

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA INTERINSTITUCIONAL DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
FISIOLÓGICAS
ASSOCIAÇÃO AMPLA UFSCar/UNESP**

**O PAPEL DOS RECEPTORES 5-HT₃ DA AMÍDALA NA MODULAÇÃO DA
ANSIEDADE EM CAMUNDONGOS EXPOSTOS AO LABIRINTO EM CRUZ
ELEVADO**

Letícia Laine

**São Carlos, SP
Junho, 2010**

Livros Grátis

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

Milhares de livros grátis para download.

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA INTERINSTITUCIONAL DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
FISIOLÓGICAS
ASSOCIAÇÃO AMPLA UFSCar/UNESP**

**O PAPEL DOS RECEPTORES 5-HT₃ DA AMÍDALA NA MODULAÇÃO DA
ANSIEDADE EM CAMUNDONGOS EXPOSTOS AO LABIRINTO EM CRUZ
ELEVADO**

**Dissertação apresentada ao Programa
de Pós-Graduação em Ciências
Fisiológicas da Universidade Federal
de São Carlos, como parte dos
requisitos para obtenção do título de
Mestre em Ciências Fisiológicas.**

Orientadora: Profa. Dra. Azair Liane Matos do Canto de Souza

**São Carlos - SP
2010**

**Ficha catalográfica elaborada pelo DePT da
Biblioteca Comunitária da UFSCar**

L186pr

Laine, Letícia.

O papel dos receptores 5-HT₃ da amígdala na modulação da ansiedade em camundongos expostos ao labirinto em cruz elevado / Letícia Laine. -- São Carlos : UFSCar, 2010. 88 f.

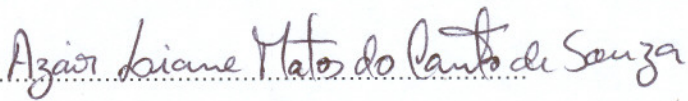
Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal de São Carlos, 2010.

1. Psicofarmacologia. 2. Ansiedade. 3. Serotonina. I. Título.

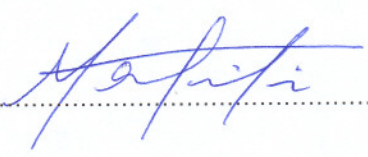
CDD: 615.78 (20^a)

Programa Interinstitucional de Pós-Graduação em Ciências
Fisiológicas
Associação Ampla UFSCar/UNESP

Defesa de Dissertação de Letícia Laine

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

Profa. Dra. Cláudia Maria Padovan.....

Profa. Dra. Rosana Mattioli.....

*Dedico este trabalho aos meus
pais e ao meu irmão Eduardo,
por estarem sempre presente e
por me darem tantas alegrias.*

AGRADECIMENTOS

À Deus.

Aos meus pais, pela dedicação e amor sem fim.

Ao meu irmão Eduardo, pelos conselhos e horas de conversa.

À Azair, pela orientação.

À banca de qualificação, pelas sugestões.

À banca de defesa, pela atenção prestada na leitura deste trabalho.

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

Aos amigos do laboratório Vanessa, Gabriel, Luciana, Ila, Luana, Ana, Fernando, Daniela, Cacilda, Kelly, Polianna, Hélvia e Cilene pela agradável convivência.

Aos amigos do laboratório de farmacologia-UNESP, pelo apoio sempre que necessário.

Ao Alexandre pela competência profissional na secretaria do Programa Interinstitucional de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas.

Ao Programa Interinstitucional de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas UFSCar/UNESP.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela disponibilização da bolsa.

1. RESUMO

Situações aversivas podem ativar as vias serotoninérgicas, que por sua vez, emitem projeções para estruturas envolvidas no sistema de defesa tais como, septo, hipotálamo, hipocampo, substância cinzenta periaquedutal e amígdala, produzindo alterações comportamentais que podem ser caracterizadas como ansiedade. Várias pesquisas relacionam a função de receptores 5-HT₃ com comportamentos de ansiedade. Entretanto, a serotonina (5-HT) apresenta um papel dual nesta modulação. O labirinto em cruz elevado (LCE), que se baseia na aversão natural de roedores a espaços abertos, é um dos modelos amplamente utilizado para o estudo da ansiedade em roedores. Assim, este estudo investigou os efeitos de um agonista e um antagonista de receptores 5-HT₃, mCPBG e ondansetron, respectivamente, intra-amígdala de camundongos expostos ao LCE. Medidas convencionais de ansiedade (% de entrada e de tempo gasto nos braços abertos), atividade locomotora (frequência de entrada nos braços fechados) e medidas etológicas relacionadas à avaliação de risco foram registradas. Os resultados mostraram que, nos experimentos 1 e 2, as administrações intra-amígdala de ondansetron (0,3, 1,0 e 3,0 nmol/0,1µl) e mCPBG (10 e 20 nmol/0,1µl), produziram diminuição e aumento, respectivamente dos índices de ansiedade em camundongos avaliados no LCE. No experimento 3, a injeção local de ondansetron (0,03nmol/0,1µl), foi capaz de reverter o efeito ansiogênico provocado pelo mCPBG (10 nmol/0,1µl). Nenhum dos tratamentos alterou a atividade locomotora. Tomados juntos, estes resultados sugerem que a modulação dos receptores 5-HT₃ da amígdala pela 5-HT em camundongos, pode apresentar papel ansiogênico.

Palavras-chave: serotonina, ondansetron, mCPBG, amígdala, labirinto em cruz elevado, camundongos.

2. ABSTRACT

Aversive situations may activate the serotonergic system, which, in turn, emit projections to structures involved in the defense mechanisms such as: septum, hypothalamus, hippocampus, periaqueductal gray and amygdala, producing behavioral alterations that can be characterized as anxiety. Various studies have related the 5-HT₃ receptor functions to anxiety-like behaviors. However, serotonin (5-HT) presents a dual role in this modulation. The elevated plus-maze (EPM), based on the rodents natural aversion to open spaces, is one of the most widely employed models used to study anxiety in rodents. Thus, this study investigates the effects of an agonist and an antagonist of 5-HT₃ receptors, mCPBG and ondansetron, respectively, on mice exposed to the EPM. Conventional anxiety measures (percentage of open arms entries and percentage of open arms time), locomotor activity (frequency of closed arms entries) and ethological measures related to the risk assessment were registered. The results demonstrated that, in experiments 1 and 2, the intra-amygdala injections of ondansetron (0.3, 1.0 and 3.0 nmol/0.1µl) and mCPBG (10 and 20 nmol/0.1µl), produced a decrease and increase, respectively, of the indices of anxiety in mice evaluated on the EPM. In experiment 3, the local ondansetron injection (0.03 nmol/0.1µl), was able of reverting the anxiogenic effect caused by the mCPBG (10 nmol/0.1µl). Taken together, these results suggest that the modulation of the 5-HT₃ amygdala receptors for the 5-HT receptors in mice, may display an anxiogenic role.

Key words: serotonin, ondansetron, mCPBG, amygdala, elevated plus-maze, mice.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Representação esquemática da localização da amígdala.	19
Figura 2. Receptor 5-HT ₃ .	25
Figura 3. Estrutura química do ondansetron.	30
Figura 4. Estrutura química do mCPBG.	31
Figura 5. Representação esquemática dos sítios de microinjeção na amígdala (setas) de camundongos.	37
Figura 6. Efeito do ondansetron (0, 0,03, 0,3, 1,0 e 3,0 nmol/0,1ul) intra-amígdala de camundongos sobre a frequência de entradas nos braços fechados e a porcentagem de entradas e de tempo gasto nos braços abertos do LCE. Os dados representam as médias (M) + erro padrão da média (E.P.M). $n = 8 - 12$. $*p < 0,05$, comparado ao veículo (ANOVA de uma via seguida do teste de Duncan)	39
Figura 7. Efeito do mCPBG (0, 10, 20, 40 e 80 nmol/0,1ul) intra-amígdala de camundongos sobre a frequência de entradas nos braços fechados e a porcentagem de entradas e de tempo gasto nos braços abertos do LCE. Os dados representam as médias (M) + erro padrão da média (E.P.M.). $n = 9 - 10$. $*p < 0,05$ comparado ao grupo veículo (ANOVA de uma via seguida do teste de Duncan).	41
Figura 8. Efeito da microinjeção combinada de ondansetron (0 ou 0,03 nmol) e mCPBG (0 ou 10 nmol) intra-amígdala de camundongos sobre a frequência de entradas nos braços fechados e a porcentagem de entradas e de tempo gasto nos braços abertos do LCE. Os dados representam as médias (M) + erro padrão da média (E.P.M.). $n = 8 - 10$. $*p < 0,05$, comparado ao veículo (V+V) (ANOVA de duas vias seguida do teste de Duncan) $\#p < 0,05$, comparado ao mCPBG (V+mCPBG) (ANOVA de duas vias seguida do teste de Duncan)	44
Foto 1. Labirinto em cruz elevado (LCE)	32
Foto 2. Medidas etológicas de camundongos durante a exposição ao LCE.	35

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Manifestações psíquicas da ansiedade.	13
Tabela 2: Manifestações somáticas da ansiedade.	14
Tabela 3: Transtornos de ansiedade segundo classificação do DSM-IV.	15
Tabela 4: Efeito da microinjeção de ondansetron (0, 0,03, 0,3, 1,0 e 3,0 nmol/0,1 µl) na amígdala de camundongos avaliados no LCE.	40
Tabela 5: Efeito da microinjeção de mCPBG (0, 10, 20, 40, 80 e 160 nmol/0,1 µl) na amígdala de camundongos avaliados no LCE.	42
Tabela 6: Efeito da injeção combinada de mCPBG (10 nmol/0,1µl) e ondansetron (0,03 nmol/0,1µl) na amígdala de camundongos expostos ao LCE.	45

SUMÁRIO

1. RESUMO.....	11
2. ABSTRACT.....	11
3. INTRODUÇÃO.....	11
3.1 Ansiedade.....	11
3.2 Reações de defesa.....	15
3.3 Amígdala.....	18
3.4 Modelo animal de ansiedade: o labirinto em cruz elevado (LCE).....	20
3.5 Serotonina e os receptores 5-HT ₃	22
4. OBJETIVOS.....	29
5. MATERIAL E MÉTODOS.....	30
5.1 Sujeitos.....	30
5.2 Drogas.....	30
5.3 Cirurgia e microinjeção de drogas.....	31
5.4 Aparato e procedimento geral.....	32
5.5 Delineamento experimental.....	33
5.5.1 Exp. 1: Microinjeção intra-amígdala de ondansetron (OND).....	33
5.5.2 Exp. 2: Microinjeção intra-amígdala de mCPBG.....	33
5.5.3 Exp. 3: Microinjeção combinada intra-amígdala de OND e mCPBG..	33
5.6 Análise comportamental.....	34
5.7 Histologia.....	35
5.8 Análise estatística.....	36
5.9 Ética.....	36
6. RESULTADOS.....	37
6.1 Exp. 1: Efeito ansiolítico da microinjeção de ondansetron na amígdala de camundongos expostos ao LCE.....	38
6.2 Exp. 2: Efeito ansiogênico da microinjeção de mCPBG na amígdala de camundongos expostos ao LCE.....	40
6.3 Exp. 3: Bloqueio do efeito ansiogênico do mCPBG (10 nmol) pelo pré-tratamento com ondansetron (0,03 nmol) intra-amígdala de camundongos expostos ao LCE.....	42
7. DISCUSSÃO.....	46
8. CONCLUSÃO.....	53
9. REFERÊNCIAS.....	54
10. APÊNDICE.....	76

3. INTRODUÇÃO

3.1 Ansiedade

A ansiedade afeta milhões de pessoas não fazendo diferença por padrão socio-econômico, idade, raça e religião (Liu et al, 2007). Tanto a ansiedade quanto o medo são respostas emocionais de grande valor adaptativo. Funcionam como impulso motivacional fundamental em diversas formas de comportamento e advertem sobre perigos e ameaças à integridade da pessoa, estimulando, assim, o organismo a tomar medidas necessárias para impedi-los (Blanchard e Blanchard, 1990; Brandão, 2001).

Diante de estímulos que representam perigo, os animais manifestam reações de defesa, o que origina o medo e a ansiedade. Assim, tais emoções são semelhantes, diferindo-se no fato de que, enquanto o medo é uma resposta a situações claras e evidentes de perigo previsível e externo, a ansiedade é uma resposta a um perigo potencial, vago, obscuro e não previsível (Blanchard e Blanchard, 1990; Blanchard et al., 1997; Graeff et al., 1997; Gray e McNaughton, 2000; Brandão, 2001; McNaughton e Corr, 2004). As alterações psicofisiológicas que compõem a ansiedade, tais como, aceleração da respiração e dos batimentos cardíacos, sensação de ameaça e bloqueio dos canais de comunicação, também são bastante semelhantes às do medo, podendo admitir-se uma identidade básica dos mecanismos neurais integrando ambos os estados emocionais (Graeff, 1989).

Segundo vários autores (Blanchard e Blanchard, 1990; Blanchard et al., 1997; Graeff et al., 1997; Brandão et al., 2003), estímulos condicionados de medo potenciais e distais eliciam respostas de medo no sistema neural, constituído pelo núcleo mediano da rafe, septo, hipocampo e substância cinzenta periaquedutal ventral. Por outro lado, estímulos ameaçadores proximais ou intensos eliciam respostas incondicionadas de medo geradas no teto mesencefálico. O hipotálamo parece funcionar como um relê na geração e

elaboração destas respostas, com seus componentes motores, autonômico e endócrino (através de suas conexões com a hipófise). A amígdala funciona como uma interface importante entre estes dois sistemas. A ativação de um ou outro destes circuitos neurais resulta na experiência emocional que alguns autores têm denominado condições como medo, ansiedade ou pânico (Blanchard e Blanchard, 1990; Blanchard et al., 1997; Brandão et al., 2003).

Ainda que a ansiedade seja uma das causas mais comuns de procura por assistência médica ou psiquiátrica, seus sintomas podem fazer parte de uma reação normal (Cardine, 1977). Deste modo, a psiquiatria admite que todo ser humano apresenta um nível de ansiedade considerado normal e com função adaptativa. No entanto, a partir de certa intensidade, o aumento na ansiedade promove diminuição do desempenho do indivíduo (Cardine, 1977; Graeff, 1999).

Assim, quando o nível de ansiedade ultrapassa determinado limiar, que varia de acordo com o indivíduo, essa passa a ser considerada patológica, condição em que o quadro é denominado Transtorno de Ansiedade. A diferenciação entre a ansiedade normal e a patológica, nem sempre é de fácil compreensão, mas é importante ressaltar que tal distinção fundamenta-se na intensidade das manifestações, na duração, na proporcionalidade da relação entre o evento desencadeante e a reação de ansiedade, e no grau de limitação provocado. Quando a ansiedade é intensa, persistente, desproporcional às possíveis causas e interfere de maneira considerável no funcionamento global do indivíduo, deve ser considerada patológica e alvo de intervenção médica (Nutt, 1990; Hetem, 1997).

Atualmente, o termo ansiedade é caracterizado como um estado emocional avaliado subjetivamente como desagradável, sendo, portanto uma combinação de manifestações psíquicas e somáticas (Tabela 1 e 2). Esta combinação de sintomas faz com que muitos indivíduos procurem primeiro um clínico geral, ou especialista não-psiquiatra. Quando os

aspectos subjetivos da ansiedade são as queixas principais, o diagnóstico é realizado corretamente pelos clínicos gerais em 95% dos casos. Entretanto, quando os pacientes enfatizam os sintomas somáticos, o índice de acerto cai pela metade (Hetem, 2004), já que estes estão presentes em diversas outras patologias.

Tabela 1: Manifestações psíquicas da ansiedade

Agressividade	Apreensão
Desrealização	Despersonalização
Impulsividade	Ideação suicida
Nervosismo	Medo de morrer/ficar louco
Pânico	Prejuízo da atenção
Sensação de "estar no limite"	Irritabilidade

Adaptada de Hetem, 2004

As discrepâncias entre os conceitos e diagnósticos dos transtornos de ansiedade entre os profissionais da psiquiatria foram fatores que dificultaram o avanço das investigações científicas. Assim, para a normatização de desordens mentais e seus critérios diagnósticos, foram adotados manuais tais como o Código Internacional de Doenças, já em sua décima versão (CID-10), pela Organização Mundial de Saúde (OMS) e o Manual de Diagnóstico e Estatística das Doenças Mentais (DSM, *Diagnostic Statistical Manual of Mental Disorders*), adotado pela Associação Psiquiátrica Americana (APA), já em sua quarta revisão (DSM-IV). A Tabela 3 mostra a classificação dos transtornos de ansiedade segundo o DSM-IV (American Psychiatric Association, 1995), que tem sido utilizada no intuito de facilitar os diagnósticos.

Tabela 2: Manifestações somáticas da ansiedade

Cardiovasculares	Aumento da pressão arterial
	Dor/desconforto torácico
	Palpitações
Gastrointestinais	Dificuldade de deglutição
	Náuseas e vômitos
	Diarréia
	Alterações do apetite
	Desconforto epigástrico
Geniturinários	Aumento no número de micções
	Hesitação e/ou urgência miccional
	Amenorréia
Otoneurológicos	Dor de cabeça
	Tonturas
	Tremor
	Reflexo de sobressalto exagerado
	Zumbido no ouvido
Perturbações do sono	Insônia de conciliação
	Sono entrecortado
	Sono pouco repousante
Respiratórios	Sensação de falta de ar
	Aumento da frequência respiratória
	Encurtamento movimentos respiratórios
Sexuais	Diminuição da libido
	Impotência
	Ejaculação precoce
Tensão motora	Tremor
	Tensão muscular
	Inquietação
	Dor muscular
	Sensação de fraqueza
Vasomotores	Extremidades frias
	Calafrios e/ou ondas de calor
	Rubor
	Sudorese
	Palidez

Adaptada de Hetem, 2004

Entre essas classificações, o Transtorno de Ansiedade Generalizada (TAG), é uma condição caracterizada por ansiedade e preocupação excessiva, ocorrendo na maioria dos dias por pelo menos seis meses, acompanhada por pelo menos três sintomas adicionais tais como inquietação, dificuldade de concentração, irritabilidade, tensão muscular e distúrbio

do sono (DSM IV). É a patologia psíquica mais frequente no mundo após o transtorno afetivo conhecido como Depressão (World Health Organization, 2007). No entanto, sabe-se, que estes distúrbios podem acontecer ao mesmo tempo, fenômeno chamado de comorbidade (Lima, 1999).

Tabela 3: Transtornos de ansiedade segundo classificação do DSM-IV

Transtorno de Pânico com Agorafobia
Transtorno de Pânico sem Agorafobia
Agorafobia sem História de Transtorno de Pânico
Fobia Social
Fobia Específica
Transtorno Obsessivo-Compulsivo
Transtorno de Estresse Pós-Traumático
Transtorno de Estresse Agudo
<i>Transtorno de Ansiedade Generalizada</i>
Transtorno de Ansiedade Devido a uma Condição Médica Geral
Transtorno de Ansiedade Induzido por Substância
Transtorno de Ansiedade Sem Outra Especificação

Adaptada de Hetem, 2004

Sob uma perspectiva evolutiva, a investigação dos comportamentos defensivos em mamíferos, como nos roedores, por exemplo, é de extrema relevância para o entendimento dos mecanismos neurobiológicos envolvidos nos transtornos de ansiedade, já que estes são considerados patologias do sistema de defesa humano (Gray e McNoughton, 2000; Blanchard et al., 2001; Graeff e Zangrossi, 2002).

3.2 Reações de defesa

O estudo da neurobiologia do medo e da ansiedade teve início através dos relatos de Charles Darwin sobre o caráter evolutivo do comportamento emocional no homem. Seus trabalhos, publicados originalmente em 1872 no livro “*The Expression of Emotions in Man and Animals*”, indicavam que o estudo do comportamento dos animais era a chave para a

compreensão das emoções no homem (Rodgers et al., 1997; Brandão et al., 2003). A partir desta abordagem, o homem, tendo outros animais como ancestrais, compartilharia com estes além de semelhanças físicas, suas emoções básicas.

Neste contexto, as raízes do medo e da ansiedade estão nas reações de defesa dos animais frente a estímulos que representam ameaça à sobrevivência, ou à sua integridade física. São várias as fontes de perigo tais como, estímulos ambientais (altura, claridade), alterações nos padrões físico-temporais (tempestades, incêndios, exposição a novos ambientes), estímulos nociceptivos (choques elétricos) ou mesmo por ataques de animais da mesma espécie. A apresentação da resposta dependerá da situação confrontada, da espécie em questão, resultando em respostas diferentes para estímulos distintos (Zangrossi e Graeff, 2004). Em geral, os animais utilizam uma de quatro estratégias defensivas básicas: fuga, congelamento, ataque defensivo ou submissão (Adams, 1979; Blanchard e Blanchard, 1988). A escolha por determinada estratégia leva em conta fatores como características do ambiente (rota de fuga ou não), distância do estímulo ameaçador e experiência prévia com o estímulo ou com o ambiente.

Embora a ansiedade e o medo possuam origens nas reações de defesa quando na presença de situações que envolvam perigo, acredita-se que haja diferença entre essas duas condições. Assim, supõe-se que o medo seja desencadeado por situações claras e evidentes de perigo e ameaça, enquanto a ansiedade, por situações na qual o perigo é potencial, vago e obscuro (Graeff, 1989; Blanchard et al., 1990).

Além disso, alguns autores sugerem que a distinção entre medo e ansiedade residiria exatamente nas estratégias comportamentais adotadas pelos animais. Assim, quando o estímulo é potencialmente ameaçador, este desencadearia comportamentos de avaliação de risco (posturas e movimentos do corpo que possibilitam a aproximação e a investigação da possível ameaça), caracterizando um estado de ansiedade. Quando o estímulo ou situação

ameaçadora é real, os comportamentos apresentados de luta, fuga ou congelamento caracterizariam medo. Outra diferença entre esses dois estados está no fato do medo ser insensível ao tratamento com drogas ansiolíticas, já a ansiedade se mostra sensível à ação dessas drogas (Blanchard et al., 1993). Dessa forma, modelos animais de medo e ansiedade favoreceriam a expressão de comportamentos defensivos frente a situações artificiais ou naturais de perigo, permitindo a compreensão de suas bases neurobiológicas subjacentes (Blanchard et al., 1993).

Evidências obtidas em laboratório a respeito das bases neurais do comportamento emocional apontam para existência de circuitos neurais específicos que respondem de acordo com o estímulo ao qual o indivíduo é exposto. *O Sistema Cerebral Aversivo*, representado pelo hipotálamo medial, pela substância cinzenta periaquedutal dorsal (SCPd) e pela amígdala, está associado à emissão de respostas incondicionadas (inatas e não aprendidas). Neste sistema a amígdala é a responsável pela avaliação do tipo e grau do perigo, e o resultado desta avaliação seria transmitido para o hipotálamo medial e SCP. Esta última teria a função de selecionar e organizar as respostas comportamentais e fisiológicas de defesa mais apropriadas. O hipotálamo medial por sua vez, regula o funcionamento da hipófise, responsável pela secreção de alguns hormônios (Hetem, 2004). A estimulação elétrica de estruturas que compõem este sistema produz um padrão típico de respostas caracterizado por intensa atividade motora (acompanhada de saltos) e alterações autonômicas como elevação da pressão arterial, frequência cardíaca e respiratória, piloereção, micção, defecação, exoftalmia (para revisão ver Brandão et al., 1994; 1999).

A organização das respostas condicionadas, por sua vez, é realizada pelo *Sistema de Inibição Comportamental*, representado pelo sistema septo-hipocampal, núcleo mediano da rafe e substância cinzenta periaquedutal ventral (SCPv) (Gray e McNaughton, 2000). A ativação deste sistema por sinais de punição, frustração, perigo ou situações novas resulta

em inibição de qualquer comportamento que o animal esteja realizando, bem como, aumento do nível de vigilância e atenção ou preparo para ação física rigorosa (Hetem, 2004). Sabe-se que a amígdala está envolvida na ativação dos dois sistemas, agindo como interface entre o sistema de inibição comportamental e o sistema cerebral aversivo (Brandão et al., 2003; McNaughton e Corr, 2004).

Evidências têm mostrado que estímulos incondicionados ameaçadores e proximais bem como estímulos condicionados potenciais e distais estão representados nos dois sistemas neurais responsáveis pela gênese e elaboração dos comportamentos emocionais. A ativação de um ou de outro sistema resulta na experiência emocional a qual denominamos medo/pânico e ansiedade (Brandão et al., 2003).

3.3 Amígdala

A amígdala ou corpo amidalóide (Figura 1) constitui uma massa esferóide de substância cinzenta apresentando cerca de 2 cm de diâmetro situada dentro da região antero-inferior do lobo temporal do hemisfério cerebral. Esta região do cérebro faz parte do sistema límbico e é um importante centro regulador do comportamento sexual e da agressividade (Gallagher e Chiba, 1996; LeDoux, 1998; Davis, 1998).

A amígdala tem comunicação com diversas estruturas do sistema límbico e, de acordo com muitos pesquisadores (Gallagher e Chiba, 1996; Davis, 1998; LeDoux, 1998), atua fazendo uma interface entre aspectos cognitivos e afetivos da ansiedade. Esta pequena estrutura em forma de amêndoa se interconecta com o hipocampo, os núcleos septais, a área pré-frontal e o núcleo dorso-medial do tálamo. Essas conexões garantem seu importante desempenho na mediação e controle das atividades emocionais de ordem maior, como amizade, amor e afeição, nas exteriorizações do humor e, principalmente, nos estados de medo e ira e na agressividade. A amígdala é fundamental para a auto-preservação, por ser

o centro identificador do perigo, gerando medo e ansiedade e colocando o animal em situação de alerta, aprontando-se para fugir ou lutar (LeDoux, 1998; Davis, 1998).

Figura 1: Representação esquemática da localização da amígdala.

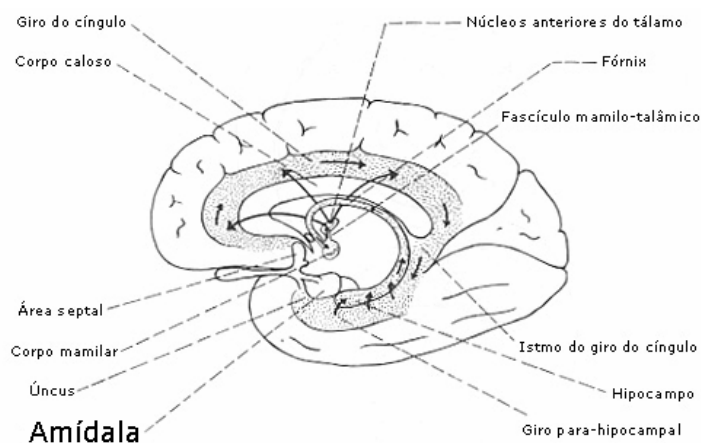


Figura retirada do site: <http://vetneuro.wordpress.com/2008/08/01/centro-das-emocoes-cerebro-ou-coracao-parte-ii/>

A destruição experimental das amígdalas faz com que o animal se torne dócil, sexualmente indiscriminativo, afetivamente descaracterizado e indiferente às situações de risco. O estímulo elétrico dessas estruturas provoca crises de violenta agressividade. Em humanos, a lesão da amígdala faz, entre outras coisas, com que o indivíduo perca o sentido afetivo da percepção de uma informação vinda de fora, como a visão de uma pessoa conhecida. Ele sabe quem está vendo, mas não sabe se gosta ou desgosta da pessoa em questão.

Desta forma, pode-se dizer que a amígdala tem um importante papel na regulação do comportamento emocional (Kuhar, 1986) e acredita-se que ela pode ser um importante sítio para a ação dos benzodiazepínicos (Nagy et al., 1979; Thomas et al., 1985). Além disso, esta estrutura está envolvida também nos principais circuitos serotoninérgicos que regulam as emoções, uma vez que ela é um dos principais sítios pós-sinápticos que recebe projeções serotoninérgicas provenientes do núcleo dorsal da rafe (Deakin e Graeff, 1991; Hoyer e

Martin, 1997; Zifa e Fillion, 1992) e que apresenta em sua estrutura, receptores 5-HT_{1A}, 5-HT₂ e 5-HT₃, onde os do tipo 5-HT_{1A} localizam-se principalmente na porção central, enquanto que os receptores 5-HT₂ e 5-HT₃ estão predominantemente localizados na porção basolateral desta estrutura (Rainnie, 1999).

A amígdala está relacionada à ansiedade condicionada, e sua estimulação elicia medo/ansiedade (Nieminem et al., 1992), enquanto que lesões em sua estrutura reduzem comportamentos relacionados à ansiedade (Treit et al., 1993).

3.4 Modelo animal de ansiedade: o labirinto em cruz elevado (LCE)

Em pesquisas sobre ansiedade, é freqüente o uso de modelos animais, que são empregados como ferramentas para a seleção de potenciais agentes terapêuticos, bem como para simulações sobre a neurobiologia das emoções (Treit et al, 1993, Griebel, 1995, Rodgers et al., 1997). Os modelos podem ser divididos em duas categorias: modelos animais de ansiedade que não envolvem condicionamento (incondicionado) e os que requerem condicionamento. Estes envolvem o treinamento dos animais, privação de água/comida, uso de choque elétrico. Os que não envolvem condicionamento são baseados em comportamentos espontâneos e são menos susceptíveis a fatores de interferência como aprendizado/memória, fome/sede ou mecanismos nociceptivos (Rodgers et al, 1997).

Um dos tipos de modelo incondicionado amplamente utilizado é o labirinto em cruz elevado (LCE) (para revisão ver Carobrez e Bertoglio, 2005). Este modelo foi desenvolvido e validado para ratos por Handley e Mithani (1984), a partir dos estudos de Montgomery (1958), e para camundongos por Lister (1987), sendo posteriormente validado para outras espécies como cobaias (Rex et al, 1994) e hamsters (Yannielli et al, 1996). O aparato é constituído de dois braços fechados unidos a dois braços abertos elevados do solo (Handley e Mithani, 1984; Lister, 1987). O modelo tem se mostrado útil para investigar

agentes ansiolíticos e ansiogênicos (para revisão, ver Treit, 1985, Lister, 1987, 1990; Gren e Hodgers, 1991; Handley, 1991; Treit, 1991; File, 1992; Rodgers e Cole, 1994; Griebel, 1995; Rodgers, 1997; Rodgers et al, 1997; Nunes-de-Souza et al, 2000; Nunes-de-Souza et al, 2002; Canto-de-Souza et al, 2002; Nunes-de-Souza et al, 2008). Além disso, o modelo é baseado no conflito entre duas características inatas dos roedores, aversão por espaços abertos e tendência de exploração de novidades (Fernandes e File, 1996, Handley e McBlane, 1993, Treit et al, 1993).

Os principais índices de ansiedade avaliados no LCE compreendem medidas espaço-temporais de esquiva dos braços abertos, enquanto a atividade locomotora é avaliada seja pelo número total de entradas nos braços ou pelo número de entradas nos braços fechados (Lister, 1987; File, 1992). No entanto, resultados de vários estudos têm demonstrado uma sensibilidade maior em certos comportamentos e posturas, em especial, daqueles relacionados ao padrão defensivo de avaliação de risco (Rodgers et al., 1992; Adamec et al., 1993; Cruz et al., 1994; Shepherd et al., 1994; Griebel et al., 1996, 1997). Estas medidas etológicas não são apenas freqüentemente mais sensíveis às ações das drogas, mas também podem detectar compostos tais como os agonistas parciais de receptores 5-HT_{1A} que falham em influenciar a esquiva aos braços abertos por si só, ou o fazem em doses que debilitam o organismo (ver Rodgers, 1997; Rodgers et al., 1997).

Neste sentido, Carobrez e Bertóglia (2005), destacam em seu trabalho as vantagens da análise das medidas etológicas associadas às medidas convencionais, nos testes com roedores no labirinto. Para eles, ainda que os índices convencionais do LCE, para medir a ansiedade, compreendam medidas espaço-temporais de esquiva dos braços abertos (% das entradas e do tempo gasto dentro destes), a avaliação de risco é uma medida comportamental importante que esta relacionada ao medo e a ansiedade (Rodgers et al., 1997).

A função biológica da avaliação de risco é informar estratégias comportamentais em situações potencialmente perigosas (Blanchard et al., 1991 e Blanchard et al., 1993). De fato, é interessante notar que os roedores continuam a indicar comportamentos de avaliação de risco, mesmo após parar de evitar, por exemplo, uma área desprotegida, sugerindo que estas medidas podem mesmo ser mais sensíveis às drogas moduladoras da ansiedade, do que medidas de esquiva convencionais (Rodgers e Cole, 1994, Griebel et al., 1997, Rodgers, 1997 e Setem et al., 1999).

O comportamento defensivo nos mamíferos refere-se a toda ação que reduz as possibilidades de um animal ser prejudicado (McFarland, 1987). As estratégias defensivas abrangem um amplo conjunto de manifestações comportamentais, incluindo as reações aos predadores, a determinadas situações e aos objetos inanimados (Rodgers e Dalvi, 1997). Adaptações defensivas mais sutis, como por exemplo, avaliação de risco e o comportamento de esquiva, além de movimentos rápidos, imobilidade, piloereção e o comportamento defensivo e de ataque, podem ser evocados geralmente em resposta ao perigo proximal (Blanchard e Blanchard, 1989). Deste modo, Rodgers e Johnson (1995) sugerem que sempre sejam analisados comportamentos que envolvam os parâmetros convencionais e etológicos, ao se utilizar o LCE para verificar a ansiedade.

3.5 Serotonina e os receptores 5-HT₃

A serotonina (5-HT) é um neurotransmissor envolvido não só na ansiedade, mas também em outros distúrbios, tais como, depressão, fobias e pânico. Quando este neurotransmissor é mobilizado pode produzir tanto efeitos ansiolíticos, como ansiogênicos, em diferentes modelos animais (Graeff, 1989).

O papel da 5-HT na ansiedade vem sendo investigado, a partir dos estudos envolvendo antagonistas da neurotransmissão serotoninérgica, os quais promoveram efeitos

ansiolíticos comparáveis aos dos benzodiazepínicos em testes de conflito (Graeff e Schoenfeld, 1970). Estes resultados, em conjunto com as observações de que os ansiolíticos benzodiazepínicos diminuíam a atividade dos neurônios serotoninérgicos, favoreceram a proposição da teoria serotoninérgica clássica da ansiedade, a qual atribui um papel ansiogênico para a 5-HT (Stein et al., 1973).

Estudos posteriores mostraram que a própria utilização de drogas serotoninérgicas com potencial ansiolítico parece fortalecer esta hipótese. Por exemplo, antagonistas dos subtipos 5-HT₂ (como a ritanserina e a cetanserina) e 5-HT₃ (como o ondansetron, zacopride e o BRL 46470) promovem efeitos ansiolíticos em vários modelos animais (para revisões, ver Cruz et al, 1995, 1997; Handley e McBlane, 1993) e em ensaios clínicos com humanos (para revisões, ver Graeff et al, 1996; McNair et al, 1982). Estudos neuroquímicos também indicam que a buspirona, primeiro ansiolítico seletivo de ação serotoninérgica introduzido na clínica médica (Ninan et al, 1998), atua preferencialmente nos auto-receptores 5-HT_{1A} nos núcleos da rafe (Hoyer e Martin, 1997). A ativação desses auto-receptores pré-sinápticos diminui a quantidade de 5-HT liberada nos neurônios pós-sinápticos (provavelmente na amígdala e hipocampo). Desta forma, a ação ansiogênica da 5-HT parece ser minimizada sob o efeito dessas drogas.

A despeito dessas evidências, a hipótese serotoninérgica clássica da ansiedade vem sendo revisada, sobretudo em função de resultados provenientes de modelos animais envolvendo microinjeções de drogas diretamente em sítios cerebrais. Assim, tem sido demonstrado que enquanto microinjeções de 5-HT diretamente na amígdala promovem efeitos ansiogênicos (Pesold e Treit, 1995; Menard e Treit, 1999), microinjeções de 5-HT na matéria cinzenta periaquedutal promovem, ao contrário, efeitos ansiolíticos (Deakin e Graeff, 1991; Gonzalez et al, 1996; Graeff et al, 1993). Além disso, muitos resultados inconsistentes têm sido obtidos em diferentes modelos animais desenvolvidos para o teste

destas drogas, dificultando uma análise conclusiva do real papel da 5-HT em relação às estruturas cerebrais que regulam a ansiedade (para revisões, ver Bourin, 1997; Cruz et al, 1997; Griebel, 1995, 1996; Handley e McBlane, 1993; McCreary et al, 1996).

Desta forma, Deakin e Graeff (1991) sugeriram uma via ascendente de 5-HT que se origina do núcleo dorsal da rafe e faz conexão com a amígdala e o córtex frontal, propiciando o medo e a ansiedade condicionada. Outra via sai do núcleo dorsal da rafe periventricular e faz conexão com a matéria cinzenta periaquedutal e periventricular, inibindo reações de luta/fuga a um perigo iminente. Assim, estes autores consideraram que a serotonina apresenta um papel dual na mediação dos diferentes tipos de ansiedade, porque a sua liberação nos neurônios terminais do núcleo dorsal da rafe, aumenta a ansiedade condicionada na amígdala, enquanto que a liberação do núcleo dorsal da rafe, inibe o medo condicionado na matéria cinzenta periaquedutal dorsal.

A neurotransmissão serotoninérgica é bastante complexa, uma vez que existem sete famílias de receptores de serotonina, 5-HT₁₋₇, num total de 14 diferentes subtipos de receptores 5-HT em mamíferos (Bradley et al., 1986; Hoyer et al., 1994). Dentre esses, os que estão mais diretamente envolvidos na ansiedade são os receptores 5-HT_{1A} (Dourish, 1987), 5-HT_{1C} (Kennett et al, 1989), 5-HT₂ (Ceulemans et al, 1985) e 5-HT₃ (Jones et al, 1988).

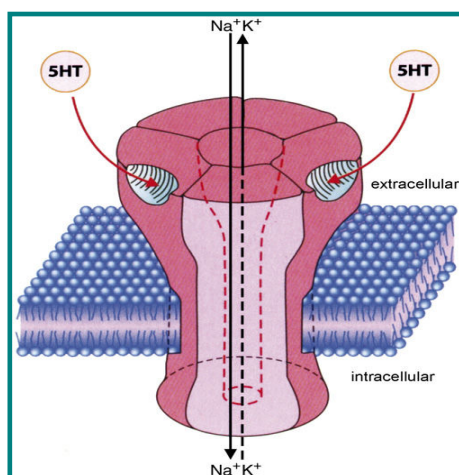
Há muitos relatos na literatura que relacionam a função de receptores 5-HT₃ (Figura 2) com comportamentos de ansiedade (Hensler et al., 2004), e a observação de que o antagonista seletivo de receptores 5-HT₃, o ondansetron (GR38032) (Butler et al. 1988) aumentou a interação social de ratos e elevou a exploração de camundongos dentro do compartimento aversivo na caixa de claro/escuro (Jones et al., 1988), forneceu as primeiras indicações de que os receptores 5-HT₃ podiam modular processos de ansiedade (Higgins et al., 1991). Além disso, pesquisas demonstram que o perfil de ação dos antagonistas de

receptores 5-HT₃ tem se mostrado muito semelhante ao dos benzodiazepínicos (Tyers et al., 1987; Costall et al., 1987; 1988; Jones et al., 1988).

Muitos estudos clínicos têm mostrado a eficácia dos antagonistas de receptores 5-HT₃ no tratamento do Transtorno de Ansiedade Generalizada (Freeman et al., 1997) e nas desordens de pânico (Schneier et al., 1996). O ondansetron, que tem alta afinidade em bloquear os receptores 5-HT₃ (Hoyer e Neijt, 1988; Barnes et al., 1988; Kilpatrick, 1989), é utilizado clinicamente como, antiemético, no tratamento da síndrome de abstinência de drogas de abuso, dor e ansiedade (Costall et al., 1989; Zifa and Fillion, 1992).

Outros estudos pré-clínicos indicaram também que estes antagonistas de receptores 5-HT₃ induzem efeitos ansiolíticos em uma variedade de modelos animais (Jones et al., 1988; Costall e Naylor, 1991, 1992; Barnes et al., 1992; Cutler et al., 1997; Barnes e Sharp, 1999; Olivier et al., 2000), embora estes resultados não sejam consistentes em todos os estudos (File e Johnston, 1989; Rodgers et al., 1997).

Figura 2: Receptor 5-HT₃



Adaptada de Faerber et al., 2007.

No cérebro, a maior densidade de receptores 5-HT₃ foi encontrada na área postrema e no núcleo do trato solitário (Kilpatrick et al., 1989; Pratt e Bowery, 1989) e em menor densidade, mas também significativo, no córtex e na área mesolímbica, como a amígdala, o hipocampo, tubérculo olfatório e núcleo accumbens (Kilpatrick et al., 1987; Waeber et al., 1990; Barnes et al., 1990; Hoyer et al., 1994). Estes receptores de serotonina são os únicos ionotrópicos, fazendo com que as respostas eliciadas por eles sejam mais rápidas que os demais (Greenshaw e Silverstone, 1997).

Possuem estrutura semelhante aos receptores GABA_A e colinérgicos nicotínicos; são constituídos por cinco monômeros unidos a um canal central permeável a pequenos íons, como sódio e potássio (Faerber et al., 2007). Sua ativação mobiliza a fosfolipase C, aumentando a concentração intracelular de cálcio, reforçando sua atividade excitatória neural (Dubin et al., 1999; Millan, 2003).

Estudos anteriores têm demonstrado que injeções na amígdala de uma variedade de antagonistas de receptores 5-HT₃ aumentaram a interação social de ratos, sob condições de luz de alta intensidade, evidenciando um efeito desinibitório destes compostos (Higgins et al., 1991). Além da avaliação dos antagonistas, este estudo examinou os efeitos da serotonina (5-HT) e do 2-Me 5-HT, agonista de receptores 5-HT₃ (Richardson et al., 1985). Os dois compostos reduziram a interação social sem produzir nenhum efeito na locomoção, o que pode indicar um aumento no estado de ansiedade. Estes resultados sugerem que a amígdala está envolvida nos efeitos dos antagonistas de receptores 5-HT₃ (Higgins et al., 1991).

De fato, os receptores 5-HT₃ podem ter um papel interessante nos processos neuroquímicos envolvidos na ansiedade, pois baixas doses de ondansetron, granisetron, tropisetron, MDL72222 e zacopride, todos antagonistas dos receptores 5-HT₃, aumentaram a interação social em ratos sob condições aversivas (Tyers et al., 1987; Costall et al., 1988;

Jones et al., 1988; Piper et al., 1988; Tyers, 1989; Young e Johnson, 1991). Contudo essas propriedades ansiolíticas não foram evidenciadas em todos os testes experimentais, como, por exemplo, no teste de conflito de Vogel (Jones et al., 1988; Tyers et al., 1987). Além disso, altas doses de ondansetron e granisetron exibiram propriedades ansiogênicas (Costall et al., 1988).

Outros relatos da literatura demonstraram que o tratamento agudo e crônico com injeção sistêmica do antagonista dos receptores 5-HT₃, o ondansetron, não produziu efeitos para os comportamentos convencionais e etológicos avaliados em camundongos expostos ao labirinto em cruz elevado. Esta ausência de efeitos ocorreu apesar do uso de diferentes doses de ondansetron (Rodgers et al., 1995; Rodgers et al., 1997).

Segundo Andrews e File (1992), a administração sistêmica de mCPBG, agonista potente e seletivo dos receptores serotoninérgicos do tipo 5-HT₃ (Kilpatrick et al, 1990; Niemeyer and Lummis, 1998), nas doses de 1 e 10 mg/kg (i.p.), produziu efeito ansiogênico em ratos testados no labirinto em cruz elevado. Eguchi et al., (2001), também verificaram que a administração intraperitoneal de mCPBG, nas doses de 3,0 e 10 mg/kg, diminuíram significativamente a interação social de ratos expostos a este teste, enquanto que a dose de 1,0 mg/kg não alterou a interação social desses animais, quando comparado ao grupo controle. Entretanto, a injeção combinada de mCPBG (1,0 mg/kg, i.p.) e ondansetron (1,0 mg/kg, v.o.), promoveu o bloqueio do efeito ansiolítico produzido pelo ondansetron (1,0 mg/kg, v.o.), ou seja, bloqueou o aumento da interação social em ratos Wistar. Estes resultados sugerem que a ativação dos receptores 5-HT₃ pelo agonista pleno, mCPBG, produz aumento da ansiedade no teste de interação social, e este é dependente da dose utilizada (Eguchi et al, 2001).

Na tentativa de esclarecer os efeitos destes agonistas e antagonistas dos receptores 5-HT₃ no SNC, outros estudos têm demonstrado resultados diversos na ansiedade avaliada

no labirinto. Assim, a administração de ondansetron (1,0 e 2,0 µg/0,1µl), no hipocampo ventral (Fachini e Canto-de-Souza, 2006) e na substância cinzenta periaquedutal (3,0 µg/0,1µl) (Silva e Canto-de-Souza, 2009), produziu efeito ansiogênico em camundongos avaliados no LCE. Este efeito ansiogênico obtido com administração de ondansetron no hipocampo ventral, foi revertido pelo mCPBG (10,0 mg/kg, i.p.) (Fachini e Canto-de-Souza, 2007). Entretanto, as injeções de mCPBG na substância cinzenta periaquedutal não produziram efeito (Silva e Canto-de-Souza, 2009).

Portanto, diante dos diversos resultados observados na literatura, permanece indeterminada a ação da serotonina nos receptores 5-HT₃ da amígdala na modulação da ansiedade.

4. OBJETIVOS

Considerando as evidências da literatura descritas acima, e com a finalidade de fortalecer a hipótese de que os receptores 5-HT₃ da amígdala estão envolvidos na modulação da ansiedade, o presente estudo teve por objetivos:

1. Avaliar os efeitos do antagonista de receptores 5-HT₃, o ondansetron, administrado intra-amígdala nas doses de (0,03, 0,3, 1,0, e 3,0 nmol/0,1 µl) ou veículo, em camundongos expostos ao teste do labirinto em cruz elevado.
2. Avaliar os efeitos do agonista de receptores 5-HT₃, o 1(*m*-clorofenil)-biguanida (mCPBG), administrado intra-amígdala, nas doses de (10, 20, 40, 80 e 160 nmol/0,1 µl) ou veículo, em camundongos expostos ao teste do labirinto em cruz elevado.
3. Verificar se a administração combinada intra-amígdala do ondansetron com mCPBG, antagonista e agonista dos receptores 5-HT₃, respectivamente, promove bloqueio do efeito do agonista em camundongos expostos ao teste do labirinto em cruz elevado.

5. MATERIAL E MÉTODOS

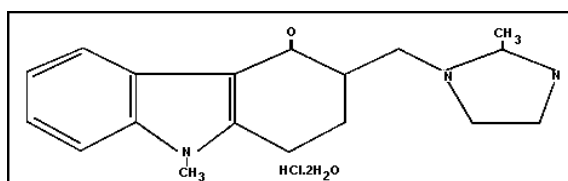
5.1 Sujeitos

Foram utilizados camundongos machos da linhagem Suíços Albino com 5-6 semanas de vida, e pesando entre 25-30g (Universidade Federal de São Carlos-UFSCar). Os animais foram alojados em grupos de 10 por caixa (41 x 34 x 16 cm), mantidos sob condições controladas de temperatura ($24 \pm 1^\circ\text{C}$), umidade ($55 \pm 5\%$), luz (ciclo claro/escuro de 12/12 horas, com luzes acesas às 7:00h e apagadas às 19:00h) com livre acesso à água e comida, exceto durante as breves sessões do teste.

5.2 Drogas

Foi utilizado como antagonista seletivo dos receptores 5-HT₃, o ondansetron (Figura 3) {cloridrato 1,2,3,9 - tetra - hidro - 9 metil 3[(2 metilimidazol - il) metil]}, PM:329,89g (Sigma), nas doses (0,03, 0,3, 1,0, e 3,0 nmol/0,1μl) ou veículo, dissolvidas em veículo [salina (0,9% NaCl), com 2% de Tween 80].

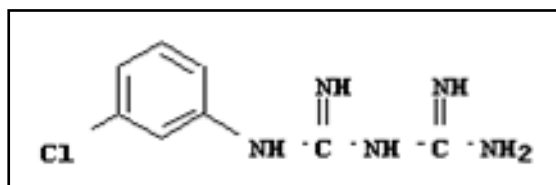
Figura 3: Estrutura química do ondansetron



Retirada de Maranhão et al., 1996.

Como agonista seletivo dos receptores 5-HT₃, foi utilizado o mCPBG (Figura 4), 1(*m*-clorofenil)-biguanida (mCPBG), [1- (3-clorofenil)biguanida hidrocloreídrica], PM: 248,11g (Sigma), nas doses (10, 20, 40, 80 e 160 nmol/0,1μl) ou veículo, dissolvidas em veículo [salina (0,9% NaCl), com 2% de Tween 80].

Figura 4: Estrutura química do mCPBG



Retirada do site: <http://www.whatislife.com/reader/anaesthetics/agonist>

Na injeção combinada foram utilizados ondansetron (0,03 nmol/0,1µl) e mCPBG (10 nmol/0,1µl). As doses utilizadas foram baseadas em estudos piloto realizados em nosso laboratório e estudos descritos na literatura (Marucci e Canto-de-Souza, 2006a, 2006b). Todo o tratamento foi realizado na forma de códigos e o experimentador somente teve conhecimento dos mesmos ao final da análise comportamental.

5.3 Cirurgia e microinjeção

Os camundongos passaram por implante bilateral de duas cânulas-guia (25 gauge) de 7 mm de comprimento cada, sob anestesia (i.p.) de uma solução de xilazina (0.004g/0.18 mL) com cetamina (0.05g/0.4mL), de acordo com as coordenadas estereotáticas do atlas de Paxinos e Franklin (2001): -0,8mm antero-posterior, ±2,7 mm lateral, e -2,0 mm ventral à superfície craniana (bregma). As duas cânulas foram fixadas com cimento acrílico autopolimerizante clássico (JET) e seladas com mandris para a proteção das mesmas e redução da contaminação dos animais, até a realização da exposição com injeção de drogas. Em seguida os sujeitos passaram por um período de 4 a 5 dias de recuperação com água [(foi adicionado analgésico, paracetamol (200mg/mL)] e comida à vontade.

Após esse período, após a remoção de cada mandril, as agulhas de injeção (33-gauge) foram inseridas dentro de cada cânula-guia para a injeção das soluções na amígdala, sendo que o comprimento de cada agulha ultrapassava em 2.0 mm a ponta de cada cânula-

guia. As agulhas de injeção foram conectadas, por meio de tubos de polietileno (PE-10), e estes acoplados a duas seringas Hamilton de 10 µl. A bomba de infusão (Insight BI 2000 – Equipamentos Científicos Ltda, Brasil) foi programada para injetar 0,1 µl de solução (0,1 µl em cada hemisfério da amígdala) durante um período de 60 segundos.

O procedimento de microinjeção consistiu na remoção dos mandris, inserção das agulhas de injeção, injeção da solução por 60 segundos, permanência das agulhas de injeção por 90 segundos após o término da injeção e inserção dos mandris enquanto o animal era contido gentilmente pelo experimentador, manualmente. O movimento de uma pequena bolha de ar no tubo de polietileno antes, durante e depois da injeção confirmou o fluxo da solução (Nunes-de-Souza et al, 2000).

5.4 Aparato e procedimento geral

O labirinto em cruz elevado (LCE) consiste de dois braços abertos (30 x 5 x 0.25 cm) unidos ortogonalmente a dois braços fechados (30 x 5 x 15 cm) com vidro transparente, elevados a 38,5 cm do solo por um suporte de madeira (Foto 1) (modificado de Lister, 1987).

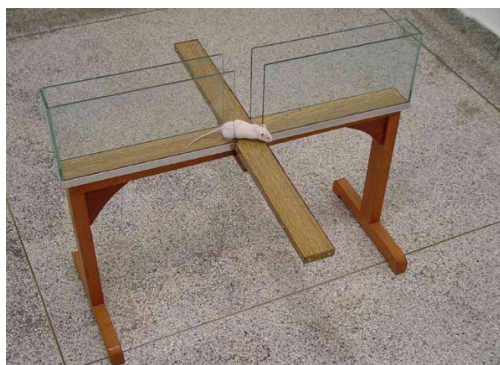


Foto 1: Labirinto em cruz elevado

Após o período de recuperação, os camundongos foram transportados para a sala experimental onde permaneceram 30 minutos sem perturbação antes do teste. Os testes foram conduzidos durante a fase clara do ciclo de luz entre 8:00 e 16:00 horas.

5.5 Delineamento experimental

5.5.1 Experimento 1: Microinjeção intra-amídala de ondansetron

Os animais receberam microinjeção intra-amídala de veículo ou ondansetron (0,03, 0,3, 1,0, e 3,0 nmol/0,1 µl), conforme descrito acima, e após 5 minutos foram submetidos ao LCE.

5.5.2 Experimento 2: Microinjeção intra-amídala de mCPBG

Os animais receberam microinjeção intra-amídala de veículo ou mCPBG (10, 20, 40, 80 e 160 nmol/0,1 µl) e após 5 minutos foram submetidos ao LCE.

5.5.3 Experimento 3: Microinjeção combinada intra-amídala de ondansetron e mCPBG

Os animais receberam microinjeção intra-amídala de uma dose sem efeito de ondansetron (0,03 nmol/0,1µl ou veículo) e após 5 minutos, microinjeção de uma dose com efeito de mCPBG (10 nmol/0,1µl ou veículo) na mesma estrutura, e 5 minutos após a segunda microinjeção, os animais foram submetidos ao LCE. Os grupos formados neste experimento foram: veículo + veículo (V + V), veículo + mCPBG (V + mCPBG), ondansetron + veículo (OND + V) e ondansetron + mCPBG (OND + mCPBG).

Depois das respectivas injeções centrais, os animais foram colocados individualmente sobre a plataforma central do LCE com a cabeça voltada para um dos braços abertos e puderam explorar o labirinto por um período de 5 minutos. Em ambos os

experimentos, as sessões de teste duraram 5 minutos, e entre um sujeito e outro, o labirinto foi limpo com álcool 20% e seco com papel toalha. Todas as sessões foram gravadas por uma câmera conectada a um monitor e a um videocassete localizado em uma sala adjacente a sala de teste.

5.6 Análise comportamental

Os comportamentos foram avaliados pela análise das fitas gravadas, por um observador treinado, usando um programa de análise etológica (X-plorat, versão 3.0) (Garcia et al., 2005). Os comportamentos analisados envolveram tanto os parâmetros convencionais (Lister, 1987), quanto os etológicos (avaliação de risco) (Foto 2) (Rodgers e Johnson, 1995). As medidas convencionais compreenderam as frequências do total de entradas nos braços abertos e fechados (a entrada em um braço é definida pelo cruzamento com todas as quatro patas para dentro do braço) e duração do tempo gasto nestes compartimentos e na plataforma central. Estas medidas foram usadas para o cálculo da porcentagem de entradas e do tempo de permanência dos animais nos braços abertos [Entradas: (aberto/ total) x 100; Tempo (tempo no compartimento/300) x 100].

As medidas etológicas compreenderam a frequência e duração de levantamentos (elevação do corpo sobre as patas traseiras), mergulhar a cabeça (head-dipping - frequência de movimentos exploratórios da cabeça/ombros em direção ao solo), posturas de esticar o corpo [stretched attend postures (SAP)] - frequência de esticar o corpo e retrai-lo à posição original, sem a ocorrência de locomoção) e imobilidade (ausência de atividade locomotora nos membros dianteiros/traseiros e corpo, exceto movimentação respiratória). Como os sinais de tigmotaxia são importantes para a exploração no LCE (Treit et al., 1993), os comportamentos de mergulhar a cabeça e esticar o corpo foram diferenciados quanto ao local de sua ocorrência no labirinto. Os braços fechados e a plataforma central são

normalmente designados como áreas “protegidas” do labirinto e os dados coletados nestes compartimentos foram mostrados no total e como porcentagem ($[\text{protegido} / \text{total}] \times 100$) de cada comportamento.

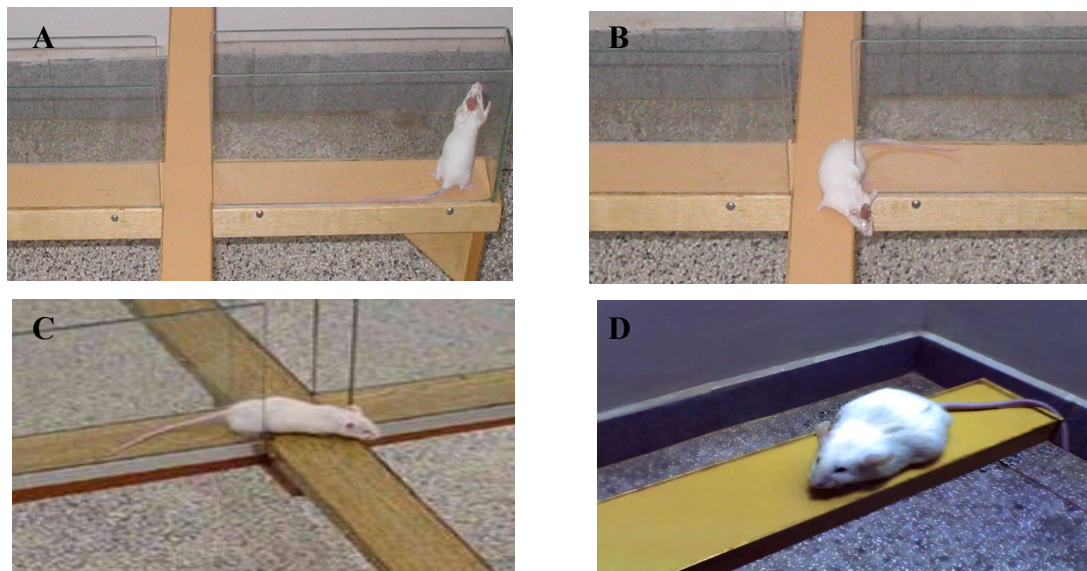


Foto 2: Medidas etológicas de camundongos durante a exposição ao LCE. **(A)** levantamentos protegidos; **(B)** mergulhos protegidos; **(C)** posturas de esticar o corpo na área protegida; **(D)** imobilidade desprotegida (fotos copiadas de Reis e Canto-de-Souza, 2006).

5.7 Histologia

Após o término dos experimentos todos os animais receberam injeção bilateral de 0,1 μl de uma solução de 1% de azul de metileno na amígdala, de acordo com o procedimento descrito para a injeção de drogas. Posteriormente, os animais foram profundamente anestesiados com xilazina e cetamina (200 mg/kg, i.p.), e em seguida decapitados, seus encéfalos removidos e acomodados em recipientes contendo solução de formalina (10%). Após um período de no mínimo 7 dias, utilizando o micrótomo (criostato ANCAP 300), os encéfalos sofreram secções coronais de 70 micrômetros (μm) ao longo do trajeto da cânula. As secções foram inspecionadas com o uso de um microscópio (Olympus

B202) e a visualização da dispersão do azul de metileno indicou o local da injeção. Os animais cujas injeções não atingiram a amígdala bilateralmente foram excluídos do estudo.

5.8 Análise estatística

Todos os resultados foram submetidos a uma análise inicial para avaliar a homogeneidade dos grupos (Teste de Levene), quando necessário, os dados foram transformados em log10, raiz quadrada ou raiz cúbica. Posteriormente, os dados dos experimentos 1 e 2, foram submetidos à análise de variância (ANOVA) de um fator (tratamento), e os dados do experimento 3, foram submetidos à análise de variância de dois fatores (fator 1: pré-tratamento x fator 2: tratamento). Quando os valores de F foram significativos as análises foram seguidas pelo teste de comparações múltiplas de Duncan. Em todos os casos, os valores de p inferiores ou iguais a 0,05 foram considerados significativos.

5.9 Ética

Os experimentos realizados neste estudo estiveram de acordo com as recomendações da Sociedade Brasileira de Neurociência e Comportamento (SBNeC) que é, por sua vez, baseada na US National Institutes of Health Guide for Care and Use of Laboratory Animals. Esse estudo foi aprovado pelo comitê de ética de experimentação animal da Universidade Federal de São Carlos (Res. 051/2008).

6. RESULTADOS

A análise histológica confirmou um total de 145 camundongos com canulação bilateral positiva na amígdala (Figura 5).

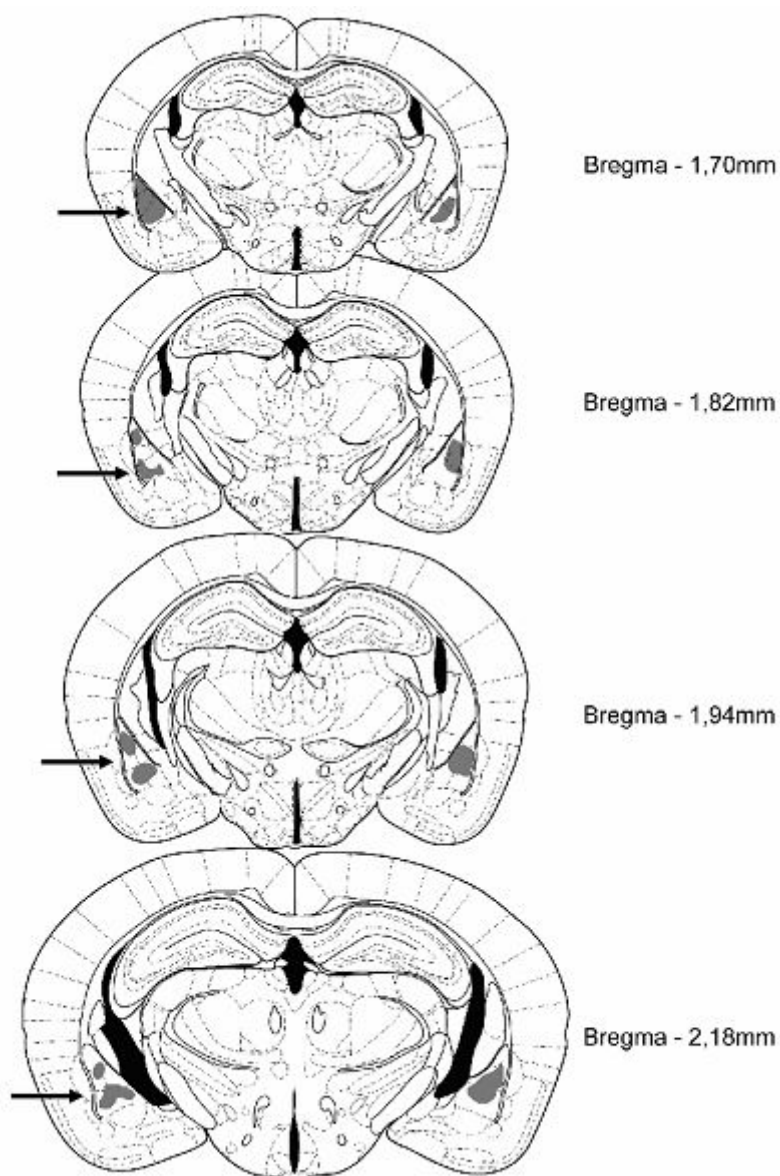


Figura 5. Representação esquemática dos sítios de microinjeção na amígdala (setas) de camundongos (Paxinos e Franklin, 2001).

Cinquenta e um camundongos foram usados para investigar os efeitos da microinjeção na amígdala de ondansetron [Experimento 1: veículo (n = 12), ondansetron 0,03 nmol (n = 11), 0,3 nmol (n = 8), 1,0 nmol (n = 9) e 3,0 nmol (n = 11)] sob os

comportamentos de ansiedade no LCE; cinquenta e seis animais foram utilizados para investigar os efeitos da injeção intra-amídala de mCPBG [Experimento 2: veículo (n = 10), mCPBG 10 nmol (n = 10), 20 nmol (n = 10), 40 nmol (n = 9), 80 nmol (n = 10), 160 nmol (n = 7)] nos comportamentos de ansiedade no LCE, e trinta e oito camundongos foram usados para avaliar o efeito da injeção combinada de ondansetron e mCPBG [Experimento 3: veículo + veículo (V + V, n = 10), veículo + mCPBG 10 nmol (V + mCPBG, n = 10), ondansetron 0,03 nmol + veículo (OND + V, n = 10), ondansetron 0,03 nmol + mCPBG 10 nmol (OND + mCPBG, n = 8)] sob os comportamentos no LCE.

6.1 Efeito ansiolítico da microinjeção de ondansetron na amídala de camundongos expostos ao LCE

A análise de variância (ANOVA) mostrou efeito significativo do ondansetron intra-amídala para a porcentagem de tempo gasto nos braços abertos ($F_{(4,46)} = 3,19$, $p < 0,05$). O teste de Duncan mostrou que ocorreu aumento deste comportamento nas seguintes doses, 0,3, 1,0 e 3,0 nmol de ondansetron. A ANOVA não revelou diferença significativa na porcentagem de entradas nos braços abertos ($F_{(4,46)} = 2,21$, $p > 0,05$), o teste de *post hoc* mostrou que a dose de 0,3 nmol aumentou esta medida de ansiedade ($p < 0,05$). Além disso, o *post hoc* revelou que a menor dose de ondansetron (0,03 nmol) intra-amídala não produziu efeito sobre os índices convencionais de ansiedade. Nenhuma das doses de ondansetron alterou a atividade locomotora dos camundongos avaliados no LCE ($F_{(4,46)} = 0,73$, $p > 0,05$) (Figura 6).

Em relação aos outros comportamentos, a ANOVA revelou efeito significativo para a porcentagem de esticadas protegidas ($F_{(4,46)} = 4,87$, $p < 0,01$) e total de levantamentos ($F_{(4,46)} = 3,33$, $p < 0,05$). O teste de Duncan mostrou diminuição da porcentagem de

esticadas protegidas ($p < 0,05$) para as doses 0,03, 0,3, e 3,0 nmol, e o total de levantamentos para a dose 0,3 nmol de ondansetron ($p < 0,05$).

A ANOVA não revelou diferença no total de entradas nos braços abertos ($F_{(4,46)} = 2,52$, $p > 0,05$), e o teste de *post hoc* mostrou um aumento significativo para a dose de 0,3 nmol de ondansetron ($p < 0,05$). Nenhum dos outros comportamentos apresentou diferença significativa ($F_{(4,46)} \leq 2,55$, $p > 0,05$) (tabela 4).

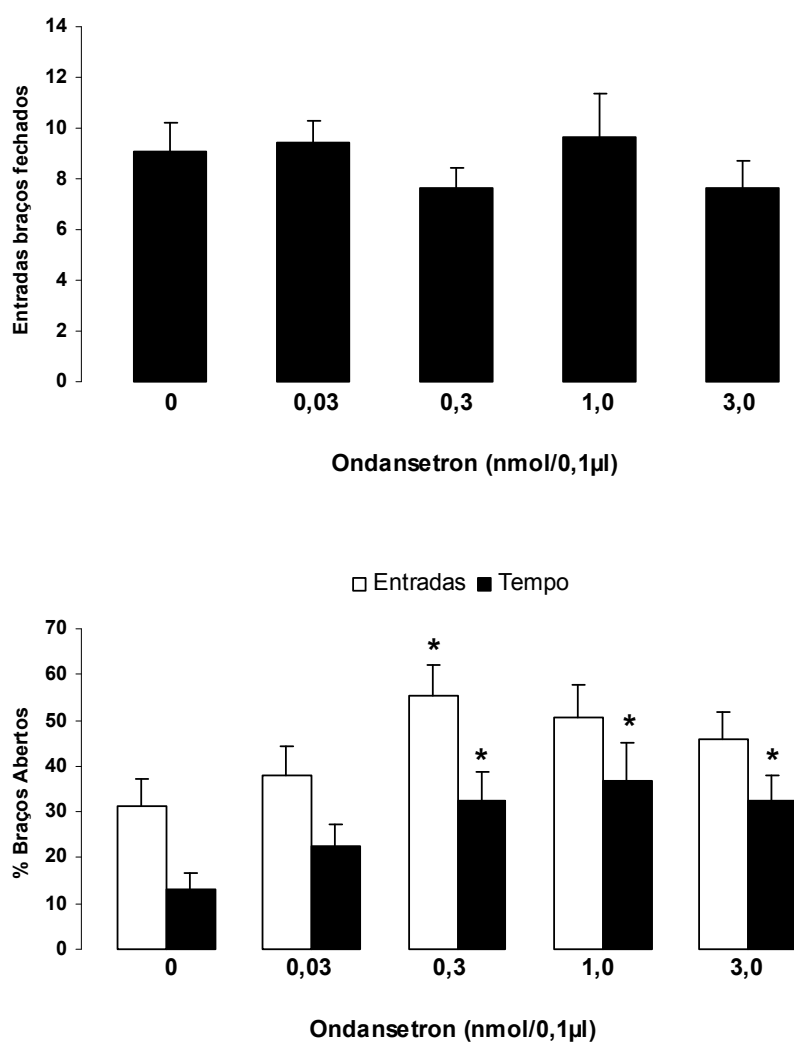


Figura 6: Efeito do ondansetron (0, 0,03, 0,3, 1,0 e 3,0 nmol/0,1μl) intra-amídala de camundongos sobre a freqüência de entradas nos braços fechados e a porcentagem de entradas e de tempo gasto nos braços abertos do LCE. Os dados representam as médias (M) + erro padrão da média (E.P.M). $n = 8 - 12$.

* $p < 0,05$, comparado ao veículo (ANOVA de uma via seguida do teste de Duncan).

Tabela 4: Efeito da microinjeção de ondansetron (0, 0,03, 0,3, 1,0 e 3,0 nmol/0,1 µl) na amígdala de camundongos avaliados no LCE.

Comportamentos	Ondansetron (nmol/0,1µl)					
	0	0,03	0,3	1,0	3,0	F _(4,46)
Total Entradas	13,8 ± 1,8	16,1 ± 1,2	19,5 ± 3,6	19,6 ± 3,0	15,0 ± 1,9	1,32, NS
Entradas nos BAs	4,8 ± 1,1	6,6 ± 1,3	11,9 ± 3,0	9,9 ± 2,1	7,4 ± 1,3	2,52, NS
% Tempo nos BFs	49,7 ± 6,5	46,8 ± 4,4	38,9 ± 4,8	36,4 ± 5,0	37,9 ± 7,2	1,04, NS
% Tempo no centro	37,3 ± 6,2	30,7 ± 2,2	28,8 ± 4,4	26,8 ± 4,5	29,5 ± 3,4	0,86, NS
Total mergulhos	25,6 ± 4,6	17,0 ± 4,8	23,2 ± 5,2	38,0 ± 4,7	31,1 ± 5,1	2,55, NS
% Mergulhos protegidos	65,8 ± 6,2	48,9 ± 7,5	34,7 ± 7,3	40,7 ± 11,3	48,1 ± 8,3	2,09, NS
Total Esticadas	44,9 ± 4,6	33,4 ± 3,1	31,0 ± 4,4	29,1 ± 6,3	40,5 ± 5,5	1,93, NS
% Esticadas Protegidas	81,1 ± 4,4	39,6 ± 6,0*	57,4 ± 9,2*	63,1 ± 9,2	56,1 ± 7,8*	4,87, p<0,05
Total Levantamentos	20,3 ± 3,3	12,2 ± 3,8	8,9 ± 2,7*	24,8 ± 4,3	12,0 ± 2,9	3,33, p<0,05
Total Imobilidade	15,8 ± 6,7	18,2 ± 12,2	25,0 ± 16,4	10,7 ± 7,4	22,2 ± 13,4	0,21, NS

Os valores representam as médias e o erro padrão da média (M+EPM) dos demais comportamentos avaliados no LCE. BAs = braços abertos; BFs = braços fechados; NS = Não Significativo; $n = 8 - 12$.

* $p < 0,05$, comparado ao veículo (ANOVA de uma via seguida do teste de Duncan).

6.2 Efeito ansiogênico da microinjeção de mCPBG na amígdala de camundongos expostos ao LCE

A ANOVA de uma via revelou que o mCPBG alterou de maneira significativa o total de entradas ($F_{(5,50)} = 2,84$, $p < 0,05$) e entradas nos braços abertos ($F_{(5,50)} = 4,08$, $p < 0,01$), e o teste de *post hoc* mostrou que a dose de 80 nmol aumentou estes comportamentos. A ANOVA de uma via também revelou que o mCPBG alterou a porcentagem de entradas nos braços abertos ($F_{(5,50)} = 3,73$, $p < 0,01$), e o teste de *post hoc* mostrou que as doses de 10 e 20 nmol diminuíram este comportamento. A ANOVA revelou ainda diferença significativa na porcentagem de tempo gasto nos braços abertos ($F_{(5,50)} = 2,40$, $p < 0,05$), mas este efeito não foi confirmado após o teste de Duncan ($p > 0,05$). As entradas nos braços fechados não foram alteradas ($F_{(5,50)} = 1,20$, $p > 0,05$) (Figura 7). Em relação aos outros comportamentos, a ANOVA de uma via mostrou que houve diferença significativa para a porcentagem de tempo gasto nos braços fechados ($F_{(5,50)} = 3,65$, $p < 0,01$), e o teste de *post hoc* revelou que as doses de 10 e 20 nmol de mCPBG

aumentaram esta medida de ansiedade. O teste de Duncan revelou que o mCPBG nas doses de 10, 40 e 80 nmol aumentou a porcentagem de esticadas protegidas ($F_{(5,50)} = 2,53$, $p < 0,05$). Nenhuma das doses deste agonista alterou a atividade locomotora, exceto a dose de 20 nmol que aumentou o total de imobilidade ($F_{(4,44)} = 4,02$, $p < 0,01$). Nenhum dos outros comportamentos foi significativamente alterado ($F_{(5,50)} \leq 6,05$, $p > 0,05$) (tabela 5).

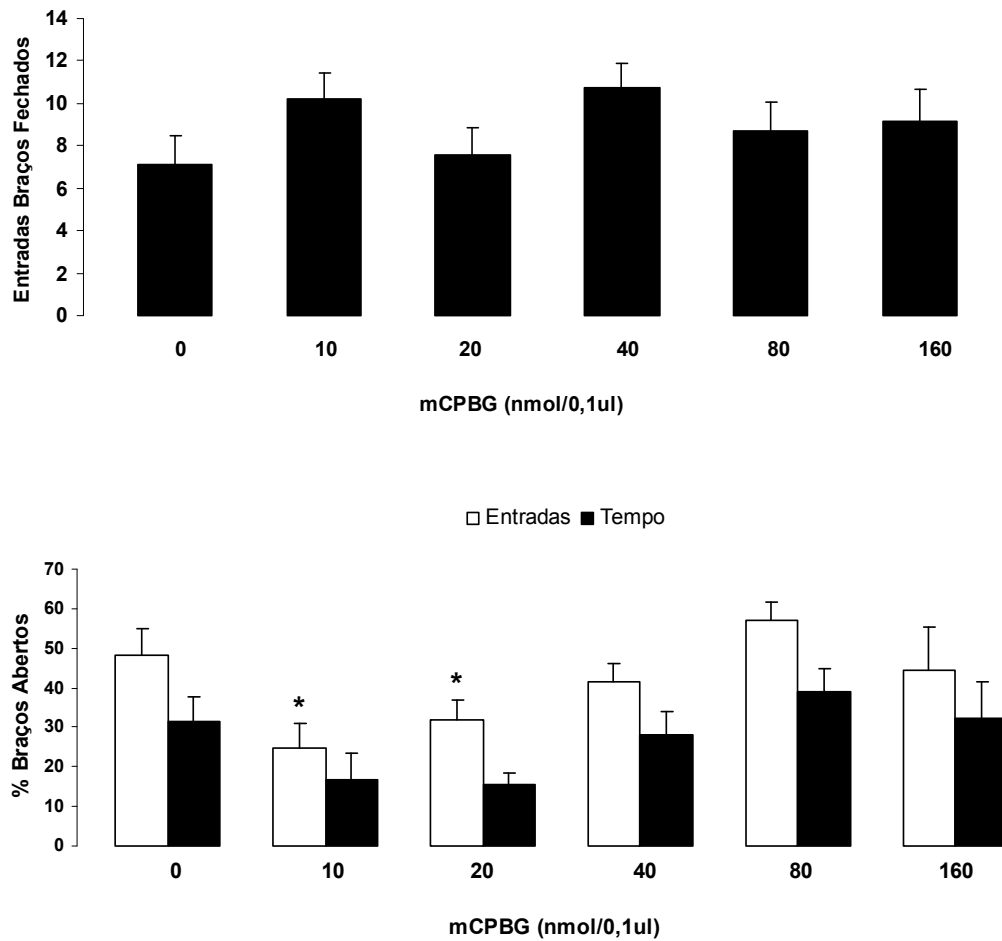


Figura 7. Efeito do mCPBG (0, 10, 20, 40, 80 e 160 nmol/0,1ul) intra-amídala de camundongos sobre a freqüência de entradas nos braços fechados e a porcentagem de entradas e de tempo gasto nos braços abertos do LCE. Os dados representam as médias (M) + erro padrão da média (E.P.M.). $n = 9 - 10$.

* $p < 0,05$ comparado ao grupo veículo (ANOVA de uma via seguida do teste de Duncan).

Tabela 5: Efeito da microinjeção de mCPBG (0, 10, 20, 40, 80 e 160 nmol/0,1 µl) na amígdala de camundongos avaliados no LCE.

Comportamentos	mCPBG (nmol/0,1µl)						F _(5,50)
	0	10	20	40	80	160	
Total Entradas	13,3 ± 1,9	14,3 ± 1,9	11,5 ± 1,7	18,9 ± 2,0	20,9 ± 2,8*	18,4 ± 3,0	2,84, p<0,05
Entradas nos BAs	6,2 ± 1,4	4,1 ± 1,2	3,9 ± 0,7	8,1 ± 1,5	12,2 ± 2,0*	9,3 ± 3,0	4,08, p<0,05
% Tempo nos BFs	34,4 ± 5,7	58,2 ± 6,3*	53,0 ± 7,3*	46,6 ± 2,8	31,8 ± 4,0	38,3 ± 6,5	3,65, p<0,05
% Tempo no centro	34,3 ± 8,3	24,9 ± 3,5	31,6 ± 7,0	25,4 ± 4,0	29,1 ± 2,8	29,5 ± 6,1	0,51, NS
Total mergulhos	48,7 ± 9,3	29,4 ± 5,3	34,1 ± 9,7	51,7 ± 7,3	53,3 ± 7,7	57,1 ± 11,0	1,78, NS
% Mergulhos protegidos	28,6 ± 7,1	53,0 ± 10,5	41,7 ± 9,5	39,7 ± 10,3	23,8 ± 5,4	39,2 ± 10,9	1,41, NS
Total Esticadas	36,6 ± 8,5	42,3 ± 3,8	15,1 ± 3,8	31,0 ± 4,8	34,7 ± 6,3	32,4 ± 6,9	2,27, NS
% Esticadas Protegidas	50,1 ± 11,9	87,3 ± 4,7*	70,7 ± 10,8	73,9 ± 5,8*	64,2 ± 6,2*	83,9 ± 5,8	2,53, p<0,05
Total Levantamentos	12,3 ± 2,9	19,2 ± 2,4	6,4 ± 2,3	19,8 ± 4,2	17,2 ± 4,0	11,9 ± 2,6	2,72, NS
Total Imobilidade	17,5 ± 14,6	35,9 ± 13,9	124,8 ± 34,5*	22,8 ± 11,5	33,0 ± 24,6	12,1 ± 6,7	4,02, p<0,05

Os valores representam as médias e o erro padrão da média (M±EPM) dos demais comportamentos avaliados no LCE. BAs = braços abertos; BFs = braços fechados; NS = Não Significativo; n = 9 - 10.

*p < 0,05, comparado ao grupo veículo (ANOVA de uma via seguida do teste de Duncan).

6.3 Bloqueio do efeito ansiogênico do mCPBG (10 nmol) pelo pré-tratamento com ondansetron (0,03 nmol) intra-amígdala em camundongos expostos ao LCE

A ANOVA de dois fatores mostrou efeito significativo do mCPBG para a porcentagem de entradas ($F_{(1,34)} = 14,4$, $p < 0,001$) e de tempo gasto nos braços abertos ($F_{(1,34)} = 20,2$, $p < 0,001$), total de entradas ($F_{(1,34)} = 9,0$, $p < 0,01$), entradas nos braços abertos ($F_{(1,34)} = 14,7$, $p < 0,001$), total de mergulhos ($F_{(1,34)} = 10,5$, $p < 0,01$), total de esticadas ($F_{(1,34)} = 68,2$, $p < 0,001$), porcentagem de mergulhos protegidos ($F_{(1,34)} = 21,6$, $p < 0,001$), e interação entre o pré-tratamento x tratamento para a porcentagem de entradas nos braços abertos ($F_{(1,34)} = 4,8$, $p < 0,05$), tempo gasto nos braços fechados ($F_{(1,34)} = 5,7$, $p < 0,05$) e total de esticadas ($F_{(1,34)} = 6,1$, $p < 0,05$).

Comparações de *post hoc* mostraram que o tratamento com veículo e mCPBG (V + mCPBG 10 nmol) intra-amígdala diminuiu a porcentagem de entradas ($p < 0,001$) e de tempo gasto nos braços abertos ($p < 0,001$), total de entradas ($p < 0,01$), entradas nos braços abertos ($p < 0,001$) e total de mergulhos ($p < 0,01$), enquanto aumentou a

porcentagem de mergulhos protegidos ($p < 0,001$) e o total de esticadas ($p < 0,05$). A ANOVA não mostrou efeito significativo para a porcentagem de tempo gasto nos braços fechados ($F_{(1,34)} = 3,0$, $p = 0,09$), o teste de Duncan mostrou aumento significativo para este comportamento e, além disso, ocorreu efeito da interação entre pré-tratamento x tratamento. É importante salientar que nenhum dos comportamentos, incluindo as medidas convencionais e etológicas de ansiedade, foi alterado pelo tratamento com ondansetron per se ($F_{(1,34)} \leq 1,4$, $p > 0,05$).

O pré-tratamento com ondansetron e mCPBG (OND 0,03 nmol + mCPBG 10 nmol) intra-amídala significativamente aumentou a porcentagem de entradas nos braços abertos ($F_{(1,34)} = 7,3$, $p < 0,05$) e diminuiu a porcentagem de mergulhos ($F_{(1,34)} = 8,1$, $p < 0,01$), e esticadas protegidas ($F_{(1,34)} = 5,3$, $p < 0,05$), em relação ao grupo tratado com veículo e mCPBG (V + mCPBG 10 nmol), mostrando que o tratamento prévio com ondansetron bloqueou o efeito ansiogênico do mCPBG intra-amídala ($p < 0,05$). Outros comportamentos tais como, o tempo gasto nos braços abertos ($F_{(1,34)} = 2,4$, $p > 0,05$) e o total de esticadas ($F_{(1,34)} = 3,5$, $p = 0,07$) não apresentaram efeito significativo na ANOVA, e no teste de *post hoc* verificou-se aumento desses comportamentos (Figura 8; Tabela 6).

Nenhuma alteração foi registrada para as entradas nos braços fechados em relação ao pré-tratamento com ondansetron ($F_{(1,34)} = 1,2$, $p > 0,05$), tratamento com mCPBG ($F_{(1,34)} = 0,2$, $p > 0,05$) e interação entre pré-tratamento x tratamento ($F_{(1,34)} = 0,7$, $p > 0,05$) (Figura 4). Os outros comportamentos não foram alterados ($F_{(1,34)} \leq 1,46$, $p > 0,05$) (Tabela 6).

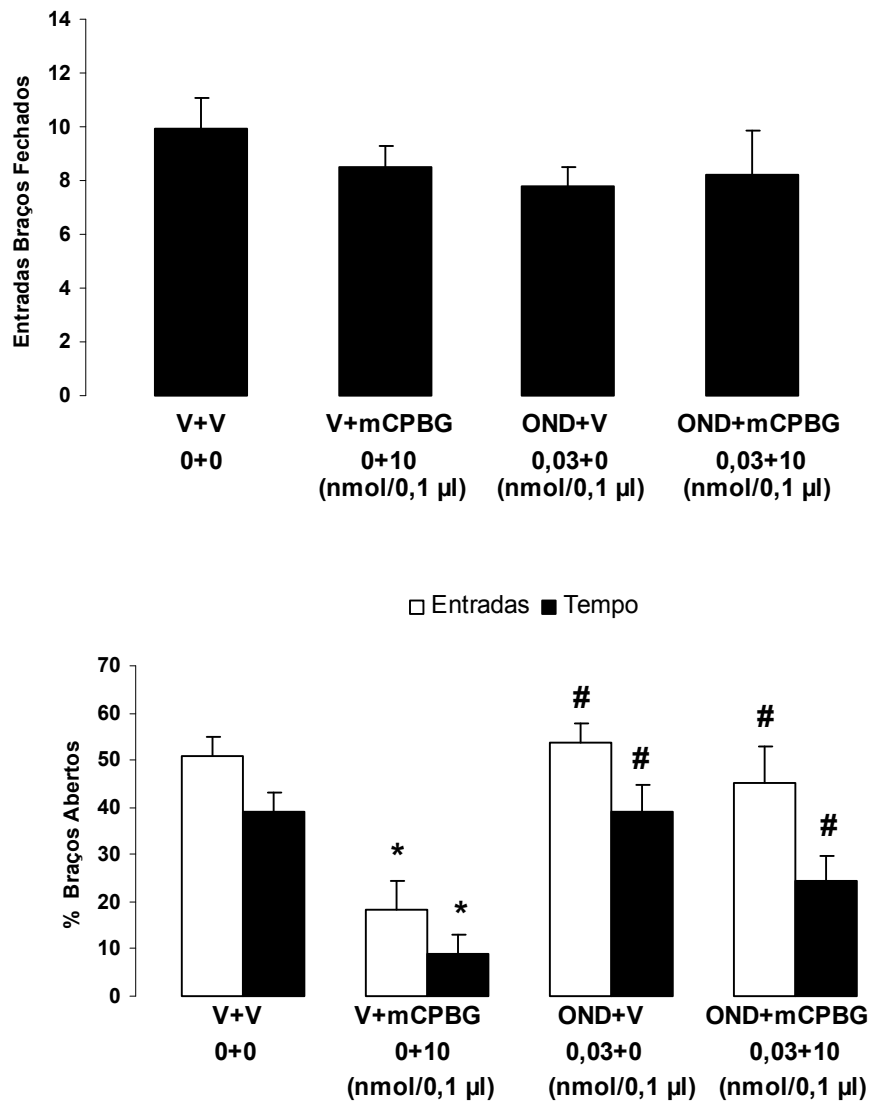


Figura 8. Efeito da microinjeção combinada de Ondansetron (0 ou 0,03 nmol) e mCPBG (0 ou 10 nmol) intra-amídala de camundongos sobre a frequência de entradas nos braços fechados e a porcentagem de entradas e de tempo gasto nos braços abertos do LCE. Os dados representam as médias (M) + erro padrão da média (E.P.M.). $n = 8 - 10$.

* $p < 0,05$, comparado ao grupo controle (V+V) (ANOVA de duas vias seguida do teste de Duncan).

$p < 0,05$, comparado ao grupo veículo + mCPBG (V + mCPBG) (ANOVA de duas vias seguida do teste de Duncan).

Tabela 6: Efeito da injeção combinada de mCPBG (10 nmol/ 0,1µl) e ondansetron (0,03 nmol/0,1µl) na amígdala de camundongos expostos ao LCE.

Comportamentos	V+V	V+mCPBG	OND+V	OND+mCPBG
	0+0 (n=10)	0+10 (n=10)	0,03+0 (n=10)	0,03+10 (n=8)
Total Entradas	21,5 ± 2,5	11,5 ± 1,9*	18,8 ± 2,7	14,5 ± 2,3
Entradas nos BAs	11,6 ± 1,8	3,0 ± 1,3*	11,0 ± 2,1	6,3 ± 1,3
% Tempo nos BFs	37,5 ± 3,8	64,8 ± 7,4*	41,2 ± 7,1	36,8 ± 7,8
% Tempo no centro	23,6 ± 2,5	26,1 ± 4,0	19,9 ± 3,3	38,9 ± 7,8
Total mergulhos	63,9 ± 7,3	27,0 ± 6,9*	59,3 ± 8,8	45,5 ± 7,9
% Mergulhos protegidos	30,2 ± 5,0	76,5 ± 7,4*	23,1 ± 7,1	43,1 ± 9,0#
Total Esticadas	18,6 ± 3,2	40,7 ± 3,1*	16,3 ± 3,0	57,3 ± 6,1*#
% Esticadas Protegidas	76,4 ± 6,5	95,5 ± 2,8	69,9 ± 9,0	71,3 ± 6,3#
Total Levantamentos	21,7 ± 3,2	15,1 ± 2,1	16,7 ± 2,0	13,3 ± 4,0
Total Imobilidade	12,1 ± 9,4	23,4 ± 6,9	27,1 ± 18,6	2,4 ± 1,7

Os valores representam as médias e o erro padrão da média (M+EPM) dos demais comportamentos avaliados no LCE. BAs = braços abertos; BFs = braços fechados; NS = Não Significativo; $n = 8 - 10$.

* $p < 0,05$, comparado ao grupo controle (V+V) (ANOVA de duas vias seguida do teste de Duncan).

$p < 0,05$, comparado ao grupo veículo + mCPBG (V + mCPBG) (ANOVA de duas vias seguida do teste de Duncan).

7. DISCUSSÃO

Nesse estudo, injeções intra-amídala de ondansetron e mCPBG, antagonista e agonista dos receptores 5-HT₃, respectivamente, produziram efeito ansiolítico e ansiogênico em camundongos avaliados no LCE. Este efeito ansiogênico foi bloqueado pela administração prévia do antagonista ondansetron, sugerindo, o envolvimento dos subtipos de receptores serotoninérgicos 5-HT₃, localizados na amídala, na modulação de respostas relacionadas à ansiedade.

A serotonina foi primeiramente descrita como facilitadora das respostas de ansiedade, entretanto, atualmente sabe-se do papel dual desempenhado por esse neurotransmissor, uma vez que sua ativação pode resultar tanto em respostas ansiolíticas como ansiogênicas dependendo do sítio pós-sináptico e do subtipo de receptor envolvido (Deakin e Graeff, 1991, Graeff et al., 1997), e isso não é surpresa, dada a variedade de receptores serotoninérgicos existentes (Barnes e Sharp, 1999; Menard e Treit, 1999). Assim, diversos efeitos comportamentais podem ser observados a partir da administração de ligantes serotoninérgicos em sítios cerebrais específicos, tais como amídala, hipocampo, substância cinzenta periaquedutal entre outras (Goodwin e Green, 1985; Menard e Treit, 1999).

Vários estudos têm demonstrado que a administração de fármacos pode ativar ou bloquear os receptores 5-HT₃, o que fortalece o envolvimento desses receptores na modulação de psicopatologias como depressão e ansiedade (Greenshaw, 1993; Olivier et al., 2000; Hensler et al., 2004; Barnes et al., 2009).

Neste sentido, trabalhos anteriores têm demonstrado que a administração sistêmica dos antagonistas dos receptores 5-HT₃, como BRL43964, GR38032F e zacopride, não produziram efeito em ratos expostos ao LCE (File e Johnston, 1989; Eguchi et al., 2001). Outros antagonistas como ICS 205-930, MDL 72222, GR 65630 e zacopride quando

infundidos no núcleo mediano da rafe, dorsal da rafe e amígdala de ratos e camundongos apresentaram efeito ansiolítico nos testes de claro-escuro, interação social e LCE (Costall et al., 1989b; Barnes et al., 1990; Higgins et al., 1991).

Neste sentido, os resultados encontrados no nosso trabalho, com administração de ondansetron, foram semelhantes aqueles descritos na literatura com o próprio ondansetron e com outros antagonistas tais como, bemesetron, granisetron e RS-42358-197 (Costall et al., 1993), em ratos e camundongos avaliados no LCE. Administrações de ondansetron e tropisetron no núcleo accumbens de ratos, promoveram aumento das entradas e permanência no centro do campo aberto, enquanto no hipocampo dorsal, produziram aumento do beber punido (Stefanski et al., 1993). A administração desses antagonistas na amígdala, produziu efeito ansiolítico em ratos avaliados tanto no teste de interação social (Higgins et al., 1991), como no labirinto em cruz elevado (Barnes et al., 1990).

Ao lado das medidas convencionais, as medidas etológicas, tais como, posturas de esticar o corpo e mergulhar a cabeça, têm sido utilizadas para fornecer dados de avaliação de risco no labirinto (Griebel et al., 1997). Os resultados deste trabalho mostram que o ondansetron intra-amígdala nas doses de 0,03, 0,3 e 3,0 nmol, promoveu diminuição da porcentagem de esticadas protegidas, enquanto que a dose de 0,3 nmol também diminuiu o total de levantamentos em camundongos expostos ao labirinto em cruz elevado (Tabela 1). Desta forma, as medidas etológicas observadas corroboram os resultados obtidos na análise dos índices convencionais, onde ocorreu aumento da porcentagem de entradas e tempo gasto nos braços abertos apenas para a dose de 0,3 nmol, enquanto que as doses mais altas (1,0 e 3,0 nmol) aumentaram somente a porcentagem do tempo gasto nos braços abertos. A dose mais baixa (0,03 nmol) não alterou nenhum dos índices de ansiedade. Nenhuma das doses de ondansetron intra-amígdala produziu mudanças na atividade locomotora dos animais (entrada nos braços fechados).

Resultados diferentes têm sido observados quando o ondansetron foi administrado em outras estruturas do SNC. Por exemplo, o ondansetron (1,0 e 2,0 $\mu\text{g}/0,1\mu\text{l}$), administrado no hipocampo ventral (Fachini e Canto-de-Souza, 2006) e na substância cinzenta periaquedutal (3,0 $\mu\text{g}/0,1\mu\text{l}$) (Silva e Canto-de-Souza, 2009), produziu efeito ansiogênico em camundongos avaliados no LCE. Este efeito ansiogênico no hipocampo ventral foi revertido pelo mCPBG (10,0 mg/kg, i.p.) (Fachini e Canto-de-Souza, 2007). Enquanto que o mCPBG na substância cinzenta periaquedutal não produziu efeito (Silva e Canto-de-Souza, 2009).

Em outros estudos com injeção sistêmica, o ondansetron promoveu efeitos diversos na ansiedade. Assim, o tratamento agudo com este antagonista, em ratos e camundongos (Costall et al., 1989a; Griebel et al., 1996; Sandman et al., 1996), bem como o tratamento sub-crônico, não produziram efeitos em camundongos submetidos ao LCE (Rodgers, et al., 1997).

Alguns autores têm discutido em estudos anteriores que dependendo da dose o ondansetron pode apresentar efeitos ansiolítico ou ansiogênico. Assim, o ondansetron nas doses de 0,0001-1,0 mg/kg, produziu diminuição da ansiedade quando administrado sistemicamente em ratos expostos ao teste de interação social (Tyers, 1987; Jones et al., 1988; Tyers et al., 1989), e em camundongos expostos ao teste claro/escuro (Costall et al., 1989a), enquanto as doses de 0,1- 1,0 $\mu\text{g}/\text{kg}$, produziram aumento da ansiedade (Costall et al., 1988).

O bloqueio de outros subtipos de receptores de serotonina, como por exemplo, a administração de cetanserina (10 μg), antagonista de receptor 5-HT_{2A}, no núcleo basolateral (Bla) e medial (MeA) da amígdala, resultou em efeito ansiogênico em ratos expostos ao LCE (Zangrossi e Graeff, 1994). Porém, a microinfusão de ritanserina (0,5, 1,25, 2,5 e 5,0 μg), antagonista de receptor 5-HT_{2A/2C}, no Bla, não produziu efeito em ratos

submetidos ao LCE (Cruz, et al., 2005). No NMR, a microinjeção de WAY-100635, antagonista dos receptores 5-HT_{1A}, atenuou a ansiedade em camundongos avaliados no labirinto (Canto-de-Souza et al., 2002). Pode ser que este efeito ansiolítico se deva ao aumento da liberação de serotonina em outras estruturas como, por exemplo, na SCP, no hipocampo ou na amígdala, se ligando a outros receptores como 5-HT_{1A}, 5-HT₂ ou 5-HT₃.

De acordo com Deakin e Graeff (1991), a via serotoninérgica que se origina no núcleo dorsal da rafe (NDR) e inerva a amígdala e o córtex frontal, facilita os comportamentos estratégicos em resposta a estímulos ameaçadores potenciais ou distais. Estas estratégias relacionam-se com a ansiedade condicionada ou antecipatória e o transtorno de ansiedade generalizada.

Desta forma, sugerimos que quando o animal se depara com um estímulo aversivo potencial, a serotonina liberada pelo NDR, que chega até a amígdala, não é capaz de se ligar aos receptores 5-HT₃, estando estes bloqueados previamente pela administração de ondansetron. Assim, a serotonina poderá se ligar a outros receptores presentes na amígdala, por exemplo, ao receptor 5-HT_{2A}. E este conjunto de acontecimentos promove efeito ansiolítico, observado em nossos resultados.

Pesquisas anteriores demonstraram que o perfil de ação de diferentes antagonistas de receptores 5-HT₃ tem se mostrado muito semelhante ao dos benzodiazepínicos (Tyers et al., 1987; Costall et al., 1987; 1988; Jones et al., 1988). Neste sentido, o nosso resultado com o ondansetron fortalece esta hipótese, porém estudos posteriores devem ser realizados para confirmar a mesma.

Diversos trabalhos da literatura demonstraram ausência de efeitos dos agonistas 5-HT₃ em modelos animais de ansiedade (Costall et al., 1989b; Higgins et al., 1991; Sandman et al., 1996). Entretanto, os resultados encontrados neste trabalho, com a infusão intra-amígdala de mCPBG, são semelhantes àqueles estudos da literatura com administração

sistêmica, onde este agonista produziu efeito ansiogênico em ratos (Andrews e File, 1992), e camundongos (Fachini e Canto-de-Souza, 2008).

Outros subtipos de receptores de serotonina, como por exemplo, 5-HT₂ da amígdala, foram investigados. Neste sentido, Cornélio e Nunes-de-Souza (2007), mostraram que a administração de mCPP, agonista 5-HT₂, intra-amígdala, causou efeito ansiogênico, enquanto que intra-hipocampo não produziu efeito em camundongos submetidos ao LCE. Além disso, outros resultados foram evidenciados ao se manipular os receptores 5-HT₂ do complexo amidalóide. Em ratos, por exemplo, a infusão do BW 723C86, agonista do receptor 5-HT₂, na amígdala, reduziu os índices comportamentais de ansiedade nos testes de interação social e LCE. Estes efeitos foram bloqueados pela administração de SB200646A, antagonista do receptor 5-HT₂ (Duxon, 1997).

Em relação às medidas convencionais e etológicas, os nossos resultados mostram que o mCPBG, nas doses de 10 e 20 nmol, produziram apenas diminuição da porcentagem de entradas nos braços abertos do labirinto. Enquanto, que nenhuma das doses alterou a porcentagem de tempo gasto nos braços abertos e número de entradas nos braços fechados (atividade locomotora). Já as doses de 10, 40 e 80 nmol, promoveram aumento dos comportamentos de avaliação de risco, tais como, porcentagem de esticadas protegidas. Para a porcentagem de tempo gasto nos braços fechados também ocorreu aumento produzido pelas doses de 10 e 20 nmol de mCPBG.

As outras medidas etológicas não foram alteradas exceto a dose de 20 nmol que aumentou o total de imobilidade (Tabela 2). Os comportamentos de avaliação de risco observados fortalecem os resultados obtidos na análise dos comportamentos convencionais, onde as doses deste agonista dos receptores 5-HT₃, promoveram efeito ansiogênico. Resultado diferente do nosso foi obtido em estudo com injeção na SCP, onde o mCPBG

não produziu efeito em camundongos avaliados no labirinto (Silva e Canto-de-Souza, 2009).

Na tentativa de esclarecer o papel da serotonina na modulação da resposta de ansiedade pelos receptores 5-HT₃ localizados na amídala, avaliamos se o ondansetron seria capaz de bloquear o efeito ansiogênico produzido pelo mCPBG. Assim, verificamos que este antagonista na dose de 0,03 nmol, foi efetivo em promover o bloqueio do efeito do mCPBG (10 nmol). Tal resposta pode ser confirmada pelo aumento nas porcentagens de entrada e de tempo gasto nos braços abertos do labirinto, nos grupos tratados com ondansetron. Nenhuma das doses de ondansetron e mCPBG alterou a atividade locomotora dos animais.

Em relação aos outros índices, os resultados obtidos fortalecem os índices convencionais, uma vez que o tratamento com veículo e mCPBG produziu, diminuição do total de entradas, entradas nos braços abertos e total de mergulhos, e aumentou a porcentagem de tempo gasto nos braços fechados, mergulhos protegidos e total de esticadas. A administração intra-amídala de ondansetron e mCPBG, reverteu o efeito ansiogênico do mCPBG (V+mCPBG) em relação a porcentagem de mergulho, esticadas protegidas e total de esticadas.

Estudos mais recentes da literatura, mostram que devido aos diferentes núcleos localizados na amídala, com diversas sub-populações de receptores, resultados diversificados podem ser encontrados quando diversas drogas são infundidas em núcleos específicos desta estrutura (Engin e Treit, 2008). Mas isto não se aplica aos nossos resultados neste estudo, porque o ondansetron foi capaz de bloquear o efeito ansiogênico produzido pelo mCPBG, sugerindo que a serotonina quando atua nos receptores 5-HT₃ da amídala exerce efeito ansiogênico.

Apesar dos diversos efeitos dos antagonistas de receptores 5-HT₃ descritos na literatura, em nosso estudo o antagonista desses receptores apresentou efeito ansiolítico, o que de certa forma justifica a aplicação clínica desta classe de fármacos como antiemético, no tratamento da síndrome de abstinência a drogas de abuso, dor e ansiedade (Costall et al., 1989a; Zifa e Fillion, 1992).

Assim, de acordo com Deakin e Graeff (1991), a via serotoninérgica que se origina no núcleo dorsal da rafe (NDR) e inerva a amígdala e o córtex frontal, facilitando os comportamentos estratégicos em resposta a estímulos ameaçadores potenciais ou distais, relacionam-se com a ansiedade condicionada ou antecipatória e o transtorno de ansiedade generalizada.

Neste sentido, os nossos resultados sugerem que a modulação dos receptores 5-HT₃ da amígdala pela serotonina em camundongos, pode apresentar papel ansiogênico, fortalecendo a hipótese de Higgins et al. (1991). Portanto, a ativação dos circuitos serotoninérgicos localizados na amígdala, principalmente aqueles em que os receptores 5-HT₃ estão atuando, fazem parte da modulação da ansiedade avaliada no labirinto. Entretanto, devido aos diferentes núcleos localizados nesta estrutura, com diversas subpopulações de receptores, a literatura já demonstra resultados conflitantes quando diversas drogas são infundidas em núcleos específicos da amígdala (Engin e Treit, 2008).

Neste sentido novos estudos são necessários para esclarecer se existe uma região específica desta estrutura prosencefálica, responsável pela emissão de respostas relacionadas à ansiedade.

8. CONCLUSÃO

Diante dos resultados obtidos concluímos que:

- A microinjeção de ondansetron, antagonista dos receptores 5-HT₃, na amídala de camundongos expostos ao LCE produz efeito ansiolítico.
- A microinjeção de mCPBG, agonista dos receptores 5-HT₃, na amídala de camundongos expostos ao LCE produz efeito ansiogênico.
- O pré-tratamento com ondansetron (0,03 nmol) intra-amídala bloqueou o efeito ansiogênico do mCPBG (10 nmol) em camundongos expostos ao LCE.
- A ativação dos receptores 5-HT₃ da amídala pela serotonina em camundongos, parece apresentar papel ansiogênico.

9. REFERÊNCIAS

ADAMEC R., KENT P., ANISMAN H., SHALLOW T., MERALI, Z. Neural plasticity, neuropeptides and anxiety in animals—implications for understanding and treating affective disorder following traumatic stress in humans. *Neurosci Biobehav Rev* 23:301–318, 1998.

ADAMS, D.B. Brain mechanisms of offense, defense and submission. *The behavioral and Brain Sciences* 2: 201-241, 1979.

AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION. Manual diagnóstico e estatístico de transtornos mentais. Miguel R. Jorge (Coord.). Cláudia Dornelles (Trad.). 4 ed., DSM-IVTR. Porto Alegre: Artmed, 1995.

ANDREWS, N., FILE, S.E. Are there changes in sensitivity to 5-HT₃ receptor ligands following chronic diazepam treatment? *Psychopharmacology* 108:333-337, 1992.

BARNES, N.M., COSTALL, B., NAYLOR, R.J. [3H] Zacopride, ligant for the identification of 5-HT₃ recognition sites. *Journal Pharmacology* 40: 548-551, 1988.

BARNES, J.M., COSTALL, B., COUGHLAN, J., DOMENEY, A.M., GERRARD, P.A., KELLY, M.E., NAYLOR, R.J., ONAIVI, E.S., TOMKINS, D.M., TYERS, M.B. The effects of ondansetron, a 5-HT₃ receptor antagonist, on cognition in rodents and primates. *Pharmacol Biochem Behav* 35:955-962, 1990.

BARNES, N.M., COSTALL, B., GE, J.; KELLY, E., NAYLOR, R.J. The interaction of R(+) and S(-) zacopride with PCPA to modify rodent aversive behaviour. *Eur J Pharmacol*, v.18, p.15-25, 1992.

BARNES, N.M., SHARP, T. A review of central 5-HT receptors and their function. *Neuropharmacology* 38:1083–152, 1999.

BARNES, N.M., HALES, T.G., LUMMIS, S.C.R., PETERS, J.A. The 5-HT₃ receptor – the relationship between structure and function. *Neuropharmacology* 56:273-284, 2009.

BLANCHARD R.J., BLANCHARD D.C. Ethoexperimental approaches to the biology of emotion. *Annual Review of Psychology* 39: 43-68, 1988.

BLANCHARD, R.J. AND BLANCHARD, D.C. Antipredator defensive behaviors in a visible burrow system, *J. Comp. Psychol.* 103, pp. 70–82, 1989.

BLANCHARD, D.C., BLANCHARD, R.J., RODGERS, R.J. Pharmacological and Neural control of anti-predator defense in the rat. *Aggressive Behavior* 16: 165-176, 1990.

BLANCHARD, D.C., BLANCHARD, R.J. AND RODGERS, R.J. Risk assessment and animal models of anxiety. In: B. Olivier, J. Mos and J.L. Slangen, Editors, *Animal models in Psychopharmacology*, Basel, Birkhauser, pp. 117–134, 1991.

BLANCHARD, R.J., YUDKO, E.B., RODGERS, R.J. AND BLANCHARD, D.C. Defense system psychopharmacology: an ethological approach to the pharmacology of fear and anxiety, *Behav. Brain Res.*, 58 pp. 155–165, 1993.

BLANCHARD, D.C, GRIEBEL, G., BLANCHARD, R.J. Mouse defensive behaviors: pharmacological and behavioral assays for anxiety and panic. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 25: 205-218, 2001.

BOURIN, M. Animals models of anxiety: are they suitable for predicting drug action in humans? *Polish Journal of Pharmacology*, 49: 79-84. 1997.

BRADLEY, P.B.; ENGEL, G.; FENIUK, W.; et al. Proposals for the classification and nomenclature of functional receptors for 5-hydroxytryptamine. *Neuropharmacology*, v. 25, p. 563-576, 1986.

BRANDÃO, M.L., CARDOSO, S.H., MELO, L.L., MOTTA, V., COIMBRA, N.C. The neural substrate of defensive behavior in the midbrain tectum. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 18: 339-346, 1994.

BRANDÃO, M.L., ANSELONI, V.Z., PANDÓSSIO, J.E., DE ARAÚJO, J.E., CASTILHO, V.M. Neurochemical mechanisms of defensive behavior in the dorsal midbrain. *Neuroscience and Biobehavioural Reviews* 23: 863-875, 1999.

BRANDÃO, M. L. Comportamento emocional In BRANDÃO, M.L. *Psicofisiologia: as bases fisiológicas do comportamento*. São Paulo: Editora Atheneu, p.125-149, 2001.

BRANDÃO, M.L., VIANNA, D.M., MASSON, S., SANTOS, J. Neural organization of different types of fear: implications for the understanding of anxiety. *Revista brasileira de Psiquiatria* 25 (Supl II): 36-41, 2003.

BUTLER, A., HILL, J.J., IRELAND, S.J., JORDAN, C.C., TYERS, M.B. Pharmacological properties of GR38032, a novel antagonist at 5-HT₃ receptor. *Br J Pharmacol* 94:397-412, 1988.

CARDINE, M.M.. Ansiedade e neuroses, personalidades e reações patológicas. In: Conferência Roussel Uclaf sobre ansiedade, 1, Paris, 1977. Separata Edição do Laboratório Sarsa do Brasil, v.4. 1977.

CANTO-DE-SOUZA, A., NUNES-DE-SOUZA, R.L., RODGERS, R.J. Anxiolytic-like effect of WAY-100635 microinfusions into the median (but not dorsal) raphe nucleus in mice exposed to the plus-maze: influence of prior test experience. *Brain Res* 928:50–59, 2002.

CAROBREZ, A.P., BERTOGLIO, L.J. Ethological and temporal analyses of anxiety-like behavior: The elevated plus-maze model 20 years on. *Neurosci Biobehav Rev* 29:1193-1205, 2005.

CEULEMANS, D.L.S., HOPPENBROWERS, M., GELDERS, Y.G., REYNTJENS, A.J.M. The influence of ritanserin, a serotonin antagonist, in anxiety disorders: a double blind placebo-controlled study versus lorazepam. *Phychopharmacology* 18: 303-305, 1985.

CORNÉLIO, A.M., NUNES-DE-SOUZA, R.L. 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* 178:82–89, 2007.

COSTALL, B., DOMENEY, A.M., GERRARD, P.A., KELLY, M.E., NAYLOR, R.J., TYERS, M.B. Anxiogenesis follows abstinence withdrawal from long term treatment of diazepam but not GR38032f. *J Psychopharmacol* 91:420, 1987.

COSTALL, B., NAYLOR, R.J., TYERS, M.B. Recent advances in the neuropharmacology of 5-HT₃ agonists and antagonists. *Rev Neuroscience* 2:41-65, 1988.

COSTALL, B., JONES, B.J., KELLY, M.E., NAYLOR, R.J., OAKLEY, N.R., ONAIVI, E.S., TYERS, M.B. The effects of ondansetron (GR 38032F) in rats and mice treated subchronically with diazepam. *Pharmacol Biochem Behav* 34:769-778, 1989a.

COSTALL, B., KELLY, M.E., NAYLOR, R.J., ONAIVI, E.S., TYERS, M.B. Neuroanatomical sites of action of 5-HT₃ receptor agonists and antagonists of alteration of aversive behaviour in the mouse. *Braz J Pharmacol* 96:325-332, 1989b.

COSTALL, B., NAYLOR, R.J. Pharmacological properties and functions of central 5-HT₃ receptors. *Therapies*, v.46, p.437-44, 1991.

COSTALL, B., NAYLOR, R.J. Anxiolytic potential of central 5-HT₃ receptors antagonist. *Pharmacol Toxicol*, v.70, p.157-62, 1992.

COSTALL, B., DOMENEY, A., KELLY, M.E., TOMKINS, D.M., NAYLOR, R.J., WONG, E.H.F., SMITH, W.L., WHITING, R.L., EGLER, R.M. The effects of the 5-HT₃ receptor antagonist, RS-42358-197, in animal models of anxiety. *Eur J Pharmacol* 234:91-99, 1993.

CRUZ, A. P., FREI, F., GRAEFF, F. G. Ethopharmacological analysis of rat behaviour on the elevated plus-maze. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, v. 49, p. 171-176, 1994.

CRUZ, A. P.M., ZANGROSSI, H. & GRAEFF, F.G. Psicobiologia da ansiedade. Em: RangéB.P. (org) *Psicoterapia comportamental e cognitiva: pesquisa, prática, aplicações e problemas*. Campinas: Editorial Psy, pag 301-312. 1995.

CRUZ, A.P.M., ZANGROSSI, H., GRAEFF, F.G., LANDEIRA-FERNANDEZ, J. Modelos animais de ansiedade: implicações para a seleção de drogas ansiolíticas. *Psicologia: Teoria e Pesquisa*, 13 (3): 269-278. 1997.

CRUZ, A.P.M., PINHEIRO, G., ALVES, S.H., FERREIRA, G., MENDES, M., FARIA, L., MACEDO, C.E., LANDEIRA-FERNANDEZ, J. Behavioral effects of systemically administered MK-212 are prevented by ritanserin microinfusion into the basolateral amygdala of rats exposed to the elevated plus-maze. *Psychopharmacology* 182:345–354, 2005.

CUTLER, M.G., RODGERS, R.J., JACKSON, J.E. Behavioural effects in mice of subchronic buspirone, ondansetron and tianeptine: I. Social interactions. *Pharmacol Biochem Behav*, v.56, p.287-293, 1997.

DAVIS, M. Anatomic and physiologic substrates of emotion in a animal model. *Journal of Clinical Neurophysiology*, 15(5): 378-387.1998.

DEAKIN, J.F.W., GRAEFF, F.G. 5-HT and mechanisms or defence. *J Psychopharmacol* 5:305–315, 1991.

DUBIN, A.E., HUVAR, R., D'ANDREA, M.R., PYATI, J., ZHU, J.Y., JOY, K.C., et al. The pharmacological and functional characteristics of the serotonin 5-HT_{3A} receptor are specifically modified by a 5-HT_{3B} receptor subunit. *Journal Biologic Chemical* 274: 30799-30810, 1999.

DUXON, M.S., FLANIGAN, T.P., REAVLEY, A.C., BAXTER, G.S., BLACKBURN, T.P., FONE, K.C.F. Evidence for expression of the 5-hydroxytryptamine-2B receptor protein in the central nervous system. *Neuroscience* 76:323–329, 1997.

EGUCHI, A.J., INOMATAB, Y., SAITO, K. The anxiolytic-like effect of MCI-225, a selective NA reuptake inhibitor with 5-HT₃ receptor antagonism. *Pharmacol Biochem Behav* 68:677-683, 2001.

ENGIN, E., TREIT, D. The effects of intra-cerebral drug infusions on animals' unconditioned fear reactions: A systematic review. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 32:1399-1419, 2008.

FACHINI, G., CANTO-DE-SOUZA, A. Efeito ansiogênico do ondansetron microinjetado no hipocampo ventral de camundongos. In: Federação de Sociedades de Biologia Experimental – FeSBE. XXI Reunião Anual, Águas de Lindóia, SP, 2006.

FACHINI, G., CANTO-DE-SOUZA, A. Reversão do efeito ansiogênico do ondansetron microinjetado no hipocampo ventral de camundongos com administração sistêmica de MCPBG em camundongos expostos ao labirinto em cruz elevado. In: Federação de Sociedades de Biologia Experimental – FeSBE. XXII Reunião Anual, Águas de Lindóia, SP, 2007.

FACHINI, G., CANTO-DE-SOUZA, A.L.M. Intra-ventral hippocampus injections of ondansetron increase anxiety in mice exposed in elevated plus-maze. Behav Pharmacol, 2008. (submetido)

FAERBER, L., DRECHSLER, S., LADENBURGUER, S., GSCHAIDMEIER H., FISCHER W. The neuronal 5-HT₃ receptor network after 20 years of research- Envolving concepts in management of pain and inflammation. European Journal Pharmacology 560: 1-8, 2007.

FERNANDES, C., FILE, S.E. The influence of open arm ledges and maze experience in the elevated plus-maze. Pharmacol Biochem Behav 54:31–40, 1996.

FILE, S.E., JOHNSTON, A.L. Lack of effects of 5-HT₃ receptor antagonists in the social interaction and elevated plus-maze test of anxiety in the rat. Psychopharmacology 99:248-251, 1989.

FILE, S.E. Behavioural detection of anxiolytic action. In: Experimental approaches to anxiety and depression (Elliott JM, Heal DJ, Marsden CA, eds), pp 25-44 Chichester: John Wiley and Sons, 1992.

FREEMAN III A.M.; WESTPHAL, J.B.; NORRIS, G.T.; ROGGERO B.A.; WEBB, P.B.; FREEMAN K.L.; ET AL. Efficacy of ondansetron in the treatment of generalized anxiety disorder. *Depress Anxiety*, v.5, p.140-1, 1997.

GALLAGHER, M., CHIBA, A. The amygdala and emotion. *Current Opinion in Neurobiology*, 6: 221-227. 1996.

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

GONZALEZ, L.E., ANDREWS, N. & FILE, S.E. 5-HT_{1A} and benzodiazepine receptors in the basolateral modulate anxiety in the social interaction test, but not in the elevated plus-maze test. *Brain Research*, 732: 145-153. 1996.

GOODWIN, G.M., GREEN, A.R. A behavioural and biochemical study in mice and rats of putative selective agonists and antagonists for 5-HT₁ and 5HT₂ receptors. *Br J Pharmacology* 84: 743-753, 1985.

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

GRAEFF, F.G. Ansiolíticos. In: Drogas Psicotrópicas e seu modo de ação. EPU, São Paulo, 61-83, 1989.

GRAEFF, F. G., BRANDÃO, M. L. Neurobiologia das doenças mentais. São Paulo: Lemos Editorial. 1993.

GRAEFF, F.G., GUIMARÃES, F.S., ANDRADE, T.G.C.S., DEAKIN, J.F.W. Role of 5-HT in stress, anxiety and depression. *Pharmacology Biochemical and Behavior* 54: 129-141, 1996.

GRAEFF, F.G., VIANNA, M.B., MORA, P.O. Dual role of 5-HT in defense and anxiety. *Neurosci Biobehav Rev* 21:791-799, 1997.

GRAEFF, F.G. Ansiedade. In: GRAEFF, F.G. & BRANDÃO, M.L. Neurobiologia das doenças mentais. (5 eds.), Lemos, São Paulo: p.135-178, 1999.

GRAEFF, F.G., ZANGROSSI, H. Animal models of anxiety. In: D'HAENEN; DENBOER, J.A.; WILLER, P. (Eds). *Biological Psychiatry*. John Wiley & Sons Ltd. 1-15, 2002.

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

GREN, S., HODGERS, H. Animal models of anxiety. In: Behavioural Models in Psychopharmacology (Willner P, ed), pp 21-29 CUP: Cambridge, 1991.

GREENSHAW, A.J. Behavioural pharmacology of 5-HT₃ receptor antagonists: a critical update on therapeutic potential. Trends Pharmacol Sci 14:265-270, 1993.

GREENSHAW, A.J., SILVERSTONE, P.H. The non-antiemetic uses of serotonin 5-HT₃ receptor antagonists: clinical pharmacology and therapeutics applications. Drugs 53: 20-39, 1997.

GRIEBEL, G. 5-Hydroxytryptamine-interacting drugs in animal models of anxiety disorders: more than 30 years of research. Pharmacol Ther 65:319-395, 1995.

GRIEBEL, G., SANGER, D.J., PERRAULT, G. The use of the rat plus-maze to discriminate non selective and BZ-1 (ω 1) selective, benzodiazepine receptor ligands. Psychopharmacology 124: 245-254, 1996.

GRIEBEL, G., RODGER, R.J., PERRAULT, G., SANGER, D.J. Risk assessment behavior: evaluation of utility in the study of 5-HT related drugs in the rat elevated plus-maze test. Pharmacol Biochem Behav 57:817-827, 1997.

HANDLEY, S.L., MITHANI, S. Effects of alpha-adrenoceptor agonist and antagonists in a maze-exploration model of "fear"- motivated behaviour. Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol 327:1-5, 1984.

HANDLEY, S.L. Serotonin in animal models of anxiety: the importance of stimulus and response. In: Serotonin, Sleep and Mental Disorder (Idzikowski C, Cowen PJ, eds), pp 89-115 Wrightson: London, 1991.

HANDLEY, S.L., MCBLANE, J.W. An assesment of the elevated X-maze for studying anxiety-modulating drugs. J Pharmacol Toxicol Methods 29:129-138, 1993.

HENSLER, J.G., HODGE, C.W., OVERSTREET, D.H. Reduced 5-HT₃ receptor binding and lower baseline plus maze anxiety in the alcohol-preferring inbred fawn-hooded rat. Pharmacol Biochem Behav 77:281-289, 2004.

HETEM, L.A.B. Diagnóstico diferencial dos transtornos de ansiedade. In: HETEM, L.A.B.; GRAEFF, F.G. Transtornos de ansiedade. São Paulo: Ed. Científica Nacional Ltda. P. 228-246, 1997.

HETEM, L.A.B. Bases Neurais. In: HETEM, L.A.B., GRAEFF, F.G. Transtornos de ansiedade. São Paulo: Editora Atheneu, 107-132, 2004.

HIGGINS, G.A., JONES, B.J., OAKLEY, N.R., TYERS, M.B. Evidence that the amygdala is involved in the disinhibitory effects of 5-HT₃ receptor antagonist. Psychopharmacology 104:545-551, 1991.

HOYER, D., CLARKE, D.E., FOZARD, J.R. et al. International union of pharmacological classification of receptors for 5-hydroxytryptamine (serotonin). Pharmacology Science 4: 233-236, 1994.

HOYER, D., MARTIN, G. 5-HT receptor classification and nomenclature towards a harmonization with the human genome. *Neuropharmacology*, 36 (4-5): 419-428, 1997.

HOYER, D., NEIJT, H.C. Identification of 5-HT₃ recognition sites in membranes of N1E-115 neuroblastoma cells by radioligand binding. *Mol Pharmacology* 33: 303-309, 1988.

JONES, B.J., COSTALL, B., DOMENEY, A.M., KELLY, M.E., NAYLOR, R.J., OAKLEY, N.R., TYERS, M.B. The potential anxiolytic activity of GR38032F, 5-HT₃ receptor antagonist. *Br J Pharmacol* 93:985-993, 1988.

KENNETT, G.A., WHITTON P., SHAH K., CURSON, G. Anxiogenic effects of mCPP and TFMPP in animal models are opposed by 5-HT_{1C} receptor antagonist. *Eur J Pharmacol* , v.164, p. 445-454, 1989.

KILLPATRICK, G.J., JONES, B.J., TYERS, M.B. Identification and distribution of 5-HT₃ receptors in rat brain using radioligand binding. *Nature* 330: 745-748, 1987.

KILLPATRICK, G.J., JONES, B.J., TYERS, M.B. Binding of the 5-HT₃ ligand [3H]-GR65630 to rat area postrema, vagus nerve and the brain of several species. *European Journal Pharmacology* 159: 157-164, 1989.

KILPATRICK, G.J., BUTLER, A., BURRIDGE, J., OXFORD, A.W. 1-(m-Chlorophenyl)-biguanide, a potent high affinity 5-HT₃ receptor agonist. *Eur J Pharmacol* 182:193-197, 1990.

KUHAR, M.J. Neuroanatomical substrates of anxiety: A brief survey. TINS, v.9, p.307-311, 1986.

LEDOUX, J.E. Fear and the brain: Where have we been, and where are we going? Biological Psychiatry, 44 (12): 1229-1238, 1998.

LIMA, M.S. Epidemiologia e impacto social. Ver Brás Psiquiatr, 21, 1999.

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

LISTER, R.G. Ethologically-based animal models of anxiety disorders. Pharmacol Ther 46:321-340, 1990.

LIU, G. X., CAI, G. Q., CAI, Y. Q., SHENG, Z. J., JIANG, J., MEI, Z., WANG, Z. G., GUO, L., FEI, J.. Reduced Anxiety and Depression-Like Behaviors in Mice Lacking GABA Transporter Subtype 1. Neuropsychopharmacology. 32, 1531–1539, 2007.

MARUCCI, F.A.F, CANTO-DE-SOUZA, A. Microinjeção de antagonista dos receptores 5-HT₃ na amígdala de camundongos produz efeito ansiolítico. In: Federação de Sociedades de Biologia Experimental – FeSBE. XXI Reunião Anual, Águas de Lindóia, SP, 2006a.

MARUCCI, F.A.F., FACHINI, G., CANTO-DE-SOUZA, A. Agonista dos receptores 5-HT₃ produz efeito ansiogênico em camundongos avaliados no labirinto em cruz elevado. In: XIV CIC - Congresso de Iniciação Científica da Universidade Federal de São Carlos-UFSCar. São Carlos, SP, 2006b.

MCCREARY, A.C., MCBLANE, J.W., SPOONER, H.A. & HANDLEY, S.L. 5-HT systems and anxiety: multiple mechanisms in the elevated x-maze. *Polish Journal of Pharmacology*, 48: 1-12, 1996.

MCFARLAND, D. *The Oxford Companion to Animal Behaviour*, Oxford University Press, New York, 1987.

MCNAIR, D.M., FRANKENTHALER, I.M., CZERLINSKY, T., WHITEN, T.W., SASSON, S. & FISHER, S. Simulated public speaking as a model of clinical anxiety. *Psychopharmacology*, 77: 7-10, 1982.

MACNAUGHTON, N., CORR, P.J. A two-dimensional neuropsychology of defense: fear/anxiety and defensive distance. *Neuroscience and biobehavioral Reviews* 28: 285-305, 2004.

MENARD, J., TREIT, D. Effects of centrally administered anxiolytic compounds in animal models of anxiety. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 23: 591-613, 1999.

MILLAN, M.J. The neurobiology and control of anxious states. *Prog Neurobiology* 70: 83-244, 2003.

NAGY, J., ZAMBO, K., DESCI, L. Antianxiety action of diazepam after intra-amygdaloid application in the rat. *Neuropharmacology*, v.18, p.573-576, 1979.

NIEMINEM, S.A., SIRVIOE, J., TEITTINEN, K., PITKAENEN, A., AIRAKSINEM, M. M., RIEKKINEM, P. Amygdala kindling increased fear-response, but did not impair spatial memory in rats. *Physiology Behaviour*, v. 51, p. 845-849, 1992.

NIEMEYER, M.I., LUMMIS, S.C. Different efficacy of specific agonists at 5-HT₃ receptor splice variants: the role of the extra six amino acid segment. *Brit J Pharmacol* 123:661-666, 1998.

NINAN, P.T., COLE, J.O., YONKERS, K.A. Nonbenzodiazepine anxiolytics. In: A. F. Schatzberg & C.B. Nemeroff (orgs.) "Psychopharmacology". Washington: American Psychiatry Press, pp 287-300, 1998.

NUNES-DE-SOUZA, R.L., CANTO-DE-SOUZA, A., DA-COSTA, M., FORNARI, R.V., PELÁ, I.R., GRAEFF, F.G. Anxiety-induced antinociception in mice: effects of systemic and intra-amygdala administration of 8-OH-DPAT and midazolam. *Psychopharmacology* 150:300-310, 2000.

NUNES-DE-SOUZA, R.L., CANTO-DE-SOUZA, A., RODGERS, R.J. Effects of intrahippocampal infusion of WAY 100635 on plus-maze behavior in mice. Influence of site of injection and prior test experience. *Brain Res* 9: 87-96, 2002.

NUNES-DE-SOUZA, V., NUNES-DE-SOUZA, R.L., CANTO-DE-SOUZA, A. 5-HT₂ receptor activation in the midbrain periaqueductal grey (PAG) reduces anxiety-like behaviour in mice. *Behav Brain Res* 187:72-79, 2008.

NUTT, D.J. The pharmacology of human anxiety. *Pharmacology and Therapeutics*. 47, 233-266, 1990.

OLIVIER, B., VANWIJNGAARDEN, I., SOUDIJN, W. 5-HT₃ receptors antagonist and anxiety: a preclinical and clinical review. *Eur Neuropsychopharm* 10:77-95, 2000.

PAXINOS, G., FRANKLIN, K.B.J. The mouse brain in stereotaxic coordinates. California: Elsevier Science, 2001.

PESOLD, C., TREIT, D. The central and basolateral amygdala differentially mediate the anxiolytic effects of benzodiazepines. *Brain Research*, 671, 213-221, 1995.

PIPER, D., UPTON, N., THOMAS, D., NICHOLASS, J. The effects of the 5-HT₃ receptors antagonist BRL43694 and GR38032F in animal behavioural models of anxiety. *Br J Pharmacol*, v. 94, p.314, 1988.

PRATT, G.D., BOWERLY, N.G. The 5-HT₃ receptor ligand, [3H]-BR43694, binds to presynaptic sites in the nucleus tractus solitarius of the rat. *Neuropharmacology* 28:1367-1376, 1989.

RAINNIE, D.G. Serotonergic modulation of neurotransmission in the rat basolateral amygdala. *Journal of neurophysiology*, 82: 69-85. 1999.

REIS, L.M., CANTO-DE-SOUZA, A.L.M. Papel dos receptores GABA-benzodiazepínicos da matéria cinzenta periaquedutal na modulação da ansiedade em camundongos ingênuos e reexpostos ao labirinto em cruz elevado. Dissertação de mestrado pelo Programa Interinstitucional de Pós Graduação em Ciências Fisiológicas PIPGCF/UFSCar/SP, 2006.

REX, A., FINK, H., MARSDEN, C. A. Effects of BOC-CCK-4 and L365,260 on cortical 5-HT release in guinea pigs on exposure to the elevated plus maze. *Neuropharmacology* 33: 559-565, 1994.

RICHARDSON, B.P., ENGELM, G., DONATSCH, P., STADLER, P.A. Identification of serotonin M-receptor subtypes and their specific blockade by a new class of drugs. *Nature*, v.316, p.126-131, 1985.

RODGERS, R. J., COLE, J.C., COBAIN, M.R., DALY, P., DORAN, P.J., EELLS, J.R., WALLIS, P. Anxiogenic-like effects of fluprazine and eltoprazine in the mouse elevated plus-maze: profile comparisons with 8-OH-DPAT, CGS12066B, TFMPP and MCPP. *Behav Pharmacol*, v.3, p.621-634, 1992.

RODGERS, R.J., COLE, J.C. The elevated plus-maze: pharmacology, methodology and ethology. In: *Ethology and Psychopharmacology* (Cooper SJ, Hendrie CA, eds) p 944 Chichester: John Wiley and Sons, 1994.

RODGERS, R.J., JOHNSON, N.J.T. Factor analysis of spatiotemporal and ethological measures in the murine elevated plus-maze test of anxiety. *Pharmacol Biochem Behav* 52:297-303, 1995.

RODGERS, R.J. Animal models of 'anxiety': where next? *Behav Pharmacol* 8:477–496, 1997.

RODGERS, R.J., CAO, B.J., DALVI, A., HOLMES, A. Animal models of anxiety: an ethological perspective. *Braz J Med Biol Res* 30:289–304, 1997.

RODGERS, R.J., DALVI, A. Anxiety, defence and the elevated plus-maze, *Neurosci. Biobehav. Rev.* 21, pp. 801–810, 1997.

SANDMAN, G., BECKER, P.L., NORMAN, T.R. Activity of 5-HT₃ receptor active compounds in animal behavioural models of anxiety. *Eur Neuropsychopharm* 6:116, 1996.

SCHNEIER, F.R., GARFINKEL, R., KENNEDY, B., CAMPEAS, R., FALLON, B., MARSHALL, R., et al. Ondansetron in the treatment of panic disorder. *Anxiety*, v.2, p. 199-202, 1996.

SETEM, J., PINHEIRO, A.P., MOTTA, V.A, MORATO, S. AND CRUZ, A.P. Ethopharmacological analysis of 5-HT ligands on the rat elevated plus-maze, *Pharmacol. Biochem. Behav.* 62, pp. 515–521, 1999.

SHEPHERD, J.K., GREWAL, S.S., FLETCHER, A., BILL, D.J., DOURISH, C.T. Behavioural and pharmacological characterisation of the elevated zero-maze as an animal model of anxiety, *Psychopharmacology* 116, pp. 56–64, 1994.

SILVA, L.T., CANTO-DE-SOUZA, A. Anxiolytic-like effects produced by intra-periaqueductal gray matter (PAG) injection of mCPP are blocked by prior local ondansetron injection in mice. *Behav Brain Res*, 2009 (submetido).

STEFANSKI, R., PALEJKO, W., BIDZINSKI, A., KOSTOWSKI, W., PLAZNIK, A. Serotonergic innervation of the hippocampus and nucleus accumbens septi and the anxiolytic-like action of the 5-HT₃ receptor antagonists. *Neuropharmacol* 32:987–993, 1993.

STEIN, L., WISE, C. D. & BERGER, B. D. Antianxiety actions of benzodiazepines: Decrease in activity of serotonin neurones in the punishment systems. In: S. Gratini, E. Mussini & L.O. Randell (eds) *Benzodiazepines*. New York: Raven Press, pp 299-326, 1973.

THOMAS, S.R., LEWIS, M.E., IVERSEN, S.D. Correlation of [3H]-diazepam binding density with anxiolytic locus in the amygdaloid complex of the rat. *Brain Res*, v.342, p.85-90, 1985.

TREIT, D. Animal models for the study of anti-anxiety agents: a Review. *Neurosci Biobehav R* 9:209-222, 1985.

TREIT, D. Anxiolytic effects of benzodiazepines and 5-HT_{1A} agonists: a review. In: 5-HT_{1A} agonists, 5-HT₃ Agonists and Benzodiazepines: Their comparative Behavioural Pharmacology (Rodgers RJ, Cooper SJ, eds) J. Wiley: Chichester 107-131, 1991.

TREIT, D., MENARD, J., ROYAN, C. Anxiogenic stimuli in the elevated plus-maze. Pharmacol Biochem Behav 44:463-469, 1993.

TYERS, M.B., COSTALL, B., DOMENEY, A.M., JONES, B.J., KELLY, M.E., NAYLOR, R.J., OAKLEY, N.R. The anxiolytic activities of 5-HT₃ antagonists in laboratory animals. Neurosci Lett 29:68, 1987.

TYERS, M.B. A review of the evidence supporting the anxiolytic potential of 5-HT₃ receptor antagonists. In: Behav Pharmacol of 5-HT, ed. By Bevan, AR Cools, and T. Archer, pp. 353-358, Laurence Erlbaum Associates Hillsdale, NJ, 1989.

WAEBER, C., PALACIOS, J.M., HOYER, D. ET AL. Distribution of serotonin receptors. Annals of the New York Academy of Sciences 600: 36-52, 1990.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Disponível em: <
<http://www.who.int/research/en/>>. Acesso em: 10 março 2007.

YANNIELI, P.C., KANTEREWICZ, B. I., CARDINALI, D.P. Daily rhythms in spontaneous and diazepam-induced anxiolysis in Syrian hamsters. Pharmacology, Biochemistry and Behaviour 54: 651-656, 1996.

YOUNG, R., JOHNSON, D.N. Effects of (±)-, R(+)-, and S(-)- zacopride in the mouse light/dark exploratory model. Serotonin Meeting, Florence, March 1989.

ZANGROSSI, H., GRAEFF, F.G. Behavioral effects of intra-amygdala injections of GABA and 5-HT acting drugs in the elevated plus-maze. *Braz J Med Biol Res* 27:2453-2456, 1994.

ZANGROSSI, H., GRAEFF, F.G. Modelos animais. In: HETEM, L.A.B., GRAEFF, F.G. *Transtornos de ansiedade*. São Paulo: Editora Atheneu, 55-74, 2004.

ZIFA, E., FILLION, G. 5-Hidroxytyptamine receptors. *Pharmacol Rev* 44:401-458, 1992.

10. APÊNDICE

Quadro 1: Registro das medidas convencionais em camundongos submetidos ao LCE após microinjeção intra-amídala de ondansetron (0, 0,03, 0,3 , 1,0 e 3,0 nmol/0,1µl).

Controle

SUJEITO	TE	EBA	EBF	TBA	TBF	TC	%EBA	%EBF	%TBA	%TBF	%TC
1	23	12	11	97,16	67,9	134,94	52,17	47,82	32,38	22,63	44,98
2	21	9	12	51,8	133,8	114,4	42,85	57,14	17,26	44,6	38,13
3	17	2	15	10,03	202,5	87,47	11,76	88,23	3,34	67,5	29,15
4	7	1	6	5,78	48,56	245,66	14,28	85,71	1,92	16,18	81,88
5	17	7	10	49,55	134,59	115,86	41,17	5,88	16,51	44,86	38,62
6	7	0	7	0	245,68	54,32	0	100	0	81,89	18,1
7	6	4	2	15,08	63,59	221,33	66,66	33,33	5,02	21,19	73,77
8	5	1	4	8,06	253,9	38,04	20	80	2,68	84,63	12,68
9	17	9	8	108,82	149,62	41,56	52,94	47,05	36,27	49,87	13,85
10	15	4	11	17,46	192,99	89,55	26,67	73,33	5,82	64,33	29,85
11	12	2	10	40,58	166,77	92,65	16,67	83,33	13,53	55,59	30,88
12	19	6	13	62,35	129,8	107,86	31,58	68,42	20,68	43,27	35,95
MÉDIA	13,83	4,75	9,08	38,89	149,14	111,97	31,40	64,19	12,95	49,71	37,32
D.P.M.	6,25	3,84	3,80	36,35	67,58	64,40	20,00	26,98	12,11	22,53	21,47
E.P.M.	1,80	1,11	1,10	10,49	19,51	18,59	5,77	7,79	3,50	6,50	6,20

Ondansetron 0,03 nmol

SUJEITO	TE	EBA	EBF	TBA	TBF	TC	%EBA	%EBF	%TBA	%TBF	%TC
1	16,51	44,86	38,6	87,95	123,75	88,30	57,89	42,11	29,32	41,25	29,43
2	0	81,89	18,1	12,56	201,31	86,13	14,29	85,71	4,19	67,10	28,71
3	5,02	21,19	73,8	23,34	204,03	72,63	33,33	66,67	7,78	68,01	24,21
4	2,68	84,63	12,7	45,05	134,69	120,27	17,65	82,35	15,02	44,90	40,09
5	36,27	49,87	13,9	0,00	199,19	100,81	0,00	100,00	0,00	66,40	33,60
6	5,82	64,33	29,85	103,89	91,95	104,15	47,62	52,38	34,63	30,65	34,72
7	18,00	8,00	10,00	38,33	144,53	117,14	44,44	55,56	12,78	48,18	39,05
8	19,00	10,00	9,00	85,45	147,25	67,30	52,63	47,37	28,48	49,08	22,43
9	19,00	13,00	6,00	155,98	82,52	61,50	68,42	31,58	51,99	27,51	20,50
10	17,00	5,00	12,00	68,00	111,67	120,33	29,41	70,59	22,67	37,22	40,11
11	15,00	8,00	7,00	119,78	104,41	75,81	53,33	46,67	39,93	34,80	25,27
MÉDIA	14,03	35,52	20,99	67,30	140,48	92,21	38,09	61,91	22,43	46,83	30,74
D.P.M.	10,25	30,81	20,17	48,48	44,05	21,64	21,03	21,03	16,16	14,68	7,21
E.P.M.	3,09	9,29	6,08	14,62	13,28	6,53	6,34	6,34	4,87	4,43	2,18

Ondansetron 0,3 nmol

SUJEITO	TE	EBA	EBF	TBA	TBF	TC	%EBA	%EBF	%TBA	%TBF	%TC
1	40,00	29,00	11,00	172,46	58,05	69,50	72,50	27,50	57,49	19,35	23,17
2	24,00	14,00	10,00	107,21	141,91	50,89	58,33	41,67	35,74	47,30	16,96
3	13,00	9,00	4,00	56,02	166,31	77,67	69,23	30,77	18,67	55,44	25,89
4	14,00	7,00	7,00	82,11	143,55	74,34	50,00	50,00	27,37	47,85	24,78
5	26,00	18,00	8,00	164,25	84,41	51,34	69,23	30,77	54,75	28,14	17,11
6	18,00	11,00	7,00	110,33	67,80	121,88	61,11	38,89	36,78	22,60	40,63
7	9,00	1,00	8,00	17,95	122,75	159,30	11,11	88,89	5,98	40,92	53,10
8	12,00	6,00	6,00	65,39	148,90	85,71	50,00	50,00	21,80	49,63	28,57
MÉDIA	19,50	11,88	7,63	96,96	116,71	86,33	55,19	44,81	32,32	38,90	28,78
D.P.M.	10,17	8,63	2,20	52,98	41,00	36,98	19,77	19,77	17,66	13,67	12,33
E.P.M.	3,60	3,05	0,78	18,73	14,50	13,07	6,99	6,99	6,24	4,83	4,36

Ondansetron 1,0 nmol

SUJEITO	TE	EBA	EBF	TBA	TBF	TC	%EBA	%EBF	%TBA	%TBF	%TC
1	33,00	20,00	13,00	136,61	121,32	42,07	60,61	39,39	45,54	40,44	14,02
2	13,00	8,00	5,00	164,96	96,76	38,28	61,54	38,46	54,99	32,25	12,73
3	25,00	6,00	19,00	25,35	161,53	113,12	24,00	76,00	8,45	53,84	37,71
4	19,00	10,00	9,00	99,26	114,17	86,57	52,63	47,37	33,09	38,06	28,85
5	28,00	18,00	10,00	183,93	73,45	42,62	64,29	35,71	61,31	24,48	14,21
6	20,00	12,00	8,00	77,16	88,24	134,60	60,00	40,00	25,72	29,41	44,87
7	22,00	11,00	11,00	67,29	112,69	120,02	50,00	50,00	22,43	37,56	40,01
8	12,00	1,00	11,00	5,47	184,05	110,48	8,33	91,67	1,82	61,35	36,83
9	4,00	3,00	1,00	233,75	31,39	34,86	75,00	25,00	77,92	10,46	11,62
MÉDIA	19,56	9,89	9,67	110,42	109,29	80,29	50,71	49,29	36,81	36,43	26,76
D.P.M.	8,88	6,31	5,02	75,51	45,35	40,72	21,18	21,18	25,17	15,12	13,58
E.P.M.	2,96	2,10	1,67	25,17	15,12	13,57	7,06	7,06	8,39	5,04	4,53

Ondansetron 3,0 nmol

SUJEITO	TE	EBA	EBF	TBA	TBF	TC	%EBA	%EBF	%TBA	%TBF	%TC
1	16,00	10,00	6,00	171,14	49,24	79,62	62,50	37,50	57,04	16,41	26,54
2	19,00	12,00	7,00	115,67	96,80	87,53	63,15	36,84	38,55	32,26	29,17
3	7,00	3,00	4,00	104,28	26,81	168,91	42,85	57,14	34,76	8,93	56,30
4	4,00	0,00	4,00	0,00	272,45	27,55	0,00	100,00	0,00	90,81	9,18
5	19,00	5,00	14,00	30,52	182,27	87,21	26,31	73,68	10,17	60,75	29,07
6	8,00	5,00	3,00	139,13	89,33	71,54	62,50	37,50	46,38	29,78	23,85
7	19,00	9,00	10,00	90,57	125,40	84,03	47,37	52,63	30,19	41,80	28,01
8	18,00	10,00	8,00	115,34	107,05	77,61	55,56	44,44	38,45	35,68	25,87
9	24,00	15,00	9,00	100,28	87,30	112,42	62,50	37,50	33,43	29,10	37,47
10	13,00	7,00	6,00	156,07	42,73	101,20	53,85	46,15	52,02	14,24	33,73
11	18,00	5,00	13,00	53,06	171,54	75,40	27,78	72,22	17,69	57,18	25,13
MÉDIA	15,00	7,36	7,64	97,82	113,72	88,46	45,85	54,15	32,61	37,90	29,48
D.P.M.	6,21	4,32	3,61	52,25	71,94	34,05	20,28	20,28	17,42	23,98	11,35
E.P.M.	1,87	1,30	1,09	15,75	21,69	10,27	6,11	6,11	5,25	7,23	3,42

Quadro 2: Registro das medidas etológicas em camundongos submetidos ao LCE após microinjeção intra-amídala ondansetron (0, 0,03, 0,3, 1,0 e 3,0 nmol/0,1µl).

Controle

SUJEITO	% ESTICADAS			%LEVANTAMENTOS			% Mergulhos			% IMOBILIDADE		
	Total	Prot.	Desp.	Total	Prot.	Desp.	Total	Prot.	Desp.	Total	Prot.	Desp.
1	36,0	58,3	41,7	17,0	100,0	0,0	43,0	53,5	46,5	0,0	0,0	0,0
2	48,0	81,3	18,8	34,0	97,1	2,9	27,0	59,3	40,7	0,0	0,0	0,0
3	34,0	91,2	8,8	4,0	100,0	0,0	7,0	57,1	42,9	34,2	100	0,0
4	89,0	98,9	1,1	28,0	100,0	0,0	31,0	93,5	6,5	0,0	0,0	0,0
5	43,0	86,0	37,2	30,0	100,0	0,0	38,0	60,5	39,5	0,0	0,0	0,0
6	53,0	100,0	0,0	22,0	100,0	0,0	10,0	100,0	0,0	17,6	100	0,0
7	28,0	85,7	14,3	4,0	100,0	0,0	11,0	63,6	36,4	65,6	100	0,0
8	33,0	87,9	12,1	11,0	100,0	0,0	10,0	80,0	20,0	20,0	100	0,0
9	38,0	52,6	47,4	18,0	100,0	0,0	52,0	15,4	84,6	52,0	91,7	8,3
10	53,0	90,6	9,4	19,0	100,0	0,0	32,0	68,8	31,3	0,0	0,0	0,0
11	36,0	69,4	30,6	42,0	100,0	0,0	39,0	66,7	33,3	0,0	0,0	0,0
12	48,0	70,8	29,2	15,0	100,0	0,0	7,0	71,4	28,6	0,0	0,0	0,0
MÉDIA	44,9	81,1	20,9	20,3	99,8	0,2	25,6	65,8	34,2	15,8	41,0	0,7
D.P.M.	16,1	15,2	15,9	11,6	0,9	0,8	15,9	21,4	21,4	23,1	50,7	2,4
E.P.M.	4,6	4,4	4,6	3,3	0,2	0,2	4,6	6,2	6,2	6,7	14,6	0,7

Ondansetron 0,03 nmol

SUJEITO	% ESTICADAS			%LEVANTAMENTOS			% Mergulhos			% IMOBILIDADE		
	Total	Prot.	Desp.	Total	Prot.	Desp.	Total	Prot.	Desp.	Total	Prot.	Desp.
1	23,0	44,0	19,0	17,0	10,0	69,6	30,4	22,7	77,3	0,0	94,8	5,2
2	41,0	17,0	7,0	15,5	102,5	92,7	7,3	70,6	29,4	0,0	100,0	0,0
3	32,0	22,0	15,0	7,0	60,5	96,9	3,1	63,6	36,4	0,0	100,0	0,0
4	42,0	39,0	25,0	0,0	0,0	95,2	4,8	64,1	35,9	100,0	0,0	100,0
5	49,0	9,0	10,0	1,3	14,1	100,0	0,0	100,0	0,0	0,0	100,0	0,0
6	33,0	79,0	16,0	0,0	0,0	87,9	12,1	44,3	55,7	100,0	0,0	100,0
7	39,0	32,0	33,0	30,8	0,0	92,3	7,7	53,1	46,9	0,0	0,0	100,0
8	34,0	54,0	13,0	7,3	46,8	76,5	23,5	38,9	61,1	0,0	100,0	0,0
9	39,0	58,0	4,0	11,8	2,6	56,4	43,6	19,0	81,0	0,0	0,0	100,0
10	19,0	37,0	27,0	5,2	37,2	89,5	10,5	43,2	56,8	0,0	79,9	20,1
11	16,0	45,0	13,0	37,9	3,6	56,3	43,8	17,8	82,2	0,0	95,2	4,8
MÉDIA	33,4	39,6	16,5	12,2	25,2	83,0	17,0	48,9	51,1	18,2	60,9	39,1
D.P.M.	10,3	19,9	8,8	12,5	33,3	15,9	15,9	25,0	25,0	40,5	48,6	48,6
E.P.M.	3,1	6,0	2,7	3,8	10,0	4,8	4,8	7,5	7,5	12,2	14,7	14,7

Ondansetron 0,3 nmol

SUJEITO	% ESTICADAS			%LEVANTAMENTOS			% MERGULHOS			% IMOBILIDADE		
	Total	Prot.	Desp.	Total	Prot.	Desp.	Total	Prot.	Desp.	Total	Prot.	Desp.
1	21,0	107,0	37,0	0,0	0,0	71,4	28,6	10,3	89,7	100,0	0,0	100,0
2	19,0	63,0	36,0	23,0	2,9	57,9	42,1	19,0	81,0	0,0	100,0	0,0
3	24,0	35,0	6,0	11,2	127,9	79,2	20,8	42,9	57,1	0,0	92,7	7,3
4	27,0	41,0	16,0	11,0	36,9	88,9	11,1	36,6	63,4	0,0	77,1	22,9
5	20,0	81,0	21,0	3,8	0,0	60,0	40,0	11,1	88,9	0,0	0,0	100,0
6	48,0	55,0	16,0	0,0	0,0	68,8	31,3	43,6	56,4	100,0	0,0	100,0
7	48,0	29,0	12,0	13,2	67,5	97,9	2,1	72,4	27,6	0,0	98,7	1,3
8	41,0	48,0	13,0	9,4	73,0	90,2	9,8	41,7	58,3	0,0	95,3	4,7
MÉDIA	31,0	57,4	19,6	8,9	38,5	76,8	23,2	34,7	65,3	25,0	58,0	42,0
D.P.M.	12,6	26,0	11,2	7,7	47,4	14,7	14,7	20,8	20,8	46,3	48,5	48,5
E.P.M.	4,4	9,2	4,0	2,7	16,8	5,2	5,2	7,3	7,3	16,4	17,1	17,1

Ondansetron 1,0 nmol

SUJEITO	% ESTICADAS			%LEVANTAMENTOS			% MERGULHOS			% IMOBILIDADE		
	Total	Prot.	Desp.	Total	Prot.	Desp.	Total	Prot.	Desp.	Total	Prot.	Desp.
1	6,0	50,0	50,0	32,0	91,0	9,0	63,0	11,0	89,0	0,0	0,0	0,0
2	8,0	38,0	63,0	30,0	93,0	7,0	42,0	17,0	83,0	34,5	0,0	100,0
3	15,0	100,0	0,0	43,0	98,0	2,0	35,0	86,0	14,0	0,0	0,0	0,0
4	41,0	46,0	54,0	12,0	92,0	8,0	21,0	33,0	67,0	0,0	0,0	0,0
5	57,0	18,0	82,0	20,0	95,0	5,0	52,0	6,0	94,0	0,0	0,0	0,0
6	49,0	73,0	27,0	20,0	90,0	10,0	40,0	53,0	48,0	0,0	0,0	0,0
7	28,0	82,0	18,0	42,0	95,0	5,0	34,0	47,0	53,0	0,0	0,0	0,0
8	42,0	98,0	2,0	19,0	100,0	0,0	17,0	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0
9	16,0	63,0	38,0	5,0	60,0	4,0	38,0	13,0	87,0	61,9	18,0	82,0
MÉDIA	29,1	63,1	37,1	24,8	90,4	5,6	38,0	40,7	59,4	10,7	2,0	20,2
D.P.M.	18,8	27,8	27,9	12,9	11,9	3,3	14,1	34,0	33,9	22,3	6,0	40,4
E.P.M.	6,3	9,3	9,3	4,3	4,0	1,1	4,7	11,3	11,3	7,4	2,0	13,5

Ondansetron 3,0 nmol

SUJEITO	% ESTICADAS			%LEVANTAMENTOS			% MERGULHOS			% IMOBILIDADE		
	Total	Prot.	Desp.	Total	Prot.	Desp.	Total	Prot.	Desp.	Total	Prot.	Desp.
1	49,0	57,1	42,9	4,0	75,0	25,0	38,0	68,4	31,6	8,5	47,6	52,4
2	61,0	59,0	41,0	7,0	85,7	14,3	44,0	36,4	63,6	0,0	0,0	0,0
3	20,0	90,0	10,0	2,0	100,0	0,0	20,0	70,0	30,0	136,1	52,5	47,5
4	19,0	0,0	100,0	0,0	0,0	0,0	10,0	0,0	100,0	81,3	0,0	100,0
5	21,0	95,2	4,8	27,0	100,0	0,0	25,0	72,0	28,0	5,8	100,0	0,0
6	20,0	40,0	60,0	13,0	92,3	7,7	18,0	50,0	50,0	8,7	0,0	100,0
7	43,0	44,2	55,8	24,0	95,8	4,2	43,0	30,2	69,8	4,1	0,0	100,0
8	52,0	46,2	53,9	10,0	100,0	0,0	20,0	35,0	65,0	0,0	0,0	0,0
9	43,0	53,5	46,5	21,0	100,0	0,0	60,0	40,0	60,0	0,0	0,0	0,0
10	47,0	57,5	42,6	4,0	100,0	0,0	52,0	26,9	73,1	0,0	0,0	0,0
11	71,0	74,7	25,4	20,0	100,0	0,0	12,0	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0
MÉDIA	40,5	56,1	43,9	12,0	86,3	4,6	31,1	48,1	51,9	22,2	18,2	36,4
D.P.M.	18,1	25,9	25,9	9,6	29,7	8,2	17,0	27,6	27,6	44,6	33,7	45,2
E.P.M.	5,5	7,8	7,8	2,9	9,0	2,5	5,1	8,3	8,3	13,4	10,2	13,6

Quadro 3: Registro das medidas convencionais em camundongos submetidos ao LCE após microinjeção intra-amídala de mCPBG (0, 10, 20, 40, 80 e 160 nmol/0,1µl).

Controle

SUJEITO	TE	EBA	EBF	TBA	TBF	TC	%EBA	%EBF	%TBA	%TBF	%TC
1	23,00	16,00	7,00	92,47	68,48	139,05	69,57	30,43	30,82	22,83	46,35
2	18,00	10,00	8,00	142,96	138,86	18,18	55,56	44,44	47,65	46,29	6,06
3	8,00	6,00	2,00	212,70	80,64	6,66	75,00	25,00	70,90	26,88	2,22
4	14,00	9,00	5,00	105,95	76,78	117,27	64,29	35,71	35,32	25,59	39,09
5	2,00	1,00	1,00	2,92	2,50	294,58	50,00	50,00	0,97	0,83	98,19
6	17,00	5,00	12,00	90,36	126,67	82,97	29,41	70,59	30,12	42,22	27,66
7	15,00	4,00	11,00	53,57	159,71	86,73	26,67	73,33	17,86	53,24	28,91
8	6,00	4,00	2,00	141,81	57,63	100,56	66,67	33,33	47,27	19,21	33,52
9	14,00	3,00	11,00	55,19	168,09	76,72	21,43	78,57	18,40	56,03	25,57
10	16,00	4,00	12,00	39,70	152,80	107,50	25,00	75,00	13,23	50,93	35,83
MÉDIA	13,30	6,20	7,10	93,76	103,22	103,02	48,36	51,64	31,25	34,41	34,34
D.P.M.	6,24	4,37	4,38	60,84	54,07	78,93	20,83	20,83	20,28	18,02	26,31
E.P.M.	1,97	1,38	1,39	19,24	17,10	24,96	6,59	6,59	6,41	5,70	8,32

mCPBG 10 nmol

SUJEITO	TE	EBA	EBF	TBA	TBF	TC	%EBA	%EBF	%TBA	%TBF	%TC
1	14,00	2,00	12,00	15,03	219,75	65,21	14,29	85,71	5,01	73,25	21,74
2	13,00	0,00	13,00	0,00	173,41	126,59	0,00	100,00	0,00	57,80	42,20
3	16,00	6,00	10,00	49,56	166,33	84,10	37,50	62,50	16,52	55,44	28,03
4	7,00	3,00	4,00	206,00	56,59	37,41	42,86	57,14	68,67	18,86	12,47
5	2,00	0,00	2,00	0,00	291,56	8,44	0,00	100,00	0,00	97,19	2,81
6	23,00	11,00	12,00	83,00	134,01	82,99	47,83	52,17	27,67	44,67	27,66
7	19,00	7,00	12,00	76,61	154,98	68,41	36,84	63,16	25,54	51,66	22,80
8	17,00	5,00	12,00	31,38	185,42	83,20	29,41	70,59	10,46	61,81	27,73
9	18,00	7,00	11,00	45,83	171,55	82,63	38,89	61,11	15,28	57,18	27,54
10	14,00	0,00	14,00	0,00	192,15	107,86	0,00	100,00	0,00	64,05	35,95
MÉDIA	14,30	4,10	10,20	50,74	174,58	74,68	24,76	75,24	16,91	58,19	24,89
D.P.M.	6,04	3,73	3,97	62,55	59,80	33,33	19,26	19,26	20,85	19,93	11,11
E.P.M.	1,91	1,18	1,25	19,78	18,91	10,54	6,09	6,09	6,59	6,30	3,51

mCPBG 20 nmol

SUJEITO	TE	EBA	EBF	TBA	TBF	TC	%EBA	%EBF	%TBA	%TBF	%TC
1	1,00	0,00	1,00	0,00	299,05	0,95	0,00	100,00	0,00	99,68	0,32
2	13,00	5,00	8,00	22,78	218,09	59,12	38,46	61,54	7,59	72,70	19,71
3	12,00	5,00	7,00	101,91	170,47	27,63	41,67	58,33	33,97	56,82	9,21
4	15,00	5,00	10,00	60,86	180,14	59,00	33,33	66,67	20,29	60,05	19,67
5	12,00	4,00	8,00	49,53	83,64	166,83	33,33	66,67	16,51	27,88	55,61
6	6,00	3,00	3,00	35,97	187,10	76,94	50,00	50,00	11,99	62,37	25,65
7	9,00	3,00	6,00	38,94	58,00	203,06	33,33	66,67	12,98	19,33	67,69
8	11,00	3,00	8,00	46,75	115,33	137,92	27,27	72,73	15,58	38,44	45,97
9	19,00	3,00	16,00	20,62	123,81	155,57	15,79	84,21	6,87	41,27	51,86
10	17,00	8,00	9,00	84,92	155,09	59,99	47,06	52,94	28,31	51,70	20,00
MÉDIA	11,50	3,90	7,60	46,23	159,07	94,70	32,02	67,98	15,41	53,02	31,57
D.P.M.	5,25	2,08	4,03	30,41	69,53	66,55	14,91	14,91	10,14	23,18	22,18
E.P.M.	1,66	0,66	1,28	9,62	21,99	21,05	4,71	4,71	3,21	7,33	7,02

mCPBG 40 nmol

SUJEITO	TE	EBA	EBF	TBA	TBF	TC	%EBA	%EBF	%TBA	%TBF	%TC
1	25,00	13,00	12,00	158,60	103,62	37,78	52,00	48,00	52,87	34,54	12,59
2	20,00	4,00	16,00	18,25	161,34	120,41	20,00	80,00	6,08	53,78	40,14
3	23,00	11,00	12,00	131,14	101,61	67,25	47,83	52,17	43,71	33,87	22,42
4	17,00	8,00	9,00	72,21	163,78	64,01	47,06	52,94	24,07	54,59	21,34
5	14,00	2,00	12,00	15,25	146,82	137,93	14,29	85,71	5,08	48,94	45,98
6	11,00	5,00	6,00	115,91	150,38	33,72	45,45	54,55	38,64	50,13	11,24
7	15,00	6,00	9,00	32,86	165,70	101,44	40,00	60,00	10,95	55,23	33,81
8	15,00	8,00	7,00	103,88	143,68	52,45	53,33	46,67	34,63	47,89	17,48
9	30,00	16,00	14,00	108,20	120,33	71,47	53,33	46,67	36,07	40,11	23,82
MÉDIA	18,89	8,11	10,78	84,03	139,70	76,27	41,48	58,52	28,01	46,57	25,42
D.P.M.	6,11	4,51	3,27	51,95	25,08	36,23	14,50	14,50	17,32	8,36	12,08
E.P.M.	2,04	1,50	1,09	17,32	8,36	12,08	4,83	4,83	5,77	2,79	4,03

mCPBG 80 nmol

SUJEITO	TE	EBA	EBF	TBA	TBF	TC	%EBA	%EBF	%TBA	%TBF	%TC
1	10,00	5,00	5,00	88,13	98,43	113,45	50,00	50,00	29,38	32,81	37,82
2	17,00	8,00	9,00	43,78	148,01	108,21	47,06	52,94	14,59	49,34	36,07
3	26,00	18,00	8,00	185,86	55,66	58,48	69,23	30,77	61,95	18,55	19,49
4	28,00	19,00	9,00	147,12	81,30	71,58	67,86	32,14	49,04	27,10	23,86
5	30,00	14,00	16,00	87,10	127,23	85,67	46,67	53,33	29,03	42,41	28,56
6	28,00	12,00	16,00	99,56	91,46	108,98	42,86	57,14	33,19	30,49	36,33
7	9,00	3,00	6,00	48,50	159,36	92,14	33,33	66,67	16,17	53,12	30,71
8	18,00	13,00	5,00	163,60	70,50	65,90	72,22	27,78	54,53	23,50	21,97
9	32,00	22,00	10,00	190,26	66,43	43,31	68,75	31,25	63,42	22,14	14,44
10	11,00	8,00	3,00	118,28	56,28	125,44	72,73	27,27	39,43	18,76	41,81
MÉDIA	20,90	12,20	8,70	117,22	95,47	87,32	57,07	42,93	39,07	31,82	29,11
D.P.M.	8,91	6,25	4,42	52,99	37,51	26,96	14,53	14,53	17,66	12,50	8,99
E.P.M.	2,82	1,98	1,40	16,76	11,86	8,53	4,59	4,59	5,59	3,95	2,84

mCPBG 160 nmol

SUJEITO	TE	EBA	EBF	TBA	TBF	TC	%EBA	%EBF	%TBA	%TBF	%TC
1	23,00	17,00	6,00	122,38	98,24	79,38	73,91	26,09	40,79	32,75	26,46
2	9,00	2,00	7,00	28,55	141,52	129,94	22,22	77,78	9,52	47,17	43,31
3	19,00	7,00	12,00	95,13	132,02	72,86	36,84	63,16	31,71	44,01	24,29
4	19,00	4,00	15,00	24,84	99,38	175,78	21,05	78,95	8,28	33,13	58,59
5	33,00	22,00	11,00	166,22	64,61	69,17	66,67	33,33	55,41	21,54	23,06
6	15,00	12,00	3,00	211,99	59,16	28,86	80,00	20,00	70,66	19,72	9,62
7	11,00	1,00	10,00	26,28	209,97	63,75	9,09	90,91	8,76	69,99	21,25
MÉDIA	18,43	9,29	9,14	96,48	114,98	88,53	44,26	55,74	32,16	38,33	29,51
D.P.M.	8,06	7,99	4,06	74,78	51,95	48,66	28,79	28,79	24,93	17,32	16,22
E.P.M.	3,05	3,02	1,53	28,26	19,64	18,39	10,88	10,88	9,42	6,55	6,13

Quadro 4: Registro das medidas etológicas em camundongos submetidos ao LCE após microinjeção intra-amídala de mCPBG (0, 10, 20, 40, 80 e 160 nmol/0,1µl).

Controle

SUJEITO	% ESTICADAS			% LEVANTAMENTOS			% MERGULHOS			% IMOBILIDADE		
	Total	Prot.	Desp.	Total	Prot.	Desp.	Total	Prot.	Desp.	Total	Prot.	Desp.
1	48,0	38,0	10,0	78,0	36,0	42,0	12,0	12,0	0,0	0,0	0,0	0,0
2	23,0	9,0	14,0	53,0	16,0	37,0	17,0	17,0	0,0	2,7	2,7	0,0
3	0,0	0,0	0,0	56,0	0,0	56,0	26,0	26,0	0,0	15,6	15,6	0,0
4	1,0	0,0	1,0	40,0	0,0	40,0	1,0	1,0	0,0	147,7	44,5	103,3
5	0,0	0,0	0,0	117,0	2,0	115,0	1,0	1,0	0,0	0,0	0,0	0,0
6	57,0	37,0	20,0	28,0	6,0	22,0	4,0	4,0	0,0	0,0	0,0	0,0
7	59,0	48,0	11,0	25,0	11,0	14,0	17,0	17,0	0,0	0,0	0,0	0,0
8	58,0	34,0	24,0	40,0	12,0	28,0	4,0	4,0	0,0	8,7	0,0	8,7
9	57,0	51,0	6,0	26,0	13,0	13,0	20,0	20,0	0,0	0,0	0,0	0,0
10	59,0	52,0	7,0	24,0	15,0	9,0	21,0	21,0	0,0	0,0	0,0	0,0
MÉDIA	36,2	26,9	9,3	48,7	11,1	37,6	12,3	12,3	0,0	17,5	6,3	11,2
D.P.M.	27,0	22,2	8,3	29,6	10,6	31,0	9,2	9,2	0,0	46,1	14,3	32,5
E.P.M.	8,5	7,0	2,6	9,3	3,4	9,8	2,9	2,9	0,0	14,6	4,5	10,3

mCPBG 10 nmol

SUJEITO	% ESTICADAS			% LEVANTAMENTOS			% MERGULHOS			% IMOBILIDADE		
	Total	Prot.	Desp.	Total	Prot.	Desp.	Total	Prot.	Desp.	Total	Prot.	Desp.
1	48,0	38,0	10,0	78,0	36,0	42,0	12,0	12,0	0,0	0,0	0,0	0,0
2	23,0	9,0	14,0	53,0	16,0	37,0	17,0	17,0	0,0	2,7	2,7	0,0
3	0,0	0,0	0,0	56,0	0,0	56,0	26,0	26,0	0,0	15,6	15,6	0,0
4	1,0	0,0	1,0	40,0	0,0	40,0	1,0	1,0	0,0	147,7	44,5	103,3
5	0,0	0,0	0,0	117,0	2,0	115,0	1,0	1,0	0,0	0,0	0,0	0,0
6	57,0	37,0	20,0	28,0	6,0	22,0	4,0	4,0	0,0	0,0	0,0	0,0
7	59,0	48,0	11,0	25,0	11,0	14,0	17,0	17,0	0,0	0,0	0,0	0,0
8	58,0	34,0	24,0	40,0	12,0	28,0	4,0	4,0	0,0	8,7	0,0	8,7
9	57,0	51,0	6,0	26,0	13,0	13,0	20,0	20,0	0,0	0,0	0,0	0,0
10	59,0	52,0	7,0	24,0	15,0	9,0	21,0	21,0	0,0	0,0	0,0	0,0
MÉDIA	36,2	26,9	9,3	48,7	11,1	37,6	12,3	12,3	0,0	17,5	6,3	11,2
D.P.M.	27,0	22,2	8,3	29,6	10,6	31,0	9,2	9,2	0,0	46,1	14,3	32,5
E.P.M.	8,5	7,0	2,6	9,3	3,4	9,8	2,9	2,9	0,0	14,6	4,5	10,3

mCPBG 20 nmol

SUJEITO	% ESTICADAS			% LEVANTAMENTOS			% MERGULHOS			% IMOBILIDADE		
	Total	Prot.	Desp.	Total	Prot.	Desp.	Total	Prot.	Desp.	Total	Prot.	Desp.
1	4,0	4,0	0,0	1,0	1,0	0,0	0,0	0,0	0,0	285,2	285,2	0,0
2	40,0	33,0	7,0	40,0	23,0	17,0	6,0	6,0	0,0	76,0	76,0	0,0
3	15,0	11,0	4,0	62,0	18,0	44,0	6,0	6,0	0,0	21,8	19,2	2,6
4	13,0	2,0	11,0	78,0	7,0	71,0	14,0	14,0	0,0	20,7	0,0	20,7
5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	2,0	2,0	0,0	253,6	253,6	0,0
6	20,0	18,0	2,0	82,0	17,0	65,0	5,0	5,0	0,0	10,9	0,0	10,9
7	13,0	12,0	1,0	30,0	9,0	21,0	24,0	24,0	0,0	6,6	6,6	0,0
8	5,0	4,0	1,0	17,0	11,0	6,0	0,0	0,0	0,0	192,2	136,2	56,0
9	13,0	11,0	2,0	8,0	5,0	3,0	2,0	2,0	0,0	212,8	212,8	0,0
10	28,0	25,0	3,0	23,0	10,0	13,0	5,0	5,0	0,0	168,4	162,9	5,5
MÉDIA	15,1	12,0	3,1	34,1	10,1	24,0	6,4	6,4	0,0	124,8	115,3	9,6
D.P.M.	11,9	10,6	3,5	30,6	7,4	26,6	7,4	7,4	0,0	109,2	110,3	17,6
E.P.M.	3,8	3,4	1,1	9,7	2,4	8,4	2,3	2,3	0,0	34,5	34,9	5,6

mCPBG 40 nmol

SUJEITO	% ESTICADAS			% LEVANTAMENTOS			% MERGULHOS			% IMOBILIDADE		
	Total	Prot.	Desp.	Total	Prot.	Desp.	Total	Prot.	Desp.	Total	Prot.	Desp.
1	30	12	18	79	6	73	19	19	0	0	0	0
2	43,0	38,0	5,0	37,0	31,0	6,0	41,0	41,0	0,0	1,5	1,5	0,0
3	23,0	17,0	6,0	78,0	18,0	60,0	25,0	25,0	0,0	0,0	0,0	0,0
4	28,0	23,0	5,0	47,0	14,0	33,0	10,0	10,0	0,0	4,0	4,0	0,0
5	61,0	57,0	4,0	28,0	24,0	4,0	14,0	14,0	0,0	2,1	2,1	0,0
6	32,0	17,0	15,0	42,0	5,0	37,0	11,0	11,0	0,0	85,5	67,5	18,0
7	30,0	26,0	4,0	37,0	25,0	12,0	10,0	10,0	0,0	74,2	72,9	1,4
8	9,0	7,0	2,0	34,0	6,0	28,0	9,0	9,0	0,0	37,5	33,4	4,0
9	23,0	16,0	7,0	83,0	25,0	58,0	39,0	39,0	0,0	0,0	0,0	0,0
MÉDIA	31,0	23,7	7,3	51,7	17,1	34,6	19,8	19,8	0,0	22,8	20,2	2,6
D.P.M.	14,4	15,3	5,4	21,9	9,8	25,0	12,6	12,6	0,0	34,6	30,3	5,9
E.P.M.	4,8	5,1	1,8	7,3	3,3	8,3	4,2	4,2	0,0	11,5	10,1	2,0

mCPBG 80 nmol

SUJEITO	% ESTICADAS			% LEVANTAMENTOS			% MERGULHOS			% IMOBILIDADE		
	Total	Prot.	Desp.	Total	Prot.	Desp.	Total	Prot.	Desp.	Total	Prot.	Desp.
1	28,0	20,0	8,0	73,0	12,0	61,0	13,0	13,0	0,0	12,8	1,1	11,6
2	16,0	6,0	10,0	92,0	7,0	85,0	23,0	23,0	0,0	1,4	0,0	1,4
3	24,0	11,0	13,0	62,0	14,0	48,0	38,0	38,0	0,0	0,0	0,0	0,0
4	29,0	21,0	8,0	43,0	16,0	27,0	13,0	13,0	0,0	7,1	7,1	0,0
5	40,0	31,0	9,0	43,0	15,0	28,0	19,0	19,0	0,0	19,7	15,5	4,1
6	47,0	20,0	27,0	58,0	5,0	53,0	10,0	10,0	0,0	36,6	3,8	32,8
7	44,0	22,0	22,0	67,0	11,0	56,0	6,0	6,0	0,0	0,8	0,8	0,0
8	4,0	4,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	251,3	251,3	0,0
9	38,0	29,0	9,0	52,0	21,0	31,0	38,0	38,0	0,0	0,0	0,0	0,0
10	77,0	53,0	24,0	43,0	23,0	20,0	12,0	12,0	0,0	0,0	0,0	0,0
MÉDIA	34,7	21,7	13,0	53,3	12,4	40,9	17,2	17,2	0,0	33,0	28,0	5,0
D.P.M.	19,9	14,1	8,6	24,3	7,1	24,4	12,6	12,6	0,0	77,6	78,6	10,4
E.P.M.	6,3	4,5	2,7	7,7	2,2	7,7	4,0	4,0	0,0	24,6	24,9	3,3

mCPBG 160 nmol

SUJEITO	% ESTICADAS			% LEVANTAMENTOS			% MERGULHOS			% IMOBILIDADE		
	Total	Prot.	Desp.	Total	Prot.	Desp.	Total	Prot.	Desp.	Total	Prot.	Desp.
1	21,0	18,0	3,0	70,0	15,0	55,0	19,0	19,0	0,0	0,0	0,0	0,0
2	30,0	30,0	0,0	29,0	18,0	11,0	8,0	8,0	0,0	6,4	6,4	0,0
3	23,0	19,0	4,0	53,0	17,0	36,0	19,0	19,0	0,0	2,7	1,2	1,5
4	67,0	62,0	5,0	64,0	52,0	12,0	16,0	16,0	0,0	0,0	0,0	0,0
5	24,0	19,0	5,0	94,0	12,0	82,0	13,0	13,0	0,0	0,0	0,0	0,0
6	15,0	8,0	7,0	80,0	4,0	76,0	8,0	8,0	0,0	40,8	0,7	40,0
7	47,0	44,0	3,0	10,0	6,0	4,0	0,0	0,0	0,0	34,8	34,8	0,0
MÉDIA	32,4	28,6	3,9	57,1	17,7	39,4	11,9	11,9	0,0	12,1	6,1	5,9
D.P.M.	18,3	18,6	2,2	29,2	16,0	32,2	7,0	7,0	0,0	17,8	12,8	15,0
E.P.M.	6,9	7,0	0,8	11,0	6,1	12,2	2,6	2,6	0,0	6,7	4,9	5,7

Quadro 5: Registro das medidas convencionais em camundongos submetidos ao LCE após injeção combinada de ondansetron (0,03 nmol/0,1µl) e mCPBG (10 nmol/0,1µl) na amídala.

Controle (V+V)

SUJEITO	TE	EBA	EBF	TBA	TBF	TC	%EBA	%EBF	%TBA	%TBF	%TC
1	27,00	18,00	9,00	172,41	68,38	59,22	66,67	33,33	57,47	22,79	19,74
2	25,00	16,00	9,00	137,84	103,59	58,56	64,00	36,00	45,95	34,53	19,52
3	28,00	19,00	9,00	162,20	53,92	83,88	67,86	32,14	54,07	17,97	27,96
4	20,00	11,00	9,00	148,44	103,88	47,69	55,00	45,00	49,48	34,63	15,90
5	31,00	17,00	14,00	142,23	91,57	66,20	54,84	45,16	47,41	30,52	22,07
6	3,00	1,00	2,00	102,70	171,02	26,28	33,33	66,67	34,23	57,01	8,76
7	23,00	10,00	13,00	79,69	116,75	103,56	43,48	56,52	26,56	38,92	34,52
8	24,00	9,00	15,00	73,05	133,36	93,59	37,50	62,50	24,35	44,45	31,20
9	16,00	6,00	10,00	71,97	148,81	79,22	37,50	62,50	23,99	49,60	26,41
10	18,00	9,00	9,00	77,03	132,33	90,64	50,00	50,00	25,68	44,11	30,21
MÉDIA	21,50	11,60	9,90	116,76	112,36	70,88	51,02	48,98	38,92	37,45	23,63
D.P.M.	7,96	5,82	3,63	39,90	35,84	23,69	12,75	12,75	13,30	11,95	7,90
E.P.M.	2,52	1,84	1,15	12,62	11,33	7,49	4,03	4,03	4,21	3,78	2,50

Veículo + mCPBG (V + mCPBG)

SUJEITO	TE	EBA	EBF	TBA	TBF	TC	%EBA	%EBF	%TBA	%TBF	%TC
1	11,00	1,00	10,00	8,02	235,48	56,50	9,09	90,91	2,67	78,49	18,83
2	8,00	1,00	7,00	21,41	172,58	106,02	12,50	87,50	7,14	57,53	35,34
3	6,00	1,00	5,00	3,14	206,05	90,82	16,67	83,33	1,05	68,68	30,27
4	5,00	0,00	5,00	0,00	266,91	33,09	0,00	100,00	0,00	88,97	11,03
5	15,00	6,00	9,00	55,07	194,46	50,48	40,00	60,00	18,36	64,82	16,83
6	12,00	0,00	12,00	0,00	212,98	87,02	0,00	100,00	0,00	70,99	29,01
7	22,00	11,00	11,00	80,52	87,10	132,39	50,00	50,00	26,84	29,03	44,13
8	20,00	9,00	11,00	102,85	60,57	136,59	45,00	55,00	34,28	20,19	45,53
9	6,00	0,00	6,00	0,00	252,30	47,70	0,00	100,00	0,00	84,10	15,90
10	10,00	1,00	9,00	2,28	255,19	42,53	10,00	90,00	0,76	85,06	14,18
MÉDIA	11,50	3,00	8,50	27,33	194,36	78,31	18,33	81,67	9,11	64,79	26,10
D.P.M.	5,89	4,11	2,59	38,24	70,22	37,76	19,39	19,39	12,75	23,41	12,59
E.P.M.	1,86	1,30	0,82	12,09	22,20	11,94	6,13	6,13	4,03	7,40	3,98

Ondansetron + veículo (OND + V)

SUJEITO	TE	EBA	EBF	TBA	TBF	TC	%EBA	%EBF	%TBA	%TBF	%TC
1	5,00	2,00	3,00	50,88	241,22	7,91	40,00	60,00	16,96	80,41	2,64
2	13,00	6,00	7,00	117,47	83,85	98,68	46,15	53,85	39,16	27,95	32,89
3	20,00	11,00	9,00	102,80	108,02	89,18	55,00	45,00	34,27	36,01	29,73
4	22,00	14,00	8,00	154,39	104,69	40,92	63,64	36,36	51,46	34,90	13,64
5	20,00	10,00	10,00	141,03	109,26	49,71	50,00	50,00	47,01	36,42	16,57
6	25,00	15,00	10,00	143,17	100,42	56,41	60,00	40,00	47,72	33,47	18,80
7	31,00	21,00	10,00	187,75	76,76	35,49	67,74	32,26	62,58	25,59	11,83
8	14,00	7,00	7,00	84,44	111,03	104,53	50,00	50,00	28,15	37,01	34,84
9	29,00	21,00	8,00	178,84	50,17	70,99	72,41	27,59	59,61	16,72	23,66
10	9,00	3,00	6,00	6,99	250,99	42,03	33,33	66,67	2,33	83,66	14,01
MÉDIA	18,80	11,00	7,80	116,78	123,64	59,58	53,83	46,17	38,93	41,21	19,86
D.P.M.	8,48	6,77	2,20	56,99	67,27	30,86	12,36	12,36	19,00	22,42	10,29
E.P.M.	2,68	2,14	0,70	18,02	21,27	9,76	3,91	3,91	6,01	7,09	3,25

Ondansetron + mCPBG (OND + mCPBG)

SUJEITO	TE	EBA	EBF	TBA	TBF	TC	%EBA	%EBF	%TBA	%TBF	%TC
1	7,00	3,00	4,00	117,20	93,60	89,20	42,85	57,15	39,07	31,20	29,73
2	25,00	14,00	11,00	121,12	115,35	63,53	56,00	44,00	40,37	38,45	21,18
3	12,00	5,00	7,00	72,35	150,79	76,87	41,66	58,34	24,12	50,26	25,62
4	12,00	2,00	10,00	25,28	207,64	67,08	16,66	83,34	8,43	69,21	22,36
5	7,00	6,00	1,00	24,88	1,92	273,20	85,71	14,29	8,29	0,64	91,07
6	18,00	4,00	14,00	25,35	162,98	111,67	22,22	77,78	8,45	54,33	37,22
7	21,00	8,00	13,00	122,10	111,90	66,00	38,10	61,90	40,70	37,30	22,00
8	14,00	8,00	6,00	75,53	39,40	185,06	57,14	42,86	25,18	13,13	61,69
MÉDIA	14,50	6,25	8,25	72,98	110,45	116,58	45,04	54,96	24,33	36,82	38,86
D.P.M.	6,44	3,81	4,53	44,00	66,51	75,02	21,75	21,75	14,67	22,17	25,01
E.P.M.	2,28	1,35	1,60	15,56	23,52	26,52	7,69	7,69	5,19	7,84	8,84

Quadro 6: Registro das medidas etológicas em camundongos submetidos ao LCE após injeção combinada de ondansetron (0,03 nmol/0,1µl) e mCPBG (10 nmol/0,1µl) na amídala.

Controle (V+V)

SUJEITO	% ESTICADAS			% LEVANTAMENTOS			% MERGULHOS			% IMOBILIDADE		
	Total	Prot.	Desp.	Total	Prot.	Desp.	Total	Prot.	Desp.	Total	Prot.	Desp.
1	11,0	45,5	54,5	100,0	16,0	84,0	11,0	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0
2	18,0	77,8	22,2	75,0	18,7	81,3	19,0	100,0	0,0	2,6	100,0	0,0
3	26,0	57,7	42,3	88,0	23,9	76,1	18,0	100,0	0,0	1,3	100,0	0,0
4	6,0	100,0	0,0	78,0	10,3	89,7	27,0	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0
5	18,0	44,4	55,6	73,0	21,9	78,1	22,0	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0
6	2,0	100,0	0,0	27,0	22,2	77,8	3,0	100,0	0,0	95,7	57,7	42,3
7	20,0	80,0	20,0	60,0	50,0	50,0	32,0	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0
8	33,0	93,9	6,1	43,0	55,8	44,2	38,0	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0
9	31,0	83,9	16,1	39,0	38,5	61,5	22,0	100,0	0,0	8,1	100,0	0,0
10	21,0	81,0	19,0	56,0	44,6	55,4	25,0	100,0	0,0	13,6	100,0	0,0
MÉDIA	18,6	76,4	23,6	63,9	30,2	69,8	21,7	100,0	0,0	12,1	45,8	4,2
D.P.M.	10,1	20,7	20,7	23,1	15,7	15,7	10,0	0,0	0,0	29,7	49,9	13,4
E.P.M.	3,2	6,5	6,5	7,3	5,0	5,0	3,2	0,0	0,0	9,4	15,8	4,2

Veículo + mCPBG (V + mCPBG)

SUJEITO	% ESTICADAS			% LEVANTAMENTOS			% MERGULHOS			% IMOBILIDADE		
	Total	Prot.	Desp.	Total	Prot.	Desp.	Total	Prot.	Desp.	Total	Prot.	Desp.
1	31,0	100,0	0,0	13,0	69,2	30,8	25,0	100,0	0,0	25,7	100,0	0,0
2	46,0	100,0	0,0	25,0	80,0	20,0	8,0	100,0	0,0	24,8	100,0	0,0
3	30,0	100,0	0,0	20,0	90,0	10,0	11,0	100,0	0,0	33,3	100,0	0,0
4	34,0	100,0	0,0	8,0	100,0	0,0	28,0	100,0	0,0	69,1	100,0	0,0
5	33,0	72,7	27,3	31,0	45,2	54,8	14,0	100,0	0,0	19,8	100,0	0,0
6	56,0	100,0	0,0	12,0	100,0	0,0	11,0	100,0	0,0	18,8	100,0	0,0
7	39,0	89,7	10,3	50,0	48,0	52,0	13,0	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0
8	39,0	92,3	7,7	79,0	43,0	57,0	19,0	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0
9	42,0	100,0	0,0	13,0	100,0	0,0	9,0	100,0	0,0	42,5	100,0	0,0
10	57,0	100,0	0,0	19,0	89,5	10,5	13,0	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0
MÉDIA	40,7	95,5	4,5	27,0	76,5	23,5	15,1	100,0	0,0	23,4	70,0	0,0
D.P.M.	9,7	8,8	8,8	22,0	23,5	23,5	6,8	0,0	0,0	21,7	48,3	0,0
E.P.M.	3,1	2,8	2,8	6,9	7,4	7,4	2,1	0,0	0,0	6,9	15,3	0,0

Ondansetron + veículo (OND + V)

SUJEITO	% ESTICADAS			% LEVANTAMENTOS			% MERGULHOS			% IMOBILIDADE		
	Total	Prot.	Desp.	Total	Prot.	Desp.	Total	Prot.	Desp.	Total	Prot.	Desp.
1	1,0	0,0	100,0	20,0	5,0	95,0	6,0	100,0	0,0	189,0	99,5	0,5
2	20,0	75,0	25,0	52,0	32,7	67,3	11,0	100,0	0,0	10,3	0,0	0,0
3	30,0	76,7	23,3	56,0	21,4	78,6	22,0	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0
4	22,0	77,3	22,7	71,0	5,6	94,4	14,0	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0
5	14,0	78,6	21,4	72,0	16,7	83,3	21,0	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0
6	9,0	66,7	33,3	60,0	13,3	86,7	16,0	100,0	0,0	0,7	100,0	0,0
7	6,0	50,0	50,0	98,0	5,1	94,9	28,0	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0
8	16,0	100,0	0,0	51,0	31,4	68,6	20,0	100,0	0,0	34,1	81,4	18,6
9	16,0	75,0	25,0	98,0	19,4	80,6	12,0	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0
10	29,0	100,0	0,0	15,0	80,0	20,0	17,0	100,0	0,0	36,5	100,0	0,0
MÉDIA	16,3	69,9	30,1	59,3	23,1	76,9	16,7	100,0	0,0	27,1	38,1	1,9
D.P.M.	9,4	28,5	28,5	27,8	22,4	22,4	6,3	0,0	0,0	58,7	49,5	5,9
E.P.M.	3,0	9,0	9,0	8,8	7,1	7,1	2,0	0,0	0,0	18,6	15,6	1,9

Ondansetron + mCPBG (OND + mCPBG)

SUJEITO	% ESTICADAS			% LEVANTAMENTOS			% MERGULHOS			% IMOBILIDADE		
	Total	Prot.	Desp.	Total	Prot.	Desp.	Total	Prot.	Desp.	Total	Prot.	Desp.
1	40,0	57,5	42,5	41,0	14,6	85,4	2,0	100,0	0,0	12,5	100,0	0,0
2	57,0	49,1	50,9	63,0	23,8	76,2	23,0	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0
3	39,0	59,0	41,0	38,0	23,7	76,3	27,0	100,0	0,0	7,0	100,0	0,0
4	52,0	90,4	9,6	14,0	50,0	50,0	20,0	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0
5	80,0	90,0	10,0	32,0	84,4	15,6	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
6	74,0	89,2	10,8	34,0	70,6	29,4	23,0	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0
7	40,0	55,0	45,0	55,0	23,6	76,4	11,0	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0
8	76,0	80,3	19,7	87,0	54,0	46,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
MÉDIA	57,3	71,3	28,7	45,5	43,1	56,9	13,3	75,0	0,0	2,4	25,0	0,0
D.P.M.	17,3	17,8	17,8	22,4	25,5	25,5	11,4	46,3	0,0	4,7	46,3	0,0
E.P.M.	6,1	6,3	6,3	7,9	9,0	9,0	4,0	16,4	0,0	1,7	16,4	0,0

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](#)