993.

Graeff FG. Neuroanotomy and neurotransmitter regulation of defensive behaviors and related emotions in mammals. Brazilian Journal of Medical and Biological Research, 27:811-829, 1994.

Graeff FG. Ansiedade. In Graeff FG, Brandão ML (eds) Neurobiologia das doenças mentais. 5.ed., p.135-178. São Paulo, Lemos, 1999.

Graeff FG, Audi EA, Almeida SS, Graeff EO, Hunziker MH. Behavioral effects of 5-HT receptor ligands in the aversive brain stimulation, elevated plus-maze and learned helplessness tests. Neurosci Biobehav Rev., 14(4):501-6. Review. 1990.

Graeff FG, Netto CF, Zangrossi H Jr. The elevated T-maze as an experimental model of anxiety. Neurosci Biobehav Rev, 23(2):237-46. Review. 1998.

Graeff FG, Schoenfeld RI. Tryptaminergic mechanisms in punished and nonpunished behavior.J Pharmacol Exp Ther,173(2):277-83,1970.

Graeff FG, Silveira MC, Nogueira RL, Audi EA, Oliveira RM. Role of the amygdala and periaqueductal gray in anxiety and panic.Behav Brain Res,58(1-2):123-31. Review. 1993.

Graeff FG, Zangrossi H Jr. Animal models of anxiety disorders. In: D'Haenen h, den Boer JA and Willner P (eds.). Biological Psychiatry, John Wiley & Sons, Ltda. 2002.

Graeff FG, Brandão ML. Neurobiologia das doenças mentais. 5a. Ed. p. 135-178. São Paulo: Lemos, 1999.

Graeff FG, Viana MB, Mora PO. Opposed regulation by dorsal raphe nucleus 5-HT pathways of two types of fear in the elevated T-maze. Pharmacol Biochem Behav, 53:171-77,1996.

Graeff FG, Viana MB, Mora PO. Dual role of 5-HT in defense and anxiety. Neurosci Biobehav Review, 21(6):791-99, 1997.

Graeff FG, Zangrossi H Jr. Animal models of Anxiety Disorders. In: D'Haenen, H; Den Boer, JA; Westenberg H; Willner P. Textbook of Biological Psychiatry. p. 879-893. Londres: Wiley and Sons, 2002.

Graeff FG. Minor tranquilizers and brain defense systems. Braz J Med Biol Res.,14(4-5):239-65. Review. 1981.

Gray JA, McNaughton N. Anxiolytic action on the behavioural inhibition system implies multiple types of arousal contribute to anxiety.Journal Affect Disorders 61(3): 161-76, 2000.

Griebel G. 5-Hydroxytryptamine-interacting drugs in animal models of anxiety disorders: more than 30 years of research. Pharmacol Ther., 65(3):319-95. Review. 1995.

Guimarães FS, Hetem LAB. Ansiedade induzida experimentalmente em humanos. In: Graeff FG, Hetem LAB (eds). Ansiedade e transtornos de ansiedade. Rio de Janeiro, Editora Científica Nacional, 1997. Cap.5, p 121-151.

Halgren E, Chauvel P. Experimental phenomena evoked by human brain electrical stimulation.Adv Neurol.;63:123-40. Review. 1993.

Hannon J, Hoyer D. Molecular biology of 5-HT receptors. Behav Brain Res, 195(1):198-213. Review. 2008.

Harada K, Yamaji T, Matsuoka N. Activation of the serotonin 5-HT2C receptor is involved in the enhanced anxiety in rats after single-prolonged stress. Pharmacol Biochem Behav, 89(1):11-6, 2008.

Heisler LK, Pronchuk N, Nonogaki K, Zhou L, Raber J, Tung L, Yeo GS, O'Rahilly S, Colmers WF, Elmquist JK, Tecott LH. Serotonin activates the hypothalamic-pituitary-adrenal axis via serotonin 2C receptor stimulation. J Neurosci,27(26):6956-64, 2007.

Helmstetter FJ. Contribution of the amygdala to learning and performance of conditional fear. Physiol Behav, 51(6):1271-6, 1992.

Hensman R, Guimarães FS, Wang M, Deakin JF. Effects of ritanserin on aversive classical conditioning in humans.Psychopharmacology, 104(2):220-4, 1991.

Hodges H, Green S, Glenn B. Evidence that amygdala is involved in benzodiazepine and serotoninergic effects on punished responding but not on discrimination. Psychopharmacology, 104:545-551, 1987.

Horel JA, Keating EG, Misantone LJ. Partial Klüver-Bucy syndrome produced by destroying temporal neocortex or amygdala. Brain Res, 94(2):347-59, 1975.

Horvath FE. Effects of basolateral amygdalectomy on three types of avoidance behavior in cats.J Comp Physiol Psychol, 56:380-9, 1963.

Hoyer D, Hannon JP, Martin GR. Molecular, pharmacological and functional diversity of 5-HT receptors. Pharmacol Biochem Behav,71(4):533-54. Review. 2002.

Jellestad FK, Bakke HK. Passive avoidance after ibotenic acid and radio frequency lesions in the rat amygdala. Physiol Behav,34(2):299-305, 1985.

Jenck F, Broekkamp CL, Van Delft AM. 5-HT1C receptors in the serotonergic control of periaqueductal gray induced aversion in rats. Psychopharmacology (Berl). 1990; 100(3):372-6, 1990.

Johnson MR, Lydiard RB. The neurobiology of anxiety disorders.Psychiatr Clin North Am, 8(4):681-725. Review. 1995.

Jonason KR, Enloe LJ, Contrucci J, Meyer PM. Effects of simultaneous and successive septal and amygdaloid lesions on social behavior of the rat. J Comp Physiol Psychol. 83(1):54-61, 1973.

Kapp BS, Frysinger RC, Gallagher M, Haselton JR. Amygdala central nucleus lesions: effect on heart rate conditioning in the rabbit.Physiol Behav,23(6):1109-17, 1979.

Kapp BS, Gallagher M, Underwood MD, McNall CL, Whitehorn D. Cardiovascular responses elicited by electrical stimulation of the amygdala central nucleus in the rabbit.Brain Res,;234(2):251-62, 1982.

Kennett GA, Wood MD, Bright F, Trail B, Riley G, Holland V, Avenell KY, Stean T, Upton N, Bromidge S, Forbes IT, Brown AM, Middlemiss DN, Blackburn TP. SB 242084, a selective and brain penetrant 5-HT2C receptor antagonist.Neuropharmacology, 36(4-5):609-20, 1997.

Kiser RS Jr, Brown CA, Sanghera MK, German DC. Dorsal raphe nucleus stimulation reduces centrally-elicited fearlike behavior. Brain Research, 2;191(1):265-72, 1980.

Klüver H, Bucy PC. Preliminary analysis of functions of the temporal lobes in monkeys. 1939. J Neuropsychiatry Clin Neurosci., 9(4):606-20, 1997.

Kolb B, Nonneman AJ. Frontolimbic lesions and social behavior in the rat.Physiol Behav,13(5):637-43, 1974.

LeDoux JE, Cicchetti P, Xagoraris A, Romanski LM. The lateral amygdaloid nucleus: sensory interface of the amygdala in fear conditioning.J Neurosci, 10(4):1062-9, 1990.

LeDoux JE. Emotion, memory and the brain. Sci Am,270(6):50-7. Review. 1994.

LeDoux JE. O cérebro emocional. Os misteriosos alicerces da vida emocional. Objetiva (1998).

Leysen JE. 5-HT2 receptors. Curr Drug Targets CNS Neurol Disord. Feb;3(1):11-26. Review. 2004.

MacLean PD. Some psychiatryc implications of studies on frontemporal portion of limbic system. Electroencephalogram Clin Neurophysiol Suppl., 4(4)407-18, 1952.

Martinez RC, Ribeiro de Oliveira A, Brandão ML. Serotonergic mechanisms in the basolateral amygdala differentially regulate the conditioned and unconditioned fear organized in the periaqueductal gray. Eur Neuropsychopharmacol,17(11):717-24, 2007.

McDonald AJ.Cortical pathways to the mammalian amygdala. Prog Neurobiol., 55(3):257-332. Review. 1998.

McNaughton N, Corr PJ. A two-dimensional neuropsychology of defense: fear/anxiety and defensive distance. Neurosci Biobehav Rev, 28(3):285-305, 2004.

Millan MJ. The neurobiology and control of anxious states.Prog Neurobiol. Jun;70(2):83-244. Review. 2003.

Nogueira RL, Graeff FG. Role of 5-HT receptor subtypes in the modulation of dorsal periaqueductal gray generated aversion. Pharmacol Biochem Behav;52(1):1-6, 1995.

Nutt DJ. Anxiety and its therapy: today and tomorrow. In: Briley, M & File SE (eds): New concepts in anxiety, Macmillan, London, 1991.

Paxinos G, Watoson C. The rat brain in stereotaxic coordinates. 4rd ed., San Diego: Aademic Press. 1998.

Panksepp J. The Varieties of Emotional Systems in the Brain. In: Panksepp J. Affective Neuroscience – The Fondations of Human and Animal Emotions. Oxford University Press. p.446. 1998.

Petersen EN, Scheel-Kruger J. Anconflict effects of antagonists by intra amygdaloid injection: effects of serotonergics agents. In: 14 th CINP Congress abstracts, p.399. 1984.

Pitkänen A, Pikkarainen M, Nurminen N, Ylinen A.Reciprocal connections between the amygdala and the hippocampal formation, perirhinal cortex, and postrhinal cortex in rat. A review. Ann N Y Acad Sci. 911:369-91. Review. 2000.

Rickels K, Downing R, Schweizer E, Hassman H. Antidepressants for the treatment of generalized anxiety disorder. A placebo-controlled comparison of imipramine, trazodone, and diazepam. Arch Gen Psychiatry, 50(11):884-95, 1993.

Robichaud RC, Sledge KL. The effects of p-chlorophenylalanine on experimentally induced conflict in the rat. Life Sci, 8(17):965-9, 1969.

Rosen JB. The neurobiology of conditioned and unconditioned fear: a neurobehavioral system analysis of the amygdala.Behav Cogn Neurosci Rev, 3(1):23-41. Review. 2004.

Rosvold HE, Mirsky AF, Pribram KH. Influence of amygdalectomy on social behavior in monkeys. J Comp Physiol Psychol, 47(3):173-8, 1954.

Sah P, Faber ES, Lopez De Armentia M, Power J. The amygdaloid complex: anatomy and physiology. Physiol Rev,83(3):803-34. Review. 2003.

Sena LM, Bueno C, Pobbe RL, Andrade TG, Zangrossi H Jr, Viana MB. The dorsal raphe nucleus exerts opposed control on generalized anxiety and panic-related defensive responses in rats. Behav Brain Res,142(1-2):125-33, 2003.

Shekhar A, Sajdyk TJ, Gehlert DR, Rainnie DG. The amygdala, panic disorder, and cardiovascular responses. Ann N Y Acad Sci,985:308-25. Review. 2003.

Shibata K, Kataoka Y, Gomita Y, Ueki S. Localization of the site of the anticonflict action of benzodiazepines in the amygdaloid nucleus of rats. Brain Res. Feb 25;234(2):442-6, 1982.

Shibata K, Kataoka Y, Yamashita K, Ueki S. An important role of the central amygdaloid nucleus and mammillary body in the mediation of conflict behavior in rats. Brain Res, 30;372(1):159-62, 1986.

Silveira MC, Zangrossi H, de Barros Viana M, Silveira R, Graeff FG. Differential expression of Fos protein in the rat brain induced by performance of avoidance or escape in the elevated T-maze. Behav Brain Res, 126(1-2):13-21, 2001.

Strausss CV. Efeitos da ativação de receptores serotonérgicos dos tipos 5-HT1A e 5-HT2A/C do complexo amigdalóide sobre a modulação de respostas defensivas associadas à ansiedade e ao pânico [tese]. Ribeirão Preto: Faculdade de Filosofia Ciêcias e Letras da Universidade de São Paulo, 2005.

Swanson LW, Petrovich GD. What is the amygdala? Trends Neurosci, 22(5):207-8, 1999.

Teixeira RC, Zangrossi H Jr, Graeff FG. Behavioral effects of acute and chronic imipramine in the elevated T-maze model of anxiety. Pharmacology Biochemistry Behavior, 65(4):571-6, 2000.

Tesar GE, Rosenbaum JF. Recognition and management of panic disorder.Adv Intern Med, 38:123-49. Review. 1993.

Treit D. Animal models for the study of anti-anxiety agents: a review. Neurosci Biobehav Rev, 9(2):203-22, 1985.

Tye NC, Sahgal A, Iverssen SD. Benzodiazepines and discrimination behaviour: dissociation of response and sensory factors. Psychopharmacology, 29;52(2):191-4, 1977.

Ursin H, Kaada BR. Functional localization within the amygdaloid complex in the cat. Electroencephalogr Clin Neurophysiol, 12:1-20, 1960.

Ursin H. The effect of amygdaloid lesions on flight and defense behavior in cats.Exp Neurol, 11:61-79,1965.

Viana, MB, Tomaz C Graeff FG. The elevated T-maze: a new animal model of anxiety and memory. Pharmacol Biochem Behav. 1994 49(3):549-54, 1994.

Wise DC, Berger BD, Stein L. Benzodiazepines: anxiety-reducing activity by reduction of serotonin turnover in the brain. Science. 14;177(44):180-3, 1972.

Yadin E, Thomas E, Strickland CE, Grishkat HL. Anxiolytic effects of benzodiazepines in amygdala-lesioned rats. Psychopharmacology,103(4):473-9, 1991.

Yamashita K, Kataoka Y, Miyazaki A, Shibata K, Tominaga K, Ueki S. A key role of the mammillary body in mediation of the antianxiety action of zopiclone, a cyclopyrrolone derivative. Jpn J Pharmacol, 51(3):438-42, 1989.

Zangrossi H Jr, Graeff FG. Behavioral validation of the elevated T-maze, a new animal model of anxiety. Brain Research Bull, 44:1-5, 1997.

Zangrossi H Jr, Viana MB, Graeff FG. Anxiolytic effect of intra-amygdala injection of midazolam and 8-hidroxy-2-(di-n-propylamino)tetralin in the elevated T-maze. European Journal Pharmacology, 369:267-270, 1999.

Zangrossi H Jr, Viana MB, Zanoveli J, Bueno C, Nogueira RL, Graeff FG. Serotonergic regulation of inhibitory avoidance and one-way escape in the rat elevated T-maze.Neuroscience Biobehavior 25(7-8):637-45. Review. 2001.

Zangrossi H Jr, Viana MB, Zanoveli J, Bueno C, Nogueira RL, Graeff FG. Serotonergic regulation of inhibitory avoidance and one-way escape in the rat elevated T-maze. Neurosci Biobehav Rev. 25(7-8):637-45, 2001.

Zanoveli JM, Nogueira RL, Zangrossi H Jr. Chronic imipramine treatment sensitizes 5-HT1A and 5-HT2A receptors in the dorsal periaqueductal gray matter: evidence from the elevated T-maze test of anxiety. Behav Pharmacol. 16(7):543-52, 2005.

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