

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

**Efeitos Farmacológicos de Drogas Ditas Ansiolíticas e Ansiogênicas  
Administradas em Ratos Testados no Labirinto em Cruz Elevado na  
Presença e Ausência de Luminosidade.**

Andrea Milena Garcia Becerra

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

Ribeirão Preto - SP

**2004**

## FICHA CATALOGRÁFICA

Garcia, Andrea Milena Becerra

Efeitos Farmacológicos de Drogas Ditas Ansiolíticas e Ansiogênicas Administradas em Ratos Testados no Labirinto em Cruz Elevado na Presença e Ausência de Luminosidade. título. – Ribeirão Preto, 2004.  
25 p. ; il. ; 30 cm.

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

Orientador: Morato, Silvio.

1. Comportamento exploratório. 2. Ansiedade. 3. Labirinto em cruz elevado. 4. Drogas. 5. Clordiazepóxido. 6. Pentilenotetrazol. 7. Cafeína

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

**Efeitos Farmacológicos de Drogas Ditas Ansiolíticas e Ansiogênicas  
Administradas em Ratos Testados no Labirinto em Cruz Elevado na  
Presença e Ausência de Luminosidade.**

Andrea Milena Garcia Becerra

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

Orientador: Dr. Silvio Morato

Ribeirão Preto - SP

2004



## **Agradecimentos**

Ao Professor Silvio Morato, por me abrir as portas do seu laboratório e me dar as ferramentas necessárias para construir esta nova etapa na minha vida.

Ao Fernando e à Marisol, pela amizade, apoio, ensinamentos e, principalmente, por acreditar em mim e me “trazer” ao Brasil.

Aos meus colegas de laboratório: Aninha, Célio, Diogo, Flavinha, Fábio, Raquel, Paulinho, Túlio, Khallil, porque pacientemente corrigiram “os erros do meu português ruim” e me ajudaram a me adaptar ao laboratório. E porque, mais que amigos, são a minha família brasileira.

A todo o pessoal da Psicobio, porque com a sua amizade, conversas e churrascos me permitiram conhecer a maravilhosa cultura brasileira.

Aos amigos colombianos, Javier, Orfa, Jorge, Marcela, Diego, Umberto, Omar, Tania, Fredy, que me ajudam a matar saudade da minha terra. Gracias!!

Aos meus pais, Franklyn e Myriam, e aos meus irmãos (Patty, Hermann, Diego, Camilo e Oscar) porque, apesar da distância, todos os dias me fazem chegar o seu apoio e me fazem acreditar que vale a pena continuar lutando para alcançar os sonhos.

Ao Carlos, por ficar segurando a minha mão ainda quando eu estou longe.

A CAPES que me deu o apoio financeiro para poder permanecer este tempo no Brasil.



## Conteúdo

Resumo .....	1
Abstract .....	2
Introdução .....	3
Objetivos .....	6
Materiais e Métodos .....	6
Sujeitos .....	6
Equipamento .....	6
Drogas .....	7
Procedimento .....	7
Análise estatística .....	8
Resultados .....	8
Medidas ligadas à ansiedade/medo: Exploração dos braços abertos .....	8
Medidas ligadas à ansiedade/medo: Exploração das extremidades braços abertos .....	10
Medidas ligadas à atividade locomotora: Exploração dos braços fechados ....	12
Medidas ligadas à atividade locomotora: total de entradas nos dois tipos de braços .....	13
Medidas Comportamentais .....	14
Freqüência de mergulhar a cabeça .....	14
Tempo gasto mergulhando a cabeça .....	14
Freqüência e tempo esticando-se .....	16
Freqüência do comportamento de limpar-se.....	17
Tempo gasto limpando-se.....	17
Discussão .....	18
Referências Bibliográficas .....	20





## Resumo

Há relatos de que doses baixas de pentilenotetrazol (PTZ) apresentam um efeito ansiogênico em testes comportamentais que medem ansiedade. No labirinto em cruz elevado a droga reduz a porcentagem de entradas e o tempo gasto nos braços abertos. O clordiazepóxido (CDP), por outro lado, é uma droga que tem efeitos ansiolíticos, aumentando a exploração dos braços abertos do labirinto ao reduzir a aversão natural dos ratos aos braços abertos. Obtém-se um efeito similar quando o teste ocorre no escuro. Cafeína (CAF) é um composto estimulante que, aplicada em baixas doses, estimula a atividade motora no labirinto. O presente trabalho investiga o efeito de drogas gabaérgicas nas medidas de ansiedade obtidas no labirinto em cruz elevado, na presença ou ausência de luz. Ratos distribuídos aleatoriamente em 18 grupos receberam injeções de PTZ (0, 10 e 20 mg/kg), 5 min antes do teste, CDP (0,1.5 e 3 mg/kg) ou CAF (0, 10 e 30 mg/kg) 30 min antes do teste e foram colocados no labirinto em cruz elevado por 5 minutos, permitindo sua livre exploração, sob duas condições de luminosidade: claro (22 lux) ou escuro (0 lux). Os resultados mostraram que nem o PTZ nem o CDP tiveram qualquer efeito quando os animais eram testados no escuro. No claro, o PTZ diminuiu a exploração dos braços abertos, o que foi interpretado como um efeito ansiogênico, e o CDP apresentou um efeito oposto. A CAF provocou um aumento na exploração dos braços abertos somente no escuro. Esses resultados sugerem que a luminosidade deflagra as respostas responsáveis pela esquiva dos braços abertos, e as drogas simplesmente aumentam ou bloqueiam esse efeito. Da mesma forma, a falta da aversão desencadeada pela luz permitiu que a atividade locomotora aumentasse sob ação da CAF.

## Abstract

Pentylentetrazol (PTZ), in low doses, was reported to have an anxiogenic effect in behavioral tests measuring anxiety. In the elevated plus-maze, it reduces the percentage of entries into and the time spent in the open arms. Chlordiazepoxide (CDP), on the other hand, is an anxiolytic drug which increases open arm exploration in the elevated plus-maze by reducing the natural aversion of rats to the open arms. A similar effect is obtained by testing rats in the dark. Caffeine (CAF) is a stimulant compound that, when administered in low doses, stimulates locomotor activity in the plus-maze. The present work investigated the effect of gabaergic drugs on anxiety levels in the presence and absence of light. Rats were randomly divided into 18 groups and either injected 5 min before testing with PTZ (0, 10, 20mg/kg) or 30 min before testing with CDP (0, 1.5, 3.0 mg/kg) or CAF (0, 10 and 30 mg/kg) and allowed to freely explore an elevated plus-maze for 5 min under two illumination conditions: light (22 lux) or dark (0 lux). Results show that neither PTZ nor CDP had any effect when the animals were tested in the dark. When tested in the light, PTZ decreased exploratory behavior in the open arms, which is usually interpreted as an anxiogenic effect, while CDP had the opposite effect. CAF provoked an increase in open arm exploration but only when the rats were tested in the dark. These results suggest that light triggers the responses responsible for the avoidance of the open arms, and the drugs simply enhance or block them. Likewise, lacking the aversion triggered by light allowed locomotor activity to increase under the action of CAF.

## Introdução

O labirinto em cruz elevado é um dos principais modelos usados no estudo da ansiedade. O modelo surgiu dos experimentos com exploração e medo realizados no laboratório de Montgomery,

nos anos 50, com um labirinto em Y elevado. Nesses trabalhos, o autor observou uma menor utilização dos braços abertos em relação aos braços fechados e levantou a hipótese de que a estimulação provocada

pela novidade (o ambiente novo) produzia reações de conflito entre medo e curiosidade, evidenciadas comportamentalmente como tendências à esquiva e aproximação, respectivamente (Montgomery, 1955; Montgomery e Monkman, 1955). Nesses estudos, o ambiente novo provocaria um aumento tanto do impulso para explorar como do medo, originando um conflito entre explorar e proteger-se.

O trabalho inicial com um labirinto em cruz elevado, parecido com o que existe hoje, foi desenvolvido por Handley e Mithani (1984), como um modelo para o estudo da ansiedade. Esse labirinto, após sofrer a modificação que lhe deu a forma existente hoje em dia, foi validado comportamental, fisiológica e farmacologicamente, para ratos, por Pellow e colaboradores (1985) e, para camundongos, por Lister (1990).

O labirinto em cruz elevado é considerado um modelo naturalista, já que simula uma situação próxima à encontrada no ambiente natural dos ratos, sem requerer aprendizagem prévia nem submeter o animal a condições prévias ao teste, como privação, aprendizagem etc. Por todas essas vantagens, é um teste amplamente utilizado no estudo da ansiedade. Normalmente, suas sessões duram cinco minutos, durante os quais analisam-se o número de entradas e o tempo gasto em cada tipo de braço. Em geral, os animais demonstram uma ocupação preferencial dos braços fechados, tanto no número de entradas quanto no tempo gasto nesses braços. Além dessas medidas, outros comportamentos também são analisados, tais como levantar-se (*rearing*), mergulhar a cabeça pela borda do braço aberto (*head dipping*), esticar o corpo (*stretching*) e auto-limpeza (*grooming*) (Cruz et al., 1994). A eficácia do modelo baseia-se na atividade exploratória espontânea e na aversão natural produzida nos roedores pelos espaços abertos. O trabalho de Pellow e colaboradores (1985) demonstrou que as medidas relacionadas com ansiedade, como excreção de bolos fecais, congelamento

(*freezing*), imobilidade e concentração de corticosterona no sangue, encontravam-se alteradas nos animais quando confinados nos braços abertos em comparação com os confinados nos braços fechados.

A causa da aversão aos braços abertos tem sido explicada por diferentes hipóteses. Inicialmente, propôs-se que essa aversão resultaria da esquiva natural que os roedores apresentam em relação à novidade (Montgomery, 1955). Posteriormente, sugeriu-se que a aversão pelos braços abertos resultaria do medo da altura (Pellow, 1986) e/ou dos espaços abertos (Barnett, 1975; Pellow et al., 1985). Treit e Fundytus (1989), no entanto, propuseram que a impossibilidade do animal realizar o comportamento de tigmotatismo — tendência de o animal permanecer com o corpo próximo a superfícies verticais — seria o estímulo aversivo associado aos braços abertos do labirinto. Grossen e Kelly (1972), justificam esse comportamento como uma estratégia evoluída para evitar predadores, sobretudo os predadores aéreos.

Estudos farmacológicos mostram que a administração de ansiolíticos clássicos (por exemplo, clordiazepóxido, diazepam ou fenobarbital) produz um aumento na exploração dos braços abertos. Efeitos similares foram observados após injeção de compostos que agem sobre o sistema gabaérgico, favorecendo-o, tais como etanol, benzodiazepínicos ou barbitúricos. Efeitos desse tipo levaram Pellow e colaboradores (1985) a propor que o aumento na exploração dos braços abertos estaria relacionado a uma diminuição dos níveis de ansiedade do animal.

Por outro lado, quando se considera a administração de drogas que agem como agonistas inversos dos receptores benzodiazepínicos observa-se que estas prejudicam a ação inibitória do GABA. Nos estudos em que foram administradas doses subconvulsivantes de pentilenotetrazol e FG 7142, relatou-se uma redução do número de entradas e do tempo gasto nos braços abertos, assim como das entradas e do tempo gasto nas extremidades dos braços abertos (File e Lister, 1984; Pellow e

File, 1986; Cruz et al., 1994; Jung et al., 2002), mostrando assim um efeito ansiogênico no labirinto em cruz elevado.

Quanto à utilização de compostos estimulantes, como a cafeína (antagonista competitivo dos receptores de adenosina), que afeta a atividade dopaminérgica, relatou-se que a administração de doses baixas da droga estimula a atividade motora e de altas doses leva a efeitos depressivos, diminuindo as entradas e tempo gasto nos braços abertos do labirinto em cruz elevado, o que pode ser considerado um efeito do tipo ansiogênico (Pellow et al., 1985; Brockwell et al., 1993; Garrett e Griffiths, 1997; File e Hyde, 1979).

Diversos trabalhos mostraram que a exposição do animal a diferentes tipos de estímulos estressantes, tanto antes como durante a exposição ao labirinto, causa alterações comportamentais. Apesar de Becker e Grecksch (1996) concluírem que o comportamento exploratório dos ratos é independente dos níveis de luminosidade, no estudo em que utilizaram três diferentes níveis de luminosidade (30, 300 e 900 Lux) no labirinto em cruz elevado, a maioria dos autores relata que diferentes níveis de luminosidade provocam alterações no comportamento exploratório exibido pelo animal neste aparelho. Cardenas e colaboradores (2001), por exemplo, relataram que o aumento dos níveis de luminosidade provocou uma diminuição na locomoção dos animais, um resultado semelhante aos encontrados por outros autores, que relatam uma diminuição nos níveis dos indicadores clássicos de ansiedade (número de entradas e tempo gasto nos braços abertos) quando foram utilizados baixos níveis de luminosidade (Morato e Castrechini, 1989; Griebel et al., 1993).

Pellow e colaboradores (1985) relataram que, quando são iguados os níveis de luminosidade nos dois tipos de braços, os animais não apresentam alterações significativas no número de entradas e tempo gasto nos braços abertos. Um experimento desenvolvido no nosso laboratório, demonstrou que ratos testados

no labirinto com piso de madeira com grades e baixa luminosidade (20 Lux) exibiram um aumento no número de entradas e tempo gasto nos braços abertos quando comparados com animais testados com alta luminosidade (1200 Lux) e com piso igual (Morato e Castrechini, 1989). Do mesmo modo, Griebel e colaboradores (1993) encontraram que animais testados com altos níveis de luminosidade reduzem significativamente a porcentagem de entradas e o tempo gasto nos braços abertos, assim como a atividade total. King e Jones (2001) relataram que níveis mais altos de luminosidade não alteram o comportamento de ratos no campo aberto, na tábua de buracos (hole board) e no labirinto instável mas, quando o teste é realizado no escuro, observa-se um aumento na atividade locomotora (total de entradas nos braços abertos e fechados e na distância total percorrida) e uma diminuição na esquivas dos braços abertos.

Igarashi e Takeshita (1993) sugeriram que o manuseio antes do teste e disparos de luz durante o teste são condições importantes para evocar as respostas ao estresse que eles relataram. Nasello (1998) estudou os efeitos da escuridão na resposta motora espontânea no campo aberto e no comportamento exploratório no labirinto em cruz elevado. Neste último aparato, os animais mostraram um aumento no número de entradas e tempo gasto nos braços abertos e no total de entradas. No campo aberto, a escuridão produziu um aumento na atividade geral, na locomoção nos quadrados centrais, na frequência de levantar-se e diminuição no número de bolos fecais. Martínez e colaboradores (2002) testaram animais em um labirinto com paredes de acrílico transparente de diferentes alturas cercado os braços abertos (1, 5, 10, 20 e 40 cm) e mostraram que, quando o teste era realizado com as alturas de 5 e 10 cm, havia um aumento na exploração desses braços, chegando próximo aos valores dos braços fechados. Mais importante, demonstraram ainda que o teste com a parede transparente de 40 cm de altura não aumentou a

exploração desse braço, deixando-a equivalente à dos braços abertos com bordas de 1 cm, isto é, a mais baixa dentre todas as condições. No entanto, quando essa mesma altura de parede (40 cm) era coberta por papel opaco preto (que impedia a passagem de luz) houve um grande aumento da exploração desse braço, assemelhando-se à do braço fechado por paredes de madeira. Esse aumento na exploração dos braços cobertos com papel preto, em comparação com a parede transparente, levou os autores a proporem que o sistema visual seria um dos principais responsáveis na deflagração da aversão aos braços abertos.

Se a hipótese desses últimos autores estiver correta, o que desencadearia a aversão aos braços abertos seria a visão dos espaços abertos; ou mesmo a mera entrada de luz na retina dos animais. Impedir a entrada de luz na retina (simplesmente apagando a luz) deveria impedir o funcionamento dos sistemas que medeiam a aversão e anularia o efeito de drogas ditas ansiolíticas ou ansiogênicas, que alteram a aversão aos braços abertos. O objetivo do presente trabalho foi verificar essa hipótese, estudando o comportamento exploratório de ratos no labirinto em cruz elevado no claro e no escuro, sob a ação de drogas ditas ansiolíticas e ansiogênicas.

## Método

### *Sujeitos.*

Foram utilizados 208 ratos machos de uma linhagem derivada de Wistar, com aproximadamente 220 g, provenientes do Biotério Central do Campus da Universidade de São Paulo em Ribeirão Preto. Os animais foram alojados em grupos de 6 em gaiolas de polipropileno (40 x 40 x 17 cm) com água e comida à vontade, em um biotério mantido em um ciclo claro-escuro de 12 horas (luzes acesas às 7 h da manhã), com a temperatura mantida em 25 ( $\pm 2^\circ$  C).

### *Equipamento.*

Utilizou-se um labirinto em cruz elevado consistindo de dois braços abertos (50 x 10 cm) e dois braços fechados (50 x 10 x 40 cm), com os braços iguais cruzados em ângulo reto, conectados por uma área central (10 x 10 cm). O labirinto estava elevado 50 cm do piso (Pellow et al., 1985). Os testes foram realizados com uma luminosidade de 22 lux (claro) ou 0 lux (escuro), medidos no quadrado central do labirinto. Uma câmera montada verticalmente acima do labirinto estava acoplada a um monitor em uma sala adjacente à sala de teste. Durante o registro, a imagem do labirinto no monitor era dividida em quadrados iguais (10 cm de lado) permitindo visualizar a localização do

animal em qualquer local do labirinto. O registro foi realizado com o programa X-Plo-Rat, desenvolvido em nosso laboratório especialmente para este fim.

### *Drogas.*

Foram utilizados pentilenotetrazol (Sigma, Estados Unidos), clordiazepóxido (DEG, Brasil), cafeína anidra (Carlo Erba, Itália). O pentilenotetrazol foi suspenso em água destilada, enquanto o clordiazepóxido e a cafeína foram suspensos em água destilada e uma gota de Tween 20. A administração de todas as drogas foi intraperitoneal, em um volume de 1 ml/kg. Administraram-se as injeções de pentilenotetrazol 5 min antes dos testes, e as de clordiazepóxido e cafeína 30 min antes dos testes.

### *Procedimento.*

Depois de um período de 72 horas de habituação ao biotério do laboratório, os animais foram distribuídos aleatoriamente em três grupos que receberam injeções intraperitoneais de pentilenotetrazol (0, 10 ou 20 mg/kg), clordiazepóxido (0, 1,5 ou 3 mg/kg) ou cafeína (0, 10 ou 30 mg/kg). Cada um desses três grupos foi posteriormente subdividido em duas condições de teste: claro (22 Lux) e escuro (0 Lux). No teste comportamental os

animais eram gentilmente colocados na área central do labirinto com o focinho voltado para um dos braços fechados. O animal podia explorar o labirinto livremente por 5 minutos. Durante esse período, eram registrados a frequência e o tempo gasto em cada braço e a distância neles percorrida em metros, estimada a partir do número de quadrados nos quais o animal entrava. Foram registrados também a frequência e o tempo gasto nos comportamentos de (1) mergulhar a cabeça, (2) levantar-se nas patas traseiras, (3) limpar-se e (4) esticar-se (caminhar com as patas dianteiras, mantendo as patas traseiras imóveis e voltar; para detalhes, ver Lamprea et al., 2000). Igualmente, foram avaliados o tempo gasto pelo animal para sair pela primeira vez do quadrado central e o número de bolos fecais. A permanência do rato em um dado quadrado ocorria quando

ambas as patas traseiras estavam nesse quadrado, mas uma entrada era registrada somente quando todas as quatro patas estavam dentro de um determinado braço.

#### *Tratamento Estatístico.*

Os dados foram submetidos a uma análise de variância (Anova) de duas vias, tendo tratamento como um dos fatores (cada dose das drogas constituindo um nível) e luminosidade como o segundo fator (com dois níveis: claro e escuro). Sempre que apropriado, usou-se o teste de Newman-Keuls como teste post hoc para comparação entre as médias dos grupos. Em todos os casos, adotou-se um nível de significância de  $P < 0,05$ . Antes de serem submetidos à Anova, os dados obtidos com o pentilenotetrazol foram transformados em logaritmos porque sua variância não era homogênea.

## **Resultados**

### *Medidas ligadas à ansiedade/medo: Exploração dos braços abertos.*

A Figura 1 mostra a exploração dos braços abertos pelos animais tratados com pentilenotetrazol, clordiazepóxido e cafeína.

**PENTILENOTETRAZOL.** A Anova indicou um efeito geral da luminosidade sobre a porcentagem de entradas ( $F_{[1,67]} = 68,67$ ,  $P < 0,001$ ) e sobre o tempo gasto nos braços abertos do labirinto ( $F_{[1,67]} = 36,00$ ,  $P < 0,001$ ) nos animais tratados com pentilenotetrazol. A Anova também indicou que não houve um efeito geral do pentilenotetrazol sobre a porcentagem de entradas ( $F_{[2,67]} = 2,86$ ,  $P = 0,06$ ) mas mostrou efeitos gerais significativos do tratamento sobre o tempo gasto nos braços abertos ( $F_{[2,67]} = 4,09$ ,  $P = 0,02$ ). No entanto, surgiram efeitos gerais da interação entre luminosidade e tratamento sobre a porcentagem de entradas ( $F_{[2,67]} = 3,36$ ,  $P = 0,04$ ) mas não sobre o tempo gasto nos braços abertos ( $F_{[2,67]} = 1,76$ ,  $P = 0,17$ ). O teste de comparação entre as médias mostrou que os animais tratados com 20 mg/kg de pentilenotetrazol e testados no

claro, quando comparados ao grupo controle (0 mg/kg), apresentaram uma redução significativa tanto da porcentagem de entradas quanto do tempo gasto nos braços abertos. Os animais testados no escuro não mostraram quaisquer diferenças com os controles. Além disso, os animais testados no escuro apresentaram, em todos os tratamentos, maior porcentagem de entradas e tempo gasto nos braços abertos do que os animais testados no claro.

**CLORDIAZEPÓXIDO.** A Anova indicou um efeito geral da luminosidade sobre a porcentagem de entradas ( $F_{[1,61]} = 33,47$ ,  $P < 0,001$ ) e sobre o tempo gasto nos braços abertos do labirinto ( $F_{[1,61]} = 62,27$ ,  $P < 0,001$ ) nos animais tratados com clordiazepóxido. Indicou também um efeito geral do clordiazepóxido sobre a porcentagem de entradas ( $F_{[2,61]} = 4,75$ ,  $P = 0,01$ ) e sobre o tempo gasto nos braços abertos ( $F_{[2,61]} = 6,86$ ,  $P = 0,002$ ). Ocorreram também efeitos gerais da interação entre luminosidade e tratamento sobre a porcentagem de entradas ( $F_{[2,61]} = 6,91$ ,  $P = 0,001$ ) e sobre o tempo gasto nos braços abertos ( $F_{[2,61]} = 4,59$ ,  $P = 0,01$ ). O

teste de comparações múltiplas mostrou que os animais tratados com clordiazepóxido e testados no claro, quando comparados ao grupo controle (0 mg/kg), apresentaram um aumento significativo tanto da porcentagem de entradas (doses de 1,5 e 3 mg/kg) quanto do tempo gasto nos braços abertos (dose de

3 mg/kg). Os animais testados no escuro não mostraram quaisquer diferenças com os controles. Além disso, os animais testados no escuro apresentaram, com as doses de 0 e 1,5 mg/kg, maior porcentagem de entradas e tempo gasto nos braços abertos do que os animais testados no claro.

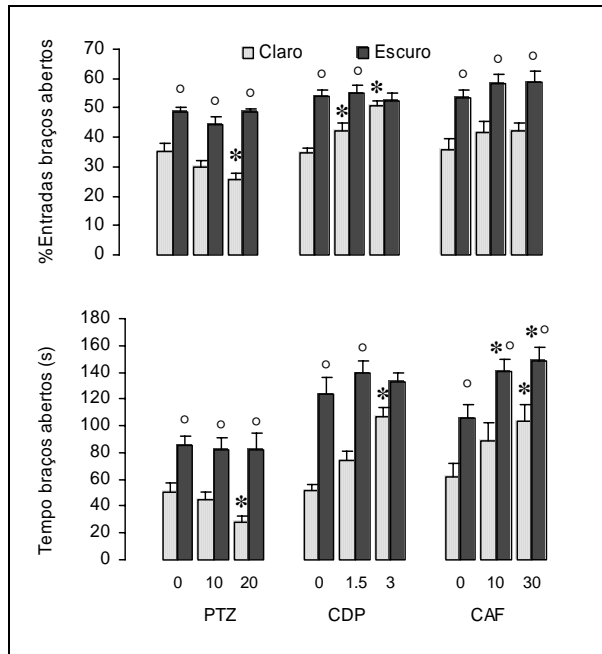


Figura 1. Porcentagem de entradas e tempo gasto (s) nos braços abertos do labirinto pelos animais que receberam os diferentes tratamentos farmacológicos e foram testados no claro (22 lux) e no escuro (0 lux).

PTZ, Pentilenotetrazol; CDP, clordiazepóxido; CAF, cafeína. Os números indicam as doses em mg/kg. \*, Diferente de 0 mg/kg na mesma condição de luminosidade; °, diferente da mesma doses na condição claro.

CAFEÍNA. Finalmente, a Anova indicou um efeito geral da luminosidade sobre a porcentagem de entradas ( $F_{[1,62]} = 37,47$ ,  $P < 0,001$ ) e sobre o tempo gasto nos braços abertos do labirinto ( $F_{[1,62]} = 26,61$ ,  $P < 0,001$ ) nos animais tratados com cafeína. Indicou também que não houve um efeito geral do tratamento com cafeína sobre a porcentagem de entradas ( $F_{[2,62]} = 1,84$ ,  $P = 0,16$ ) mas sim sobre o tempo gasto nos braços abertos ( $F_{[2,62]} = 7,97$ ,  $P < 0,01$ ). Além disso, não ocorreram efeitos gerais da interação entre luminosidade e tratamento nem sobre a porcentagem de entradas ( $F_{[2,62]} = 0,02$ ,  $P = 0,97$ ) e nem sobre o tempo gasto nos braços abertos ( $F_{[2,62]} = 0,07$ ,  $P = 0,92$ ). Além disso, os animais testados no escuro apresentaram, com todas as doses, maior porcentagem de entradas e de tempo gasto nos braços abertos quando comparados a os testados no claro. Os grupos injetados com as doses 10 e 30 mg/kg testados no escuro e o grupo 30 mg/kg testado no claro, apresentaram um aumento no tempo gasto quando

comparados com o grupo 0 mg/kg testado na mesma condição.

#### Medidas ligadas à ansiedade/medo:

##### Exploração das extremidades dos braços abertos

A Figura 2 mostra o efeito das drogas sobre a frequência de entradas e o tempo gasto explorando as extremidades dos braços abertos.

PENTILENOTETRAZOL. A Anova indicou um efeito geral da luminosidade sobre a frequência de entradas ( $F_{[1,67]} = 16,06$ ,  $P < 0,001$ ) e sobre o tempo gasto nas extremidades dos braços abertos do labirinto ( $F_{[1,67]} = 25,76$ ,  $P < 0,001$ ). A Anova também indicou efeito geral do pentilenotetrazol tanto sobre a frequência de entradas ( $F_{[2,67]} = 3,25$ ,  $P = 0,04$ ) como sobre o tempo gasto nas extremidades dos braços abertos ( $F_{[2,67]} = 3,68$ ,  $P = 0,03$ ). Ainda, ocorreram efeitos gerais da interação entre luminosidade e tratamento sobre a frequência de entradas ( $F_{[2,67]} = 3,36$ ,  $P = 0,04$ ) mas não sobre o tempo gasto nas

extremidades dos braços abertos ( $F_{[2,67]} = 1,47$ ,  $P = 0,23$ ). O teste de comparação entre as médias mostrou que, quando comparados ao grupo controle (0 mg/kg), os animais tratados com 20 mg/kg de pentilenotetrazol e testados no claro apresentaram uma redução significativa tanto da frequência de entradas quanto do tempo gasto nas extremidades dos braços abertos. Os animais testados no escuro não mostraram quaisquer diferenças com os respectivos controles em nenhuma das duas medidas. Além disso, os animais testados no escuro apresentaram, em todos os tratamentos, maior frequência de entradas e de tempo gasto nas extremidades dos braços abertos do que os animais testados no claro.

**CLORDIAZEPÓXIDO.** A Anova também indicou um efeito geral da luminosidade sobre a frequência de entradas ( $F_{[1,61]} = 36,54$ ,  $P < 0,001$ ) e sobre o tempo gasto nas extremidades dos braços abertos do labirinto ( $F_{[1,61]} = 41,84$ ,  $P < 0,001$ ) dos animais tratados com clordiazepóxido. Indicou ainda um efeito geral do clordiazepóxido tanto sobre a frequência de entradas ( $F_{[2,61]} = 10,76$ ,  $P < 0,001$ ) como sobre o tempo gasto nas extremidades ( $F_{[2,61]} = 7,96$ ,  $P < 0,001$ ). No entanto, não

surgiram efeitos gerais da interação entre luminosidade e tratamento sobre a frequência de entradas ( $F_{[2,61]} = 1,29$ ,  $P = 0,28$ ) nem sobre o tempo gasto nas extremidades dos braços abertos ( $F_{[2,61]} = 0,44$ ,  $P = 0,64$ ). O teste de comparação entre as médias mostrou que, quando comparados ao grupo controle (0 mg/kg), os animais tratados com 3 mg/kg de clordiazepóxido e testados no claro apresentaram um aumento significativo tanto da frequência de entradas quanto do tempo gasto nas extremidades dos braços abertos. Os grupos tratados com 0 e 1,5 mg/kg de clordiazepóxido e testados no escuro apresentaram um aumento no número de entradas nas extremidades, quando comparados com as mesmas doses testadas no claro. Houve um aumento do tempo gasto nas extremidades abertas: todos os grupos tratados com clordiazepóxido e testados na condição de escuro mostraram um aumento significativo com relação às mesmas doses testadas no claro.

**CAFEÍNA.** Finalmente, a Anova indicou um efeito geral da luminosidade sobre a frequência de entradas ( $F_{[1,62]} = 29,90$ ,  $P < 0,001$ ) e sobre o tempo gasto nas

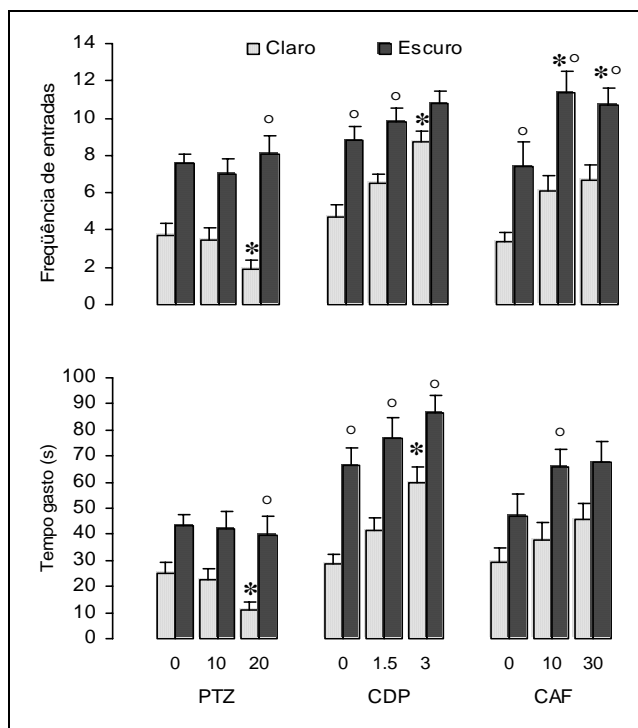


Figura 2. Frequência de entradas e tempo gasto (s) explorando as extremidades dos braços abertos do labirinto pelos animais que receberam os diferentes tratamentos farmacológicos foram testados no claro (22 lux) e no escuro (0 lux).

PTZ, Pentilenotetrazol; CDP, clordiazepóxido; CAF, cafeína. Os números indicam as doses em mg/kg. \*, Diferente de 0 mg/kg na mesma condição de luminosidade; °, diferente da mesma doses na condição claro.

extremidades dos braços abertos do labirinto ( $F_{[1,62]} = 14,25$ ,  $P < 0,001$ ) nos animais tratados com cafeína. A Anova também, indicou um efeito geral do tratamento com cafeína sobre a frequência de entradas ( $F_{[2,62]} = 7,43$ ,  $P = 0,001$ ) e sobre o tempo gasto nas extremidades dos braços abertos ( $F_{[2,62]} = 3,66$ ,  $P = 0,03$ ). Entretanto, não ocorreram interações entre luminosidade e tratamento sobre a frequência de entradas ( $F_{[2,62]} = 0,26$ ,  $P = 0,76$ ) nem sobre o tempo gasto nas extremidades ( $F_{[2,62]} = 0,24$ ,  $P = 0,78$ ). O teste de comparação entre as médias não mostrou quaisquer diferenças entre os animais tratados com cafeína e testados no claro quando comparados ao grupo controle (0 mg/kg). Porém, os grupos tratados com 10 e 30 mg/kg e testados no escuro apresentaram um aumento significativo da frequência de entradas quando comparados com o grupo salina testado na mesma condição. Todos os grupos tratados com cafeína e testados no escuro apresentaram um aumento no número de entradas nas extremidades abertas, quando comparados com as mesmas doses testadas no claro.

#### *Medidas ligadas à atividade locomotora: Exploração dos braços fechados.*

A Figura 3 mostra a frequência de entradas no braços fechados do labirinto. Pode-se notar que os grupos tratados com pentilenotetrazol não apresentaram diferenças significativas nessa medida devidas aos fatores luminosidade ( $F_{[1,67]} = 0,31$ ,  $P = 0,57$ ) e tratamento ( $F_{[2,67]} = 0,35$ ,  $P = 0,70$ ), nem uma interação entre eles ( $F_{[2,67]} = 0,44$ ,  $P = 0,64$ ). Os grupos tratados com clordiazepóxido também não apresentaram diferenças significativas nessa medida devidas aos fatores luminosidade ( $F_{[1,61]} = 1,55$ ,  $P = 0,21$ ) e tratamento ( $F_{[2,61]} = 0,31$ ,  $P = 0,72$ ), nem uma interação entre eles ( $F_{[2,61]} = 1,68$ ,  $P = 0,19$ ). De igual modo, os grupos tratados com cafeína também não apresentaram diferenças significativas na frequência de entradas nos braços fechados devidas aos fatores luminosidade ( $F_{[1,62]} = 0,40$ ,  $P = 0,52$ ) nem uma interação entre os fatores ( $F_{[2,62]} = 0,29$ ,  $P = 0,74$ ). Ocorreu um efeito geral devido ao fator tratamento ( $F_{[2,62]} = 3,35$ ,  $P = 0,04$ ), mas o teste de comparações múltiplas, não acusou diferenças significativas entre os grupos.

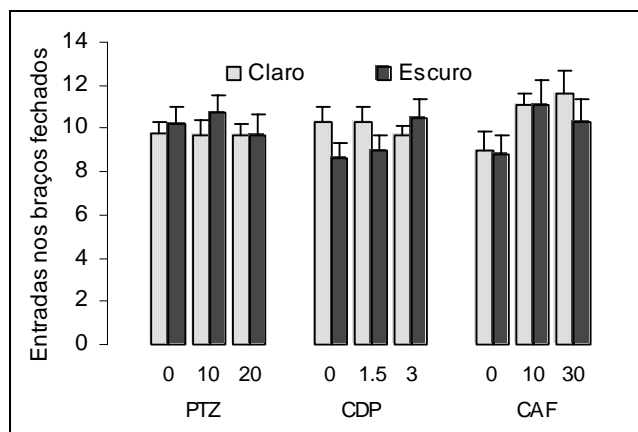


Figura 3. Frequência de entradas nos braços fechados do labirinto pelos animais que receberam os diferentes tratamentos farmacológicos e foram testados no claro (22 lux) e no escuro (0 lux).

PTZ, Pentilenotetrazol; CDP, clordiazepóxido; CAF, cafeína. Os números indicam as doses em mg/kg. \*, Diferente de 0 mg/kg na mesma condição de luminosidade.

#### *Medidas ligadas à atividade locomotora: Total de entradas nos dois tipos de braços*

A Figura 4 mostra o total de entradas nos dois tipos de braços. Pode-se notar que os grupos tratados com pentilenotetrazol apresentaram diferenças significativas no total de entradas devidas

ao fator luminosidade ( $F_{[1,67]} = 23,41$ ,  $P < 0,001$ ) mas não ao fator tratamento ( $F_{[2,67]} = 1,11$ ,  $P = 0,33$ ) e nem houve uma interação entre eles ( $F_{[2,67]} = 0,18$ ,  $P = 0,83$ ). O teste de comparações múltiplas mostrou que os animais tratados com pentilenotetrazol (10 e 20 mg/kg) e testados



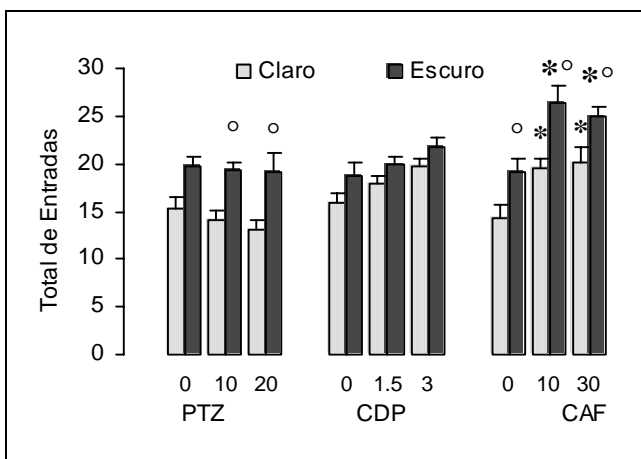


Figura 4. Total de entradas nos dois tipos de braços do labirinto pelos animais que receberam os diferentes tratamentos farmacológicos e foram testados no claro (22 Lux) e no escuro (0 Lux).

PTZ, Pentilenotetrazol; CDP, clordiazepóxido; CAF, cafeína. Os números indicam as doses em mg/kg. \*, Diferente de 0 mg/kg na mesma condição de luminosidade; °, diferente da mesma doses na condição claro.

no escuro mostraram um aumento significativo no total de entradas, quando comparados com os ratos tratados com as mesmas doses e testadas no claro.

Nos animais tratados com clordiazepóxido, encontraram-se diferenças significativas nos totais de entradas devidas aos fatores luminosidade ( $F_{[1,61]} = 8,31$ ;  $P = 0,005$ ) e tratamento ( $F_{[2,61]} = 5,41$ ,  $P = 0,006$ ), mas não ocorreu interação entre os dois fatores ( $F_{[2,61]} = 0,11$ ,  $P = 0,89$ ). O teste de comparações múltiplas não encontrou quaisquer diferenças entre os grupos. Nos animais tratados com cafeína, encontraram-se diferenças significativas nos totais de entradas devidas aos fatores luminosidade ( $F_{[1,62]} = 21,95$ ,  $P < 0,001$ ) e tratamento ( $F_{[2,62]} = 11,92$ ,  $P < 0,001$ ), mas não ocorreu interação entre os dois fatores ( $F_{[2,62]} = 0,36$ ,  $P = 0,69$ ). O teste de comparações múltiplas mostrou que os grupos tratados com 10 e 30 mg/kg de cafeína e testado tanto no claro quanto no escuro apresentaram um aumento no total de entradas em comparação com os grupos tratados com salina e testados na mesma condição. Além disso, a frequência total de entradas relativas aos ratos de todos os grupos testados no escuro foi maior que a observada quando o teste era realizado no claro.

#### Medidas Comportamentais

A Figura 5 mostra as frequências e tempo gasto nos comportamentos registrados no labirinto em cruz elevado nos animais tratados com pentilenotetrazol, clordiazepóxido e cafeína.

FREQUÊNCIA DE MERGULHAR A CABEÇA. Nos animais tratados com pentilenotetrazol, a Anova não acusou efeito geral devido ao fator tratamento ( $F_{[2,66]} = 1,462$ ,  $P = 0,23$ ) nem interação entre os fatores ( $F_{[2,66]} = 1,21$ ,  $P = 0,30$ ), mas acusou um efeito geral do fator luminosidade ( $F_{[1,66]} = 13,28$ ,  $P < 0,001$ ). O teste de comparações múltiplas não mostrou diferenças significativas entre os grupos. Para os animais tratados com clordiazepóxido, a Anova acusou efeito geral dos fatores tratamento ( $F_{[2,61]} = 3,36$ ,  $P = 0,04$ ) e luminosidade ( $F_{[1,61]} = 23,94$ ,  $P < 0,001$ ), não mostrou interação entre os fatores ( $F_{[2,61]} = 0,69$ ,  $P = 0,50$ ). O teste de comparações múltiplas mostrou que os grupos que receberam 0 e 1,5 mg/kg de clordiazepóxido e foram testados no escuro exibiram um aumento significativo nesta medida quando comparados com os mesmos grupos testados no claro. Nos animais tratados com cafeína, a Anova mostrou efeito geral dos fatores tratamento ( $F_{[2,62]} = 5,54$ ,  $P = 0,006$ ) e luminosidade ( $F_{[1,62]} = 9,67$ ,  $P = 0,002$ ), mas não uma interação entre os fatores ( $F_{[2,62]} = 0,04$ ,  $P = 0,95$ ). O teste post hoc mostrou que os animais tratados com 10 e 30 mg/kg de

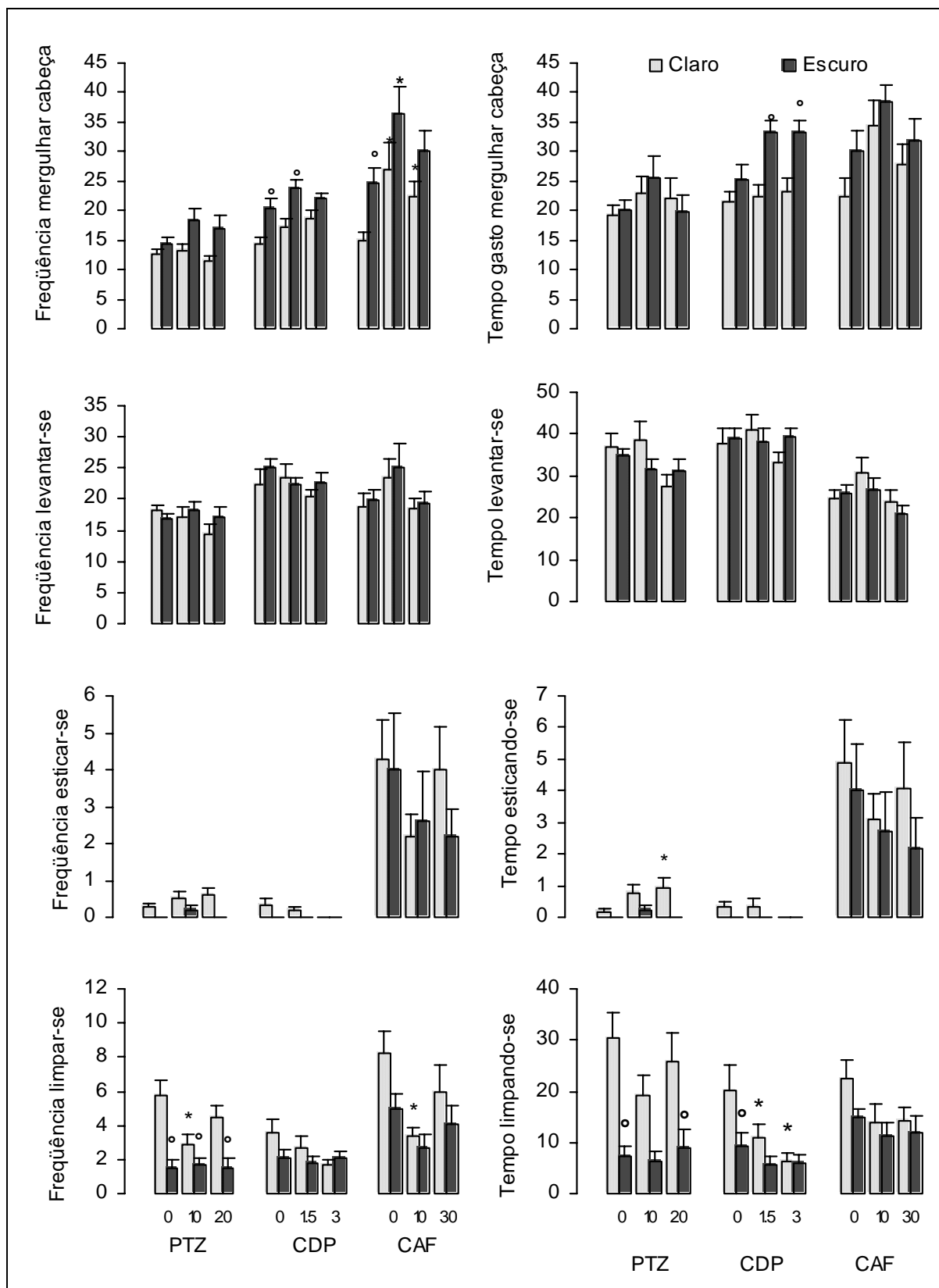


Figura 5. Frequências e tempos gasto nos comportamentos de mergulhar a cabeça, levantar-se, esticar-se e limpar-se exibidos pelos animais que receberam os diferentes tratamentos farmacológicos e foram testados no claro (22 lux) e no escuro (0 lux).

PTZ, Pentilenotetrazol; CDP, clordiazepóxido; CAF, cafeína. Os números indicam as doses em mg/kg. \*, Diferente de 0 mg/kg na mesma condição de luminosidade; °, diferente da mesma doses na condição claro.

caféina e testados no claro e o grupo tratado com 10 mg/kg e testado no escuro apresentaram um aumento significativo na frequência de mergulhar a cabeça quando comparados com o grupo controle testado na mesma condição. O grupo controle testado no escuro também apresentou um aumento significativo nesta medida quando comparado com o mesmo grupo testado no claro.

**TEMPO GASTO MERGULHANDO A CABEÇA.** Com referência aos animais que receberam pentilenotetrazol, a Anova não acusou efeitos gerais dos fatores tratamento ( $F_{[2,66]} = 1,63$ ,  $P = 0,20$ ), luminosidade ( $F_{[1,66]} = 0,02$ ,  $P = 0,87$ ) nem interação entre eles ( $F_{[2,66]} = 0,36$ ,  $P = 0,69$ ). Quanto aos animais que receberam clordiazepóxido, a análise estatística mostrou efeito geral do fator luminosidade ( $F_{[1,61]} = 22,55$ ,  $P < 0,001$ ) mas não do fator tratamento ( $F_{[2,61]} = 3,10$ ,  $P = 0,05$ ) nem uma interação entre os fatores ( $F_{[2,61]} = 1,53$ ,  $P = 0,22$ ). O teste de comparações múltiplas mostrou que os grupos tratados com as doses de 1,5 e 3 mg/kg de clordiazepóxido e testados no escuro apresentaram um aumento significativo no tempo gasto mergulhando a cabeça, quando comparados com as mesmas doses testadas no claro. Quanto ao tratamento com caféina, a análise estatística mostrou um efeito geral do fator tratamento ( $F_{[2,62]} = 3,82$ ,  $P = 0,02$ ) mas não do fator luminosidade ( $F_{[1,62]} = 3,17$ ,  $P = 0,07$ ), nem se encontrou uma interação entre os fatores ( $F_{[2,62]} = 0,19$ ,  $P = 0,82$ ). O teste post hoc não revelou diferenças significativas entre os grupos.

**FREQÜÊNCIA E TEMPO GASTO NO COMPORTAMENTO DE LEVANTAR-SE.** Na análise dos animais tratados com pentilenotetrazol, a Anova não acusou qualquer efeito geral do fator tratamento sobre a frequência ( $F_{[2,66]} = 1,28$ ,  $P = 0,28$ ) nem sobre o tempo gasto ( $F_{[2,66]} = 2,25$ ,  $P = 0,11$ ) no comportamento de levantar-se. Também não acusou efeito do fator iluminação sobre a frequência ( $F_{[1,66]} = 0,70$ ,  $P = 0,40$ ) ou tempo gasto levantando-se ( $F_{[1,66]} = 0,48$ ,  $P = 0,48$ ) ou interação entre os fatores seja no caso da frequência

( $F_{[2,66]} = 1,10$ ,  $P = 0,33$ ), seja no caso do tempo gasto levantando-se ( $F_{[2,66]} = 1,24$ ,  $P = 0,29$ ). Com referência aos animais tratados com clordiazepóxido, a Anova não revelou nenhum efeito geral dos fatores tratamento (frequência:  $F_{[2,61]} = 0,70$ ,  $P = 0,50$ ; tempo:  $F_{[2,71]} = 0,76$ ,  $P = 0,46$ ) e iluminação (frequência:  $F_{[1,61]} = 0,86$ ,  $P = 0,35$ ; tempo:  $F_{[1,61]} = 0,36$ ,  $P = 0,55$ ), nem a ocorrência de interação entre os fatores (frequência:  $F_{[2,61]} = 0,79$ ,  $P = 0,45$ ; tempo:  $F_{[2,61]} = 1,16$ ,  $P = 0,31$ ) sobre essas duas medidas. Quanto aos animais que receberam caféina, a Anova não mostrou efeitos gerais do fator tratamento (frequência:  $F_{[2,62]} = 2,81$ ,  $P = 0,06$ ; tempo:  $F_{[2,62]} = 2,82$ ,  $P = 0,06$ ), do fator iluminação (frequência:  $F_{[1,62]} = 0,34$ ,  $P = 0,55$ ; tempo:  $F_{[1,62]} = 0,80$ ,  $P = 0,37$ ) nem uma interação entre os fatores (frequência:  $F_{[2,62]} = 0,01$ ,  $P = 0,98$ ; tempo:  $F_{[2,62]} = 0,57$ ,  $P = 0,56$ ) sobre as medidas do comportamento de levantar-se.

**FREQÜÊNCIA E TEMPO ESTICANDO-SE.** Quanto aos animais tratados com pentilenotetrazol, a Anova mostrou efeito geral da luminosidade sobre a frequência ( $F_{[1,66]} = 10,76$ ,  $P = 0,001$ ) e sobre o tempo gasto esticando-se ( $F_{[1,66]} = 10,86$ ,  $P = 0,001$ ), mas não do fator tratamento (frequência:  $F_{[2,66]} = 1,18$ ,  $P = 0,31$ ; tempo:  $F_{[2,66]} = 2,56$ ,  $P = 0,08$ ), nem uma interação dos fatores (frequência:  $F_{[2,66]} = 0,66$ ,  $P = 0,51$ ; tempo:  $F_{[2,66]} = 1,66$ ,  $P = 0,19$ ). O teste de comparações múltiplas revelou que o grupo tratado com a dose de 20 mg/kg de pentilenotetrazol e testado no claro aumentou significativamente o tempo gasto esticando-se quando comparado com o grupo controle. Quanto aos animais tratados com clordiazepóxido, a Anova mostrou efeito geral do fator luminosidade (frequência:  $F_{[1,61]} = 7,66$ ,  $P = 0,007$ ; tempo:  $F_{[1,61]} = 4,11$ ,  $P = 0,04$ ) sobre as duas medidas para mas não do fator tratamento (frequência:  $F_{[2,61]} = 2,46$ ,  $P = 0,09$ ; tempo:  $F_{[2,61]} = 2,56$ ,  $P = 0,08$ ), nem uma interação entre os fatores (frequência:  $F_{[2,61]} = 2,46$ ,  $P = 0,09$ ; tempo:  $F_{[2,61]} = 1,04$ ,  $P = 0,35$ ). O teste post hoc não apontou nenhuma diferença significativa.

Para os animais que receberam cafeína, o teste da Anova não mostrou efeitos do fator tratamento sobre ambas as medidas (frequência:  $F_{[2,62]} = 1,12$ ,  $P = 0,33$ ; tempo:  $F_{[2,62]} = 0,86$ ,  $P = 0,42$ ), nem da luminosidade (frequência:  $F_{[1,62]} = 0,35$ ,  $P = 0,55$ ; tempo:  $F_{[1,62]} = 0,99$ ,  $P = 0,32$ ), e nem uma interação entre os fatores (frequência:  $F_{[2,62]} = 0,49$ ,  $P = 0,60$ ; tempo:  $F_{[2,62]} = 0,18$ ,  $P = 0,83$ ). O teste post hoc não apontou qualquer diferença significativa entre os grupos.

FREQÜÊNCIA DO COMPORTAMENTO DE LIMPANDO-SE. Sobre a frequência de limpadas, a Anova mostrou um efeito geral do fator luminosidade ( $F_{[1,66]} = 26,96$ ,  $P < 0,001$ ), mas não do fator tratamento com pentilenotetrazol ( $F_{[2,66]} = 2,21$ ,  $P = 0,11$ ), nem interação entre os fatores ( $F_{[2,66]} = 2,66$ ,  $P = 0,07$ ). O teste de comparações múltiplas mostrou que o grupo que recebeu a dose de 10 mg/kg de pentilenotetrazol e foi testado no claro, aumentou significativamente a frequência de limpezas, quando comparados com o grupo controle. Além disso, os animais testados no escuro com todas as doses de pentilenotetrazol apresentaram uma redução significativa nessa medida quando comparados com as mesmas doses testadas no claro. Ainda sobre a frequência de limpadas, a Anova não acusou nenhum efeito geral do tratamento com clordiazepóxido ( $F_{[2,61]} = 1,60$ ,  $P = 0,20$ ), nem da luminosidade ( $F_{[1,61]} = 2,17$ ,  $P = 0,14$ ), e nem uma interação entre os fatores ( $F_{[2,61]} = 1,69$ ,  $P = 0,19$ ). Quanto à cafeína, a Anova revelou efeito geral do tratamento ( $F_{[2,62]} = 5,08$ ,  $P = 0,009$ ), da luminosidade ( $F_{[1,62]} = 4,59$ ,  $P = 0,03$ ) mas não uma interação entre os fatores ( $F_{[2,62]} = 0,66$ ,  $P = 0,51$ ) sobre a

freqüência dessa medida. O teste de comparações múltiplas mostrou que o grupo tratado com a dose de 10 mg/kg de cafeína e testado no claro limpou-se significativamente menos quando comparado com o grupo controle testado na mesma luminosidade.

TEMPO GASTO LIMPANDO-SE. Quanto aos testes com pentilenotetrazol, a Anova mostrou efeito geral do fator luminosidade ( $F_{[1,66]} = 27,15$ ,  $P < 0,001$ ) mas não do fator tratamento ( $F_{[2,66]} = 0,82$ ,  $P = 0,44$ ) nem uma interação entre esses fatores ( $F_{[2,66]} = 0,82$ ,  $P = 0,44$ ). O teste de comparações múltiplas indicou que os grupos tratados com as doses de 0 e de 20 mg/kg de pentilenotetrazol, quando testados no escuro, gastaram significativamente menos tempo limpando-se quando comparados aos grupos tratados com as mesmas doses testadas no claro. Nos animais tratados com clordiazepóxido, a Anova apontou efeito geral do tratamento ( $F_{[2,61]} = 5,96$ ,  $P = 0,004$ ) e da luminosidade ( $F_{[1,61]} = 7,43$ ,  $P = 0,008$ ) mas não uma interação entre os fatores ( $F_{[2,61]} = 2,25$ ,  $P = 0,11$ ). O teste de comparações múltiplas mostrou que os grupos tratados com as doses de 1,5 e 3 mg/kg de clordiazepóxido e testados no claro limpam-se por menos tempo do que o grupo controle na mesma condição. O grupo controle testado no escuro também limpou-se significativamente menos do que o grupo controle testado no claro. Nos animais tratados com cafeína, a Anova não mostrou quaisquer diferenças significativas devidas ao tratamento ( $F_{[2,62]} = 2,25$ ,  $P = 0,11$ ), à luminosidade ( $F_{[1,62]} = 2,57$ ,  $P = 0,11$ ) nem interação entre eles ( $F_{[2,62]} = 0,46$ ,  $P = 0,63$ ) para o tempo gasto limpando-se.

## Discussão

Os resultados mostram uma redução na exploração dos braços abertos (frequência de entradas e tempo gasto nos braços e frequência de entradas e tempo gasto nas extremidades) causada pelo pentilenotetrazol (20 mg/kg) quando os ratos foram testados no claro. Efeito

semelhante já foi relatado por Pellow e colaboradores (1985) e por Cruz e colaboradores (1994), interpretado pelos autores como um aumento nos níveis de ansiedade dos animais no labirinto em cruz elevado. Esse aumento nos índices de ansiedade era independente do número de

entradas e do tempo gasto nos braços fechados, não alterando, portanto, os níveis de atividade locomotora. Esses autores relatam também que animais tratados com clordiazepóxido e testados no claro mostraram um aumento na porcentagem de entradas e no tempo gasto nos braços abertos. Nesse caso, o efeito da droga foi indicativo de redução dos níveis de ansiedade (Pellow et al., 1985; Chaouloff et al., 1997).

Apesar de a literatura relatar que a injeção intraperitoneal de doses baixas de cafeína produz efeitos estimulantes e que doses altas levam a efeitos depressivos no labirinto em cruz elevado (Pellow et al., 1985; Daly e Fredholm, 1998), nossos resultados não mostraram alterações nas medidas correlacionadas com ansiedade, nem nos níveis de atividade locomotora apresentados pelos animais. Essa ausência de efeito poderia ser explicada com base no trabalho de Hogg (1996), revisando a validade e variabilidade dos resultados obtidos no labirinto. Segundo esse trabalho, apesar de o labirinto ser um modelo comumente utilizado, seus resultados variam enormemente e até mesmo de um modo contraditório, principalmente em experimentos farmacológicos. Essa variabilidade poderia ser explicada pela presença de fatores externos antes e durante a situação de teste, tais como manuseio, nível de luminosidade durante o teste, estresse pré-teste e até mesmo a altura das bordas de acrílico dos braços abertos.

Com relação aos outros comportamentos além das entradas nos braços, observa-se que a frequência e o tempo gasto no comportamento de esticar-se pelos grupos tratados com pentilenotetrazol e com clordiazepóxido são muito baixos, mas ainda assim observou-se um aumento significativo no tempo gasto esticando-se pelo grupo que recebeu a dose de 20 mg/kg de pentilenotetrazol e foi testado no claro. Esse dado é coerente com o que se relata na literatura, na qual experimentos empregando o labirinto em cruz elevado associam este comportamento à avaliação de risco; ademais,

positivamente correlacionado com ansiedade (Cruz et al., 1994; Setem et al., 1999).

Observou-se uma redução da frequência do comportamento de limpar-se pelos grupos tratados com pentilenotetrazol em todas as doses e testados no escuro. O mesmo aconteceu com o tempo gasto limpando-se nas doses de 0 e 20 mg/kg e testadas no claro, como nos animais tratados com clordiazepóxido e testados no claro. Komorowska et al. (2003) afirmam que o comportamento de limpar-se intensifica-se quando o animal é submetido a situações de estresse. Nossos resultados estão de acordo, já que a redução foi encontrada nos grupos que apresentaram menores níveis de ansiedade nas demais medidas registradas no labirinto, como os testados no escuro e com as doses maiores de clordiazepóxido. Em relação aos animais tratados com a cafeína, não foram encontradas diferenças nessa medida, possivelmente pelas mesmas razões que causaram os resultados conflitantes obtidos na literatura com essa droga (Pellow et al., 1985; Daly e Fredholm, 1998).

Não foram observadas diferenças claras quanto ao efeito da administração das drogas e o teste no escuro com relação aos comportamentos de levantar-se e mergulhar a cabeça. Quanto à administração de cafeína, uma possível alternativa para tentar esclarecer a ausência de efeitos seria aumentar o número de sujeitos em cada dose dessa droga.

Finalmente, o aumento na porcentagem de entradas e no tempo gasto nos braços abertos quando os animais são expostos ao labirinto em condições de baixa luminosidade ou de escuridão já foi relatado na literatura (Morato e Castrechini, 1989; Griebel et al., 1993; Chaouloff et al., 1997). Do mesmo modo, já se ressaltou a importância da informação visual como desencadeadora de aversão no labirinto (Martinez et al., 2002). Porém, no presente trabalho, quando os animais eram tratados com pentilenotetrazol ou clordiazepóxido e testados no escuro não foram observados os efeitos respectivamente ansiogênico e

ansiolítico característicos dessas drogas quando testadas no claro. Essa ausência de efeito no escuro pode ser atribuída ao papel da visão no desencadear da aversão, uma vez que se pode constatar que, no claro, continuavam preservados os efeitos típicos tanto do pentilenotetrazol como do clordiazepóxido.

Dado que o aumento na exploração dos braços abertos foi observado em todos os grupos testados no escuro, independentemente das doses ou das drogas utilizadas, pode-se atribuir esse efeito à ausência de luminosidade, a qual poderia agir como um desencadeador da aversão que, uma vez instalada, permitiria a modulação tanto ansiolítica quanto ansiogênica das drogas. Martinez e colaboradores (2002) sugeriram que a característica aversiva da informação visual seria a responsável pela esquiva dos braços abertos. Nossos resultados apóiam essa afirmação e acrescentam que o papel aversivo da luminosidade poderia ser o responsável pela presença de efeitos

farmacológicos (tanto ansiolíticos como ansiogênicos) no labirinto em cruz elevado.

Dessa forma, os dados apontam para a conclusão mais geral de que o clordiazepóxido e, mais notadamente, o pentilenotetrazol não são, por si só, drogas ansiolítica e ansiogênica, respectivamente. Antes, são drogas que podem facilitar ou inibir o funcionamento dos mecanismos que medeiam os processos aversivos. Se essa hipótese estiver correta, o pentilenotetrazol seria incapaz de provocar ansiedade, como fica mais ou menos implícito nos relatos da literatura, e teria a função de exacerbar o funcionamento de quaisquer mecanismos afetos à produção de medo/ansiedade.

Se todas as drogas ditas ansiogênicas atuam de maneira análoga ao pentilenotetrazol, só estudos adicionais poderiam estabelecer. Nesse sentido, o procedimento utilizado em nosso estudo poderia constituir-se em um bom protocolo experimental para a realização de testes como esse que ora está sendo sugerido.

## Referências Bibliográficas

- Barnett, S.A. (1975). *The Rat – A Study in Behavior*. University of Chicago Press, Chicago.
- Becker, A. e Grecksch, G. (1996). Illumination has no effect on rats' behavior in the elevated plus-maze. *Physiology and Behavior*, 59 (6): 175-177.
- Brockwell, N. T., Higgins, S. T., Hughes, J. R. e Bickel, W. K. (1993). Caffeine induced place and taste conditioning: production of dose dependent preference and aversion. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 38: 513-517.
- Cardenas, F., Lamprea, M. R. e Morato, S. (2001). Vibrissal sense is not the main sensory modality in rat exploratory behavior in the elevated plus-maze. *Behavioural Brain Research*, 122: 169-174.
- Chaouloff, F., Durand, M. e Morméde, P. (1997). Anxiety- and activity-related effects of diazepam and chlordiazepoxide in the rat light/dark and dark/light test. *Behavioural Brain Research*, 85: 27-35.
- Cruz, A. P. M., Frei, F. e Graeff, F. G. (1994). Ethopharmacological analysis of rat behavior on the elevated plus maze. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 49: 171-179.
- Daly, J. W. e Fredholm, B. B. (1998). Caffeine – An atypical drug of dependence. *Drug and Alcohol Dependence*, 51: 199-206.
- File, S. E. e Lister, R. G. (1984). Do the reductions in social interactions produced by picrotoxin and pentylene-tetrazole indicate anxiogenic actions? *Neuropharmacology*, 23: 793-796.
- File, S. E., Hyde, J. R. G. (1979). A test of anxiety that distinguishes between the actions of benzodiazepines and those of other minor tranquilisers and stimulants. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 11: 65-69.
- Garrett, B. E. e Griffiths, R. R. (1997). The role of dopamine in the behavioral effects of caffeine in animals and humans. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 57 (3): 533-541.
- Griebel, G., Moreau, J.L., Jenck, F., Martin, J.R. e Misslin, R. (1993). Some critical determinants of the behaviour of rats in the elevated plus-maze. *Behavioural Processes*, 29: 37-48.
- Grossen, N.E. e Kelly, M. J. (1972). Species-specific behavior and acquisition of avoidance behavior in rats. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 81: 307-310.
- Handley, S.L. & Mithani, S. (1984). Effects of alpha – adrenoceptor agonists and antagonists in a maze exploration model of “fear” motivated behavior. *Naunyn –*

- Schmiedeberg's Archives of Pharmacology, 327:1-5.
- Hogg, S. (1996). A Review of the validity and variability of the elevated plus-maze as an animal model of anxiety. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 54 (1): 21-30.
- Igarashi, E. e Takeshita, S. (1993). Effects of illumination and handling upon rat open-field activity. *Physiology and Behavior*, 57: 699-703.
- Jung, M. E., Lal, H. e Gatch, M. B. (2002). The discriminative stimulus effects of pentylentetrazol as a model of anxiety: recent developments. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 26:429-439.
- Komorowska, J. e Pisula, W. (2003). Does changing levels of stress affect the characteristics of grooming behavior in rats?. *International journal of comparative psychology*, 16: 237-246.
- King, S. M. e Jones, N. (2001). Influence of circadian phase and test illumination on pre-clinical models of anxiety. *Physiology and Behavior*, 72: 99-106.
- Lamprea, M. R., Cardenas, F., Silveira, R., Morato, S. e Walsh, T. J. (2000). Dissociation of memory and anxiety in a repeated elevated plus-maze paradigm: forebrain cholinergic mechanisms. *Behavioural Brain Research*, 117: 97-105.
- Lister, R.G (1990). Ethological-based animal models of anxiety disorders. *Pharmacological Therapy*, 46:321-340.
- Martinez, J. C., Cardenas, F., Lamprea, M. e Morato, S. (2002). The role of vision and proprioception in the aversion of rats to the open arms of an elevated plus-maze. *Behavioural Processes*, 60: 15-26.
- Montgomery KC (1955) The relation between fear induced by novel stimulation and exploratory drive. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 48: 154-260.
- Montgomery KC & Monkman JA (1955). The relation between fear and exploratory behavior. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 48:132-136.
- Morato, S. e Castrechini, P. (1989). Effects of floor surface and environmental illumination on exploratory activity in the elevated plus-maze. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 22: 707-710.
- Nasello, A. G., Machado, C., Bastos., J. F. e Felício, L. F. (1998). Sudden darkness induces a high activity-low anxiety state in male and female rats. *Physiology and Behavior*, 63 (3): 451-454.
- Pellow, S. e File, S. E. (1986). Anxiolytic and anxiogenic drug effects on exploratory activity in elevated plus-maze: a novel test of anxiety in the rat. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 24: 525-529.
- Pellow, S., Chopin, P., File, S. e Briley, M. (1985). Validation of open : closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. *Journal of Neuroscience Methods*, 14: 149-167.
- Pellow, S. (1986). Anxiolytic and anxiogenic drug effects in a novel test of anxiety: a exploratory model of anxiety in rodents valid ? *Methods and Findings in Experimental Clinical Pharmacology*, 8: 557-565.
- Setem, J., Pinheiro, A. P., Motta, V. A., Morato, S. e Cruz, A. P. M. (1999). Ethopharmacological analysis of 5-HT ligands on the rat elevated plus-maze. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 62 (3): 515-521.
- Treit, D. e Fundytus, M. (1989). Thigmotaxis as a test for anxiolytic activity in rats. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 31: 959-962.