

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO**  
**FFCLRP – DEPARTAMENTO DE PSICOLOGIA E EDUCAÇÃO**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PSICOBIOLOGIA**

**Efeitos da ativação de receptores serotoninérgicos dos tipos  
5-HT<sub>1A</sub> e 5-HT<sub>2A/2C</sub> do complexo amigdalóide sobre  
a modulação de respostas defensivas associadas  
à ansiedade e ao pânico**

**Christiana Villela de Andrade Strauss**

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

**Ribeirão Preto**

**2005**

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO**  
**FFCLRP – DEPARTAMENTO DE PSICOLOGIA E EDUCAÇÃO**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PSICOBIOLOGIA**

**Efeitos da ativação de receptores serotoninérgicos dos tipos  
5-HT<sub>1A</sub> e 5-HT<sub>2A/2C</sub> do complexo amigdalóide sobre a  
modulação de respostas defensivas associadas  
à ansiedade e ao pânico**

**Christiana Villela de Andrade Strauss**

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

**Orientador: Prof. Dr. Hélio Zangrossi Júnior**

**Ribeirão Preto**  
**2005**

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

## FICHA CATALOGRÁFICA

STRAUSS, Christiana Villela de Andrade

Efeitos da ativação de receptores serotoninérgicos dos tipos 5-HT<sub>1A</sub> e 5-HT<sub>2A/2C</sub> do complexo amigdalóide sobre a modulação de respostas defensivas associadas à ansiedade e ao pânico./Strauss, Christiana Villela de Andrade; Orientador: Hélio Zangrossi Júnior. – Ribeirão Preto, 2005.

144 f. : il.

Tese (Doutorado em Ciências – Área de concentração: Psicobiologia) – Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão preto da Universidade de São Paulo.

1. Ansiedade; 2. Pânico; 3. Serotonina; 4. Complexo Amigdalóide;  
5. Labirinto em T elevado.

# FOLHA DE APROVAÇÃO

Christiana Villela de Andrade Strauss

**Efeitos da ativação de receptores serotoninérgicos dos tipos 5-HT<sub>1A</sub> e 5-HT<sub>2A/2C</sub> do complexo amigdalóide sobre a modulação de respostas defensivas associadas à ansiedade e ao pânico.**

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

**Aprovado em:**

## Banca Examinadora

Prof. Dr. \_\_\_\_\_

Instituição: \_\_\_\_\_ Assinatura: \_\_\_\_\_

Prof. Dr. \_\_\_\_\_

Instituição: \_\_\_\_\_ Assinatura: \_\_\_\_\_

Prof. Dr. \_\_\_\_\_

Instituição: \_\_\_\_\_ Assinatura: \_\_\_\_\_

Prof. Dr. \_\_\_\_\_

Instituição: \_\_\_\_\_ Assinatura: \_\_\_\_\_

Prof. Dr. \_\_\_\_\_

Instituição: \_\_\_\_\_ Assinatura: \_\_\_\_\_

Dedico esta tese ao meu irmão,  
Fernando Villela de Andrade Neto (1973-2004), meu eterno  
*“cyborg flaneur, walking around the Earth, swimming in the  
Noosphere” ...*

Sua vida foi uma permanente lição para mim.  
Te amo, sempre.

*“O meu único objetivo, na realidade que então me existia, era o de descobrir os segredos da Natureza, aprender, experimentar. E registrar, para um incerto proveito de alguém, aquilo que conseguisse encontrar. E assim foi.”*

Fervil

Ao Prof. Dr. Hélio Zangrossi Jr., pela orientação e pelo exemplo de disciplina e competência. Hélio, obrigada pela paciência, compreensão e respeito sempre presentes durante todos estes anos em que trabalhamos juntos.

Aos membros da banca examinadora, Profa. Dra. Leda Menescal de Oliveira, Prof. Dr. Marcos Lira Brandão, Prof. Dr. Silvio Morato de Carvalho e Prof. Dr. Antônio Pedro de Mello Cruz, pelas sugestões e discussões que muito enriqueceram este trabalho.

Aos professores que, durante estes anos, me serviram de inspiração e se tornaram alvos de minha admiração. Agradeço

À Profa. Dra. Silvia Soares Maisonnette, pelo incentivo inicial;

À Profa. Dra. Milena de Barros Viana, pela orientação no PAE;

À Profa. Dra. Regina Lúcia Nogueira, pelas discussões deliciosamente inteligentes;

ao Prof. Dr. Francisco Silveira Guimarães, por permitir e incentivar minhas visitas esporádicas a seus seminários semanais;

Ao Prof. Dr. Norberto Cysne Coimbra, pela contribuição “anatômica” à minha formação científica;

E ao Prof. Dr. Norberto Garcia Cairasco, pelos papos “amigdalóides” na cantina.

Ao Afonso, pelo excelente apoio técnico e por sempre se preocupar comigo!

À Renata B. Vicentini, pela disponibilidade, atenção, paciência e colo em momentos difíceis; e ao pessoal da secretaria da Farmacologia da FMRP, pela agradável convivência.

Às funcionárias da CPG da FFCLRP, pelos serviços e orientações prestadas.

À CAPES, pelo apoio financeiro.

Agradeço ainda às pessoas que me fizeram feliz pelo simples fato de terem cruzado o meu caminho. Algumas percorrem ao meu lado, vendo muitas luas passarem, mas outras ficam apenas entre um passo e outro.

Minha sincera gratidão...

Aos meus pais, Luiz Fernando e Maria Helena, e à minha irmã, Nathália, por serem meu porto seguro, minha fortaleza; pelo estímulo e apoio incondicional desde o primeiro minuto; pela paciência e grande amor com que sempre me ouviram, e pela sensatez com que sempre me ajudaram.

Ao meu eterno amor Oscar, por abrir mão de suas ansiedades e moldar-se, resignado, ao ritmo de vida e disponibilidade de tempo que o trabalho me impõe. Quantas vezes teria eu desistido, não tivesse você insistido...

Aos meus sogros, Oscar e Eliana, que tanto fazem por mim. E aos meus cunhados, Erica, Júnior e Vitor, por terem se tornado minha família e trazerem ainda mais cor à minha vida!

À amiga-irmã, Janaína, Jana Linda, por ter assumido seu lugar de anjo e ter conseguido me mostrar, pelo menos um pouco, do que é feita a vida e o que realmente vale a pena! Obrigada por me ouvir, me entender, me apontar as falhas, me lembrar das conquistas e me ajudar a crescer! E, já ia esquecendo, pela(s) sopinha(s) depois da(s) glicose(s)!

À Valquíria, Valdomira, Vandê, Valzinha, companheira única, de estudo, de shows, de balada, de piercing, de nórias, de choros e de risos. Obrigada por compartilhar comigo muito dos melhores momentos vividos em Ribeirão! As “tantas emoções” não seriam tão intensas se você não estivesse presente!

À Joice, Joice Maria, que ao abrigar uma freira sem teto ganhou uma amiga para a vida inteira! Em você vejo qualidades que sonho ter em mim! Volta logo pra sua terra, menina!

Aos amigos Vanessa e Roger, responsáveis por noventa por cento das minhas gargalhadas no laboratório, e por algumas lágrimas também, lógico. Vocês são muuuuito especiais e jamais serão esquecidos. “Vamos ser amigos pra sempre?” (voz de Jana!).

Ao Leandro e à Ana Letícia, casal bom de papo filosófico regado à cerveja (ou Coca!) e pizza! Obrigada por me ensinarem, entre outras coisas, que sempre há o que melhorar em nós mesmos.



Às amigas que um dia fizeram parte do laboratório, Érika, Karina, Néia e Tatiana, exemplos de cooperação, simplicidade, disciplina, coragem, perseverança, fé em Deus, e muito mais!

Ao pessoal do laboratório de Psicofarmacologia da FMRP, em especial à Claudinha, Dani, Fabrício, Sâmia (e Léo), Vanessa e Vivian, por compartilhar momentos deliciosos!

Ao pessoal da Psicobiologia, em especial à Ana Laura, Andréia, Cíntia, Gustavo e Selma por estarem sempre por perto e dispostos a ajudar.

À todos que, cientes ou não, contribuíram para que eu pudesse concluir este trabalho.

E finalmente, àqueles que não acreditaram, pelo desafio.

# ÍNDICE

## RESUMO

## ABSTRACT

<b>1. INTRODUÇÃO</b>	19
1.1. Ansiedade	20
1.2. Ansiedade e Reações de Defesa	24
1.3. Ansiedade e Serotonina	28
<b>2. OBJETIVOS</b>	41
<b>3. MATERIAIS E MÉTODOS</b>	43
3.1. Animais	44
3.2. Drogas	44
3.3. Aparatos Utilizados	44
3.4. Procedimento Cirúrgico	47
3.5. Testes Comportamentais	48
3.6. Perfusão	51
3.7. Histologia	51
3.8. Análise Estatística	52
<b>4. RESULTADOS</b>	53
<b>4.1. Efeitos da injeção de midazolam, 8-OH-DPAT ou DOI no núcleo basolateral</b>	
Análise histológica	54
Experimento 1A - Efeitos da injeção de midazolam no núcleo basolateral	56
Experimento 1B - Efeitos da injeção de 8-OH-DPAT no núcleo basolateral	60
Experimento 1C - Efeitos da injeção de DOI no núcleo basolateral	66
<b>4.2. Efeitos da injeção de midazolam, 8-OH-DPAT ou DOI no núcleo medial</b>	
Análise histológica	71
Experimento 2A - Efeitos da injeção de midazolam no núcleo medial	73
Experimento 2B - Efeitos da injeção de 8-OH-DPAT no núcleo medial	76
Experimento 2C - Efeitos da injeção de DOI no núcleo medial	80
<b>5. DISCUSSÃO</b>	84
<b>6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	97

## ANEXOS

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1. Labirinto em T elevado .....	45
FIGURA 2. Campo Aberto .....	45
FIGURA 3. Caixa Claro-Escuro .....	46
FIGURA 4. Ilustração dos sítios de injeções, no núcleo basolateral do complexo amigdalóide, observados nos três experimentos da etapa 1 .....	55
FIGURA 5. Efeito da injeção de midazolam no núcleo basolateral do complexo amigdalóide sobre as respostas de esquiva inibitória e fuga no teste do labirinto em T elevado .....	58
FIGURA 6. Efeito da injeção de midazolam no núcleo basolateral do complexo amigdalóide sobre a porcentagem de tempo de permanência no compartimento claro e o número de transições realizados no teste do claro-escuro .....	59
FIGURA 7. Efeito da injeção 8-OH-DPAT no núcleo basolateral do complexo amigdalóide sobre as respostas de esquiva inibitória e fuga no teste do labirinto em T elevado .....	62
FIGURA 8. Efeito da injeção 8-OH-DPAT no núcleo basolateral do complexo amigdalóide sobre a porcentagem de tempo de permanência no compartimento claro e o número de transições realizados no teste do claro-escuro .....	63
FIGURA 9. Efeito da injeção de 8-OH-DPAT (0,4 nmol) no núcleo basolateral do complexo amigdalóide sobre as respostas de esquiva inibitória e fuga no teste do labirinto em T elevado ...	64
FIGURA 10. Efeito da injeção de 8-OH-DPAT (0,4 nmol) no núcleo basolateral do complexo amigdalóide sobre a porcentagem de tempo de permanência no compartimento claro e o número de transições realizados no teste do claro-escuro .....	65
FIGURA 11. Efeito da injeção de DOI no núcleo basolateral do complexo amigdalóide sobre as respostas de esquiva inibitória e fuga no teste do labirinto em T elevado .....	68
FIGURA 12. Efeito da injeção de DOI no núcleo basolateral do complexo amigdalóide sobre a porcentagem de tempo de permanência no compartimento claro e o número de transições realizados no teste do claro-escuro .....	69

FIGURA 13. Ilustração dos sítios de injeções, no núcleo medial do complexo amigdalóide, observados nos três experimentos da etapa 2 .....	72
FIGURA 14. Efeito da injeção de midazolam no núcleo medial do complexo amigdalóide sobre as respostas de esquiva inibitória e fuga no teste do labirinto em T elevado .....	74
FIGURA 15. Efeito da injeção de midazolam no núcleo medial do complexo amigdalóide sobre a porcentagem de tempo de permanência no compartimento claro e o número de transições realizados no teste do claro-escuro .....	75
FIGURA 16. Efeito da injeção de 8-OH-DPAT no núcleo medial do complexo amigdalóide sobre as respostas de esquiva inibitória e fuga no teste do labirinto em T elevado .....	78
FIGURA 17. Efeito da injeção de 8-OH-DPAT no núcleo medial do complexo amigdalóide sobre a porcentagem de tempo de permanência no compartimento claro e o número de transições realizados no teste do claro-escuro .....	79
FIGURA 18. Efeito da injeção de DOI no núcleo medial do complexo amigdalóide sobre as respostas de esquiva inibitória e fuga no teste do labirinto em T elevado .....	81
FIGURA 19. Efeito da injeção de DOI no núcleo medial do complexo amigdalóide sobre a porcentagem de tempo de permanência no compartimento claro e o número de transições realizados no teste do claro-escuro .....	82

## LISTA DE TABELAS

TABELA 1. Classificação dos transtornos de ansiedade segundo o DSM-IV .....	22
TABELA 2. Distância total percorrida no campo aberto pelos animais testados nos experimentos 1A, 1B e 1C .....	70
TABELA 3. Distância total percorrida no campo aberto pelos animais testados nos experimentos 2A, 2B e 2C .....	83

STRAUSS, Christiana Villela de Andrade. **Efeitos da ativação de receptores serotoninérgicos dos tipos 5-HT<sub>1A</sub> e 5-HT<sub>2A/2C</sub> do complexo amigdalóide sobre a modulação de respostas defensivas associadas à ansiedade e ao pânico.** 144 f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, 2005.

Diferentes estudos mostram o envolvimento da serotonina na modulação de respostas comportamentais e autonômicas relacionadas à ansiedade. Enquanto estudos com modelos experimentais de conflito indicam que a serotonina no complexo amigdalóide aumenta a ansiedade, resultados obtidos com a estimulação elétrica da matéria cinzenta periaquedutal sugerem um papel ansiolítico para este neurotransmissor. Tais evidências levaram Deakin e Graeff (1991) a propor que as diferentes vias serotoninérgicas que inervam o complexo amigdalóide e a matéria cinzenta periaquedutal seriam responsáveis pela modulação de comportamentos defensivos associados a dois diferentes transtornos de ansiedade, à ansiedade generalizada e ao pânico, respectivamente. De acordo com esta proposição, diante de estímulos que representam ameaças potenciais estas vias serotoninérgicas seriam ativadas gerando o aumento da liberação de serotonina em ambas as estruturas. No complexo amigdalóide, a serotonina facilitaria o comportamento de esquiva inibitória, enquanto que na matéria cinzenta periaquedutal inibiria a resposta de fuga.

Para testar esta teoria em laboratório foi desenvolvido o teste do labirinto em T elevado, no qual é possível se avaliar, em um mesmo animal, respostas de esquiva inibitória e de fuga. De maneira geral, estudos com este modelo corroboram a proposição de Deakin e Graeff de que a transmissão serotoninérgica na matéria cinzenta periaquedutal inibe a resposta de fuga. No entanto, resultados conflitantes têm sido observados quanto ao papel da serotonina no complexo amigdalóide.

Neste sentido, o presente estudo tem como objetivo estender as investigações quanto ao envolvimento do complexo amigdalóide na modulação de respostas defensivas associadas à ansiedade e ao pânico. Assim, pretende-se avaliar o efeito da ativação de receptores serotoninérgicos dos tipos 5-HT<sub>1A</sub> e 5-HT<sub>2A/2C</sub> dos núcleos basolateral e medial do complexo amigdalóide sobre as respostas defensivas geradas nos testes do labirinto em T elevado e da transição claro-escuro. O comportamento de esquiva gerado neste último teste, assim como a esquiva inibitória medida no labirinto em T elevado, tem sido associado à ansiedade generalizada. Para tal, foram realizadas injeções bilaterais intra-núcleo basolateral ou intra-núcleo medial do agonista de receptores 5-HT<sub>1A</sub> 8-OH-DPAT ou do agonista preferencial de receptores 5-HT<sub>2A</sub> DOI. Os efeitos destes agonistas foram comparados aos causados pela administração nos mesmo núcleos do agonista benzodiazepínico midazolam.

Quanto aos efeitos das drogas injetadas no núcleo basolateral, nossos resultados mostram que a injeção de midazolam, 8-OH-DPAT e DOI prejudicou a resposta de esquiva nos dois testes. Além disso, os agonistas serotoninérgicos produziram efeito do tipo panicótico sobre a resposta de fuga. Já em relação aos efeitos da injeção das drogas no núcleo medial, somente o 8-OH-DPAT prejudicou a tarefa de esquiva. Nenhum dos agonistas serotoninérgicos alterou a resposta de fuga, que foi inibida somente pela injeção de midazolam.

Deste modo, nossos resultados indicam que núcleos amigdalóides distintos podem modular diferencialmente respostas defensivas associadas à ansiedade e ao pânico. Enquanto o sistema serotoninérgico do núcleo basolateral parece modular tanto a resposta de esquiva como a resposta de fuga, o sistema serotoninérgico do núcleo medial parece modular somente a resposta de esquiva. O conjunto dos nossos resultados não corrobora a proposição (Deakin e Graeff, 1991) quanto ao papel preponderante do complexo amigdalóide em modular comportamentos expressos em resposta aos perigos potenciais ou distais, como a esquiva inibitória, e quanto à proposição de que a serotonina nesta estrutura teria o papel de facilitar respostas de ansiedade. Desta forma, os resultados do presente estudo indicam que o papel da serotonina no complexo amigdalóide é mais complexo e abrangente do que o proposto na teoria original de Deakin e Graeff (1991).

STRAUSS, Christiana Villela de Andrade. **Effects of the activation of 5-HT<sub>1A</sub> and 5-HT<sub>2A/2C</sub> receptors in the amygdaloid complex on defensive responses associated to generalized anxiety and panic.** 144 f. Thesis (Doctoral) – Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, 2005.

Different studies have revealed the involvement of serotonin in modulation of behavioral and autonomic responses related to anxiety. Evidences obtained in conflict models led to the suggestion that serotonin enhances anxiety by acting in the amygdaloid complex. In contrast, results with intracerebral drug injection associated with aversive electrical stimulation indicate that serotonin inhibits aversion in the periaqueductal gray matter. To solve this contradiction, Deakin and Graeff (1991) proposed that different serotonergic pathways innervating the amygdaloid complex and the periaqueductal gray matter would be responsible for regulating defensive behaviors associated to generalized anxiety and panic disorders, respectively. According to this proposition, aversive stimuli representing potential threats activate these serotonergic pathways and increase serotonin release in both brain areas. In the amygdaloid complex, serotonin facilitates inhibitory avoidance, whereas in the periaqueductal gray matter it inhibits escape response.

To test this hypothesis, the elevated T-maze has been designed. In this test it is possible to evaluate, in the same rat, inhibitory avoidance and escape responses. Overall, studies performed in this model corroborate the proposition of Deakin and Graeff (1991) that serotonergic transmission in the dorsal periaqueductal gray matter inhibits escape response. However, conflicting results have been reported regarding to the role of serotonin in the amygdaloid complex.

The objective of the present study was to extend the investigation about the involvement of the amygdaloid complex in the modulation of defensive responses related to anxiety and panic. Thus, we evaluated the effects of the activation of 5-HT<sub>1A</sub> and 5-HT<sub>2A/2C</sub> receptors in the basolateral and medial amygdaloid nuclei on defensive responses generated by the elevated T-maze and light-dark transition tests. In the latter test, inhibitory avoidance has also been associated with generalized anxiety disorder. To this end, either the 5-HT<sub>1A</sub> receptor agonist 8-OH-DPAT or the preferential 5-HT<sub>2A</sub> receptor agonist DOI was microinjected into basolateral or medial amygdaloid nuclei. The effects of these drugs were compared to those caused by the administration of the benzodiazepinic agonist midazolam.

The results showed that all the agonists injected in the basolateral nucleus impaired inhibitory avoidance in both tests. Furthermore, the serotonergic agonists had a panicolytic-like effect on escape response. Regarding to the effects of drugs injected in the medial nucleus,



only 8-OH-DPAT impaired inhibitory avoidance, while none of the serotonergic agonists changed the escape response.

These results indicate that distinct amygdaloid nuclei may differentially modulate defensive responses associated with anxiety and panic. Whereas the serotonergic system in the basolateral nucleus modulates inhibitory avoidance and escape responses, this neurotransmitter in the medial nucleus seems to modulate only inhibitory avoidance.

Our results do not support the view (Deakin e Graeff, 1991) that the amygdaloid complex plays a preponderant role in modulating only response to potential or distal threats as inhibitory avoidance, and that serotonin in this structure enhances anxiety. The present results suggest that the role played by serotonin in this brain area is more complex and pervasive than that proposed by Deakin and Graeff (1991).

## 1.1. ANSIEDADE

Pesquisas epidemiológicas realizadas em vários países (Bland et al., 1988; Hwu et al., 1989; Robins e Regier, 1991; Kessler et al., 1994; Meltzer et al., 1995; Yonkers et al., 2000), inclusive no Brasil (Almeida-Filho et al., 1997; Andrade et al., 2002), apontam os transtornos de ansiedade como um dos transtornos mentais mais comumente observados na população geral.

Os dados do Estudo Epidemiológico por Área de Captação (*Epidemiologic Catchment Area – ECA*, Robins e Regier, 1991) nos Estados Unidos, por exemplo, mostram que aproximadamente  $\frac{3}{4}$  da população geral apresentam um ou mais medos irracionais ou ataques súbitos de ansiedade. No entanto, a maior parte das pessoas que participaram deste estudo não preenche critérios de gravidade ou prejuízo pessoal e social necessários para o diagnóstico de um transtorno de ansiedade (Robins e Regier, 1991).

De fato, nem sempre é fácil distinguir a ansiedade normal daquela que é considerada doença. Como será abordado mais adiante, o medo e a ansiedade são respostas normais dos animais a situações de perigo ou ameaça (Paksepp, 1990; Finger, 1994; Zangrossi e Graeff, 2004), tendo grande valor adaptativo. O estado de inquietude e alerta, assim como as alterações comportamentais e fisiológicas de taquicardia, sudorese, tensão muscular, entre outras, provocados por estas emoções, quando expressos em níveis adequados favorecem o bom desempenho do indivíduo em tarefas motoras e cognitivas. Porém, a expressão exacerbada das manifestações somáticas e psíquicas da ansiedade pode interferir de maneira significativa no funcionamento global do indivíduo, prejudicando o desempenho das atividades cotidianas e acarretando em

acentuado sofrimento. Neste caso, a ansiedade deve ser considerada patológica (Praprocki, 1990; Pratt, 1992; Graeff, 1994, 1999).

Há muitos anos, a ansiedade tem sido um importante objeto de estudo tanto no campo médico como no campo filosófico. No decorrer do tempo, a busca em amenizar o prejuízo funcional e o sofrimento causado pela ansiedade proporcionou grandes mudanças tanto nos conceitos como nas classificações dos transtornos de ansiedade. Desde o século XIX, os conceitos de ansiedade vêm sendo moldados por diversas concepções teóricas como a neurastenia proposta por Beard (1869), a do “coração irritável” de Da Costa (1871), a da neurose de angústia de Freud (1895) e pelas distinções nosológicas mais modernas elaboradas a partir dos trabalhos de Donald Klein (1980) durante a chamada “revolução psicofarmacológica” (para revisão ver Figueiredo, 2004; Pereira, 2004).

A abordagem contemporânea, de acordo com a classificação publicada na quarta edição do Manual de Diagnóstico e Estatística das Doenças Mentais (DSM IV, American Psychiatric Association, 1994), mostra os transtornos de ansiedade como um grupo de entidades clínicas distintas, cada qual com seus sintomas predominantes e formas de tratamento específicos. Dentre elas estão, por exemplo, o transtorno de ansiedade generalizada, os transtornos fóbicos, o transtorno obsessivo-compulsivo e o transtorno de pânico. A tabela abaixo mostra a classificação dos transtornos de ansiedade segundo o Manual de Diagnóstico e Estatística das Doenças Mentais (DSM IV, American Psychiatric Association, 1994).

**Tabela 1 - Classificação dos transtornos de ansiedade segundo o DSM-IV**

---

---

Fobia Específica

Fobia Social

Agorafobia Sem Distúrbio de Pânico

Transtorno de Pânico

Sem Agorafobia

Com Agorafobia

Transtorno de Ansiedade Generalizada

Transtorno Obsessivo-Compulsivo

Transtorno de Estresse pós-traumático

Transtorno de Estresse agudo

Transtorno de Ansiedade Devido a uma Condição Médica Geral

Transtorno de Ansiedade Induzido por Substâncias Químicas

Transtorno Atípico de Ansiedade

---

O DSM-IV apresenta os aspectos diagnósticos de cada um destes distúrbios, assim como a prevalência, a incidência, e os fatores agravantes e/ou predisponentes para cada um dos transtornos reconhecidos. Entretanto, tendo em vista o escopo do presente estudo abordaremos somente o transtorno de ansiedade generalizada e o transtorno de pânico.

Segundo o DSM-IV, o transtorno de ansiedade generalizada é caracterizado por preocupações excessivas, dificilmente controladas pelo indivíduo em relação a questões diárias ou circunstâncias da vida, como trabalho, finanças, atividades escolares e saúde

de membros da família. Estas preocupações são desproporcionais à real probabilidade de ocorrência do evento desencadeante. Esse estado de apreensão constante é geralmente acompanhado por sintomas como fadiga, irritabilidade, dificuldade de concentração, tensão muscular e distúrbios de sono.

Já o transtorno de pânico é diagnosticado quando há ocorrência repetida de ataques inesperados de pânico. Os ataques de pânico envolvem sensações de apreensão intensa, medo ou terror, que estão frequentemente associadas a sentimentos de falta de controle e medo de enlouquecer ou de morrer. Para que o quadro possa ser caracterizado como ataque do pânico, estas sensações devem vir acompanhadas de pelo menos 4 entre 13 sintomas como palpitações, tremores, náuseas e tonturas. Os indivíduos com transtorno do pânico apresentam preocupações contínuas quanto à ocorrência de novos ataques e mudam significativamente seu comportamento. Neste sentido, a esquia agorafóbica pode associar-se ao distúrbio do pânico pelo fato de que o indivíduo passa a evitar os lugares em que os ataques de pânico foram vivenciados. O indivíduo sente medo de ter outros ataques e este medo pode predispor-lo a um novo ataque de pânico.

Independente do tipo de transtorno, pacientes com transtorno de ansiedade apresentam declínio do desempenho na área profissional, social, no relacionamento familiar e conjugal e representam maior risco de dependência emocional, operacional e econômica. Os pacientes podem apresentar mais de um tipo de transtorno de ansiedade concomitantemente, além de transtornos de personalidade, estados depressivos e abuso de substâncias (Regier et al., 1998).

Assim, os diferentes transtornos de ansiedade são identificados como algumas das causas mais frequentes na procura de auxílio médico ou psiquiátrico (Lawlor e Lazare, 1989). A alta prevalência dos transtornos de ansiedade torna este grupo de

patologias um problema de saúde pública, prejudicando a qualidade de vida da população e gerando custos sociais diretos e indiretos bastante elevados (Mansion et al., 1993; Bernik e Minnuttentag, 2004).

Neste contexto, compreender os processos biológicos envolvidos nos transtornos de ansiedade representa um desafio para o campo da neurociência, o que tem levado ao crescente número estudos para se entender os mecanismos neurais responsáveis pela origem e manutenção dos transtornos ansiosos.

## **1.2. ANSIEDADE E REAÇÕES DE DEFESA**

Os trabalhos de Charles Darwin publicados em seu livro “The expression of Emotions in Man and Animals” (1872) fundamentam a visão evolutiva na qual o homem compartilharia com seus ancestrais não só suas características físicas, mas também suas emoções básicas. De acordo com esta abordagem, os estados emocionais de ansiedade e medo humanos teriam raízes filogenéticas nos comportamentos defensivos de animais frente a estímulos que representem perigo ou ameaça a sua sobrevivência (Paksepp, 1990; Finger, 1994; Graeff, 1990; Zangrossi e Graeff, 2004).

Para diferentes espécies animais, o perigo ou ameaça pode estar representado por vários estímulos como, por exemplo, estímulos ambientais como altura e iluminação, exposição a lugares novos, ou a presença do predador e/ou estímulos relacionados a este. Considerando fatores como a característica do ambiente, experiências anteriores e a posição do indivíduo na hierarquia social de seu grupo, diante destes estímulos os animais tendem a responder com quatro estratégias

comportamentais básicas: fuga, congelamento, ataque defensivo e submissão (Adams, 1979; Marks, 1994).

Nos últimos anos, os comportamentos defensivos, como por exemplo, os observados nas interações presa-predador, têm sido frequentemente associados a determinados transtornos de ansiedade reconhecidos clinicamente como, por exemplo, a ansiedade generalizada e o transtorno de pânico (Blanchard e Blanchard, 1988; Blanchard et al., 1993; Gray e McNaughton, 2000; Blanchard et al., 2001; Graeff e Zangrossi, 2002).

Muitas destas associações estão embasadas nos estudos conduzidos por Robert e Caroline Blanchard no Haváí que analisaram sistematicamente os comportamentos de roedores frente a predadores. Os autores classificaram as estratégias defensivas dos roedores de acordo com o nível de ameaça que o predador representa. Para os pesquisadores, o que determina o grau de ameaça do estímulo é a distância entre o roedor e o estímulo ameaçador, no caso o predador. Assim, os níveis de ameaça podem ser potencial, distal e proximal (Blanchard e Blanchard, 1988; Blanchard et al., 1993; Blanchard et al., 2001).

O primeiro nível de ameaça (potencial) é caracterizado pela incerteza da existência de perigo, como por exemplo, quando o animal está em um novo ambiente, em algum local onde a presença do predador já tenha sido detectada ou diante da apresentação de estímulos associados a este, como objetos impregnados com o seu odor. Em resposta ao perigo potencial ou incerto, o animal apresenta o padrão comportamental de avaliação de risco, composto por repetidas tentativas de aproximação, seguidas de esquiva ao estímulo ameaçador. Durante a avaliação de risco,

o rato, por exemplo, mantém o corpo estendido, o abdômen rente ao chão e a cabeça direcionada à fonte de perigo.

O segundo nível de ameaça (distal), ocorre quando o perigo é real mas se apresenta a uma certa distância, ou seja, quando o predador está presente e já foi detectado pela presa, mas está a uma distância segura e ainda não iniciou o ataque predatório. Nessa situação, o animal tenta escapar com a resposta de fuga, caso exista uma rota de saída. No entanto, quando a fuga não é possível, o animal tende a permanecer imóvel, no estado de congelamento, diminuindo assim a probabilidade de ser identificado pelo predador e garantindo um menor risco a sua sobrevivência.

Já o terceiro nível (proximal), é caracterizado pela proximidade ou contato do predador com a presa. Nesse caso, ocorrem tentativas explosivas de fuga ou respostas de agressão defensiva na tentativa de inibir a ação predatória (Blanchard e Blanchard, 1988; Blanchard et al., 1993, 2001).

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



distinção entre comportamentos que são subjacentes ao desencadeamento da ansiedade ou do medo.

As diferenças entre medo e ansiedade vão além dos aspectos comportamentais. Estudos farmacológicos mostram que as respostas de avaliação de risco e esquiva inibitória, adotadas no primeiro nível de defesa, são diminuídas pela administração de drogas ansiolíticas utilizadas clinicamente no tratamento do tratamento de ansiedade generalizada como o diazepam, o clordiazepóxido e a buspirona (Gray e McNaughton, 2000; Blanchard et al., 2003). Já as respostas de fuga, emitidas no terceiro nível, são resistentes a estas drogas ansiolíticas (Gray e McNaughton, 2000), mas sensíveis a drogas antidepressivas como a fluoxetina (Schenberg et al., 2001), empregadas no tratamento do tratamento do pânico (Rickels et al., 1993; Johnson et al., 1995).

Desta forma, têm sido propostas relações entre níveis de defesa, estratégias comportamentais adotadas e transtornos específicos de ansiedade. Por exemplo, enquanto a resposta de esquiva inibitória e de avaliação de risco estariam relacionadas ao transtorno de ansiedade generalizada, a resposta de fuga estaria relacionada ao transtorno do pânico (Blanchard et al., 1993; Graeff, 1994; Gray e McNaughton, 2000; Blanchard et al., 2003; Graeff, 2004).

Assim, a partir de tais associações, tem sido sugerido que patologias nos sistemas cerebrais que comandam as respostas de ansiedade e de medo levariam aos transtornos de ansiedade generalizada e de pânico, respectivamente (Blanchard et al., 1993; 2001; Graeff, 1994; 2002; 2004; Gray e McNaughton, 2000).

### 1.3. ANSIEDADE E SEROTONINA

A utilização clínica de drogas que atuam interferindo com a neurotransmissão mediada pela serotonina (5-hidroxitriptamina ou 5-HT) no tratamento dos transtornos de ansiedade impulsionou a investigação a respeito tanto do envolvimento deste neurotransmissor na elaboração de respostas comportamentais e autonômicas relacionadas ao medo e à ansiedade como do mecanismo de ação destas drogas ansiolíticas (Graeff, 1981; 1990; 1991; 1993; 1994; 1999; Eison e Temple, 1989; Hensman et al., 1991; Handley e McBlane, 1993; Griebel, 1995; Argyropoulos et al., 2000; Gray e McNaughton, 2000; Zangrossi et al., 2001; Graeff e Zangrossi, 2002; Graeff, 2004).

As primeiras evidências de que o sistema de neurotransmissão serotoninérgico estaria relacionado às emoções de medo e ansiedade foram obtidas ainda na década de 60 em modelos animais de conflito. Nestes modelos experimentais, o comportamento operante do animal é ao mesmo tempo mantido pela apresentação de recompensas, como por exemplo, água ou alimento, e suprimido pela apresentação de estímulos aversivos como choques elétricos nas patas (Geller e Seftel, 1960).

Inicialmente, Robichaud e Sledge (1969) observaram que a administração sistêmica do inibidor da síntese de serotonina, a para-cloro-fenilalanina (pCPA), liberava a expressão de comportamentos punidos por choques elétricos, caracterizando um efeito anti-conflito ou ansiolítico. O mesmo resultado foi observado por Graeff e Schoenfeld (1970) com a administração de dois antagonistas não seletivos de receptores serotoninérgicos: a metisergida e o ácido bromolisérgico. Além disso, corroborando tais evidências, foi verificado, no mesmo ano, que a administração do precursor da síntese

de serotonina, o 5-hidroxitriptofano (5-HTP), bloqueava o efeito do tipo ansiolítico induzido pelo pCPA (Geller e Blum, 1970).

Dois anos depois, mas ainda utilizando modelos de punição, Wise e colaboradores (1972) verificaram que os benzodiazepínicos interferem na transmissão serotoninérgica. Estes autores observaram que a administração sistêmica do agonista de receptores benzodiazepínicos oxazepam, nas mesmas doses em que liberava o comportamento punido, diminuía a taxa de renovação de 5-HT, principalmente no tronco encefálico. A partir destas informações, Wise e colaboradores formularam o primeiro modelo teórico sobre o papel da serotonina na ansiedade, na qual a ativação do sistema serotoninérgico em regiões prosencefálicas e mesencefálicas acarretaria no aumento da ansiedade.

Tal proposição foi confirmada, em parte, mais tarde com a observação de que a injeção de cetanserina, um antagonista de receptores serotoninérgicos do tipo 5-HT<sub>2</sub> no núcleo basolateral do complexo amigdalóide aumentava a frequência de comportamentos punidos, caracterizando um efeito do tipo ansiolítico (Petersen e Scheel-Kruger, 1984). Por outro lado, um agonista de receptores serotoninérgicos do tipo 5-HT<sub>1A</sub>, o 8-OH-DPAT, quando administrado no mesmo núcleo amigdalóide, diminuía a resposta punida (Hodges et al., 1987).

Assim, os resultados obtidos com da injeção de drogas que atuam em receptores serotoninérgicos no complexo amigdalóide de animais testados em modelos de conflito fundamentaram a proposição do papel ansiogênico da serotonina, ou seja, de que a serotonina teria o papel de aumentar a ansiedade (para revisão ver Graeff, 2004).

Apesar de alguns estudos apontarem para o papel ansiogênico da serotonina (Geller, 1970; Graeff e Schoenfeld, 1970; Wise et al., 1972; Tye et al., 1977; Hodges et

al., 1987), outros estudos indicavam um papel ansiolítico para este neurotransmissor (Kiser et al., 1980; Jenck et al., 1990; Nogueira e Graeff, 1995).

As evidências de que a serotonina teria o papel de diminuir a ansiedade foram obtidas a partir de estudos com um outro modelo experimental: a estimulação elétrica da matéria cinzenta periaquedutal (Kiser et al., 1975; 1978; Scenberg e Graeff, 1978). A estimulação desta estrutura gera o comportamento defensivo de fuga e alterações neurovegetativas, tais como dilatação pupilar, taquicardia, aumento da pressão sanguínea e da respiração que são similares às aquelas evocadas por situações naturais de perigo ou ameaça (Hess e Brugger, 1943; Fernandez De Molina e Hunsperger, 1959; Carrive, 1993). Em humanos, foi observado que a estimulação da matéria cinzenta periaquedutal, além de produzir analgesia, promove sensações intoleráveis de medo intenso, pavor e morte iminente, que se assemelham a um ataque de pânico (Nashold et al., 1969; 1974). Desta forma, a resposta de fuga eliciada pela estimulação elétrica da matéria cinzenta periaquedutal tem sido relacionada a ataques de pânico em humanos (Jenck et al., 1990; Lovick, 2000; Schenberg et al., 2001; Graeff e Zangrossi, 2002).

Nos primeiros estudos com este modelo, foi verificado que tanto o inibidor da síntese de serotonina pCPA (Kiser et al., 1975), como o antagonista serotoninérgico não seletivo ciproheptadina (Schenberg e Graeff, 1978), facilitavam a resposta de fuga, indicando um efeito pró-aversivo. Por outro lado, a potencialização da neurotransmissão serotoninérgica gerada pela administração sistêmica do inibidor da recaptação de serotonina/noradrenalina clomipramina prejudicava esta mesma resposta, indicando efeito antiaversivo (Kiser et al., 1978).

Outras evidências mostraram ainda que a injeção de 5-HT ou do agonista não seletivo de receptores serotoninérgicos 5-metoxi-N,N-dimetiltriptamina (5-MeODMT)

diretamente na matéria cinzenta periaquedutal aumentava o limiar de corrente elétrica necessário para induzir fuga nos animais, indicando a inibição desta resposta (Schütz et al., 1985).

Desta forma, enquanto a serotonina parece atuar aumentando a ansiedade em modelos que geram o conflito, este mesmo neurotransmissor parece diminuir o medo em modelos que induzem a resposta de fuga.

Além disso, resultados incongruentes também eram observados na clínica, onde a administração do antagonista de receptores serotoninérgicos do tipo 5-HT<sub>2</sub> ritanserina atenuava quadros de ansiedade generalizada (Celeumans et al, 1985), mas não causava efeito (den Boer e Westenberg, 1990), ou então, piorava quadros de transtorno de pânico (Deakin et al, 1992). Estas observações foram ainda confirmadas em testes experimentais conduzidos em humanos tanto em modelos relacionados à ansiedade generalizada (Hensman et al., 1991) como em modelos relacionados ao transtorno de pânico (Guimarães et al., 1997).

As evidências aparentemente contraditórias de que a serotonina aumenta a ansiedade atuando no complexo amigdalóide e diminui o medo atuando na matéria cinzenta periaquedutal levaram Deakin e Graeff (1991) a propor uma teoria na qual as diferentes vias serotoninérgicas que inervam estas estruturas seriam responsáveis pela elaboração de comportamentos defensivos associados à ansiedade generalizada e ao pânico.

Tanto o complexo amigdalóide como a matéria cinzenta periaquedutal são inervados por fibras serotoninérgicas provenientes do núcleo dorsal da rafe através dos tratos prosencefálico e periventricular, respectivamente (Azmitia, 1978). De acordo com Deakin e Graeff (1991), a via prosencefálica, que inerva o complexo amigdalóide,

facilitaria os comportamentos expressos em resposta a perigos potenciais ou distais como, por exemplo, a esquiva inibitória. Por outro lado, a via periventricular, que inerva a matéria cinzenta periaquedutal, inibiria reações de fuga e luta em resposta ao perigo proximal.

De acordo com a teoria de Deakin e Graeff (1991), diante de estímulos aversivos potenciais estas vias serotoninérgicas seriam ativadas, ocasionando o aumento da liberação de serotonina tanto no complexo amigdalóide como na matéria cinzenta periaquedutal. A ativação destas vias modularia a expressão de diferentes respostas comportamentais defensivas. No complexo amigdalóide, a serotonina facilitaria a esquiva comportamental, enquanto que na matéria cinzenta periaquedutal, o aumento da concentração de serotonina inibiria a resposta de fuga. Deste modo, a serotonina exerceria um papel dual, integrando diferentes tipos de reações comportamentais de defesa, pois a expressão de comportamentos desencadeados por ameaças reais ou proximais, como a luta e/ou a fuga pode ser inapropriado em situações nas quais o perigo é apenas discreto e potencial. Neste caso, estratégias mais flexíveis e elaboradas como os comportamentos de avaliação de risco e esquiva, coordenados pelo complexo amigdalóide, podem ser mais eficazes (Graeff, 1993; Graeff et al., 1996; Deakin e Graeff, 1991).

Desta forma, os autores propõem que a disfunção das vias serotoninérgicas núcleo dorsal da rafe/complexo amigdalóide e núcleo dorsal da rafe/matéria cinzenta periaquedutal levariam aos transtornos de ansiedade generalizada e de pânico, respectivamente (Deakin e Graeff, 1991; Graeff, 1993; Graeff et al., 1996, 1997; Graeff, 2002; Graeff, 2004).

Para testar esta teoria em laboratório, foi desenvolvido um modelo experimental no qual é possível se avaliar, em um mesmo animal, respostas de esquiva inibitória e de fuga: o labirinto em T elevado (Graeff et al., 1993, 1996, 1998; Viana et al., 1994; Zangrossi e Graeff, 1997). O aparato experimental onde o teste é conduzido é formado por três braços de mesmas dimensões, dispostos em forma de T e elevados em relação ao solo. Um dos braços é circundado por paredes e é disposto perpendicularmente aos dois outros braços desprovidos de paredes.

Para verificar o comportamento de esquiva inibitória, cada animal é colocado, por três vezes consecutivas, na extremidade distal do braço fechado e em cada uma das tentativas verifica-se a latência gasta pelo mesmo para sair deste braço com as quatro patas.

A seguir, é verificado o comportamento de fuga. Para tal, o mesmo animal é colocado, por três vezes consecutivas, na extremidade distal de um dos braços abertos e em cada uma das tentativas verifica-se o tempo dispendido pelo animal para sair deste braço com as quatro patas.

O labirinto em T elevado baseia-se no conhecimento de que roedores possuem medo inato de locais desprovidos de proteção (Montgomery, 1955). Assim, pode-se observar que as latências de saída do braço fechado aumentam ao longo das tentativas, evidenciando a aquisição da esquiva inibitória. Já as latências de saída do braço aberto geralmente tendem a diminuir ao longo das tentativas, mostrando o caráter aversivo desta resposta (Zangrossi e Graeff, 1997).

Uma série de estudos foi realizada nos últimos anos para validar este modelo tanto do ponto de vista comportamental como farmacológico, e os resultados obtidos são compatíveis com a proposição de que as respostas de esquiva inibitória e de fuga

estão relacionadas, respectivamente, à ansiedade generalizada e ao pânico (Graeff et al., 1993; Viana et al., 1994; Zangrossi e Graeff, 1997; Graeff et al., 1998; Sanson e Carobrez, 1999; Teixeira et al., 2000; Zangrossi et al., 2001; Graeff, 2004).

Corroborando a proposição de Deakin e Graeff (1991) foi verificado, por exemplo, que a administração sistêmica de d-fenfluramina, que ativa os neurônios serotoninérgicos do núcleo dorsal da rafe e libera serotonina nos terminais sinápticos localizados no complexo amigdalóide e na substância cinzenta periaquedutal facilita a resposta de esquiva e inibe a resposta de fuga (Graeff et al., 1997).

O mesmo efeito pôde ser verificado ainda após a manipulação farmacológica do núcleo dorsal da rafe, na qual a ativação dos neurônios serotoninérgicos foi produzida pela administração local do aminoácido excitatório ácido caínico (Graeff et al., 1997) ou do agonista inverso de receptores benzodiazepínicos FG7142 (Sena et al., 2003). Já a inativação dos neurônios do núcleo dorsal da rafe pela injeção do agonista de receptores GABA<sub>A</sub> muscimol ou da neurotoxina 5,7 DHT nesta estrutura produz efeito contrário tanto na esquiva como na fuga (Sena et al., 2003).

Resultados semelhantes, que corroboram a teoria de Deakin e Graeff (1991), foram obtidos também pela manipulação farmacológica de autoreceptores serotoninérgicos do tipo 5-HT<sub>1A</sub> no núcleo dorsal da rafe. A ativação destes receptores diminui a taxa de disparo dos neurônios serotoninérgicos (Sprouse e Aghajanian, 1987) e, como consequência, reduz a liberação de serotonina em áreas que recebem inervação deste núcleo (Hjorth e Sharp, 1991; Casanovas et al., 1999). Assim, foi verificado que a injeção do agonista 8-OH-DPAT no núcleo dorsal da rafe inibe a resposta de esquiva e potencializa a fuga. Efeito contrário foi observado após a injeção no mesmo núcleo do antagonista de receptores do tipo 5-HT<sub>1A</sub> WAY-100635 (Pobbe e Zangrossi, 2005).



Estudos com o labirinto em T elevado mostram ainda o envolvimento de receptores serotoninérgicos na matéria cinzenta periaquedutal na modulação da resposta de fuga. Neste sentido, foi verificado que a injeção intra-matéria cinzenta periaquedutal do agonista endógeno serotonina, do agonista de receptores 5-HT<sub>1A</sub> 8-OH-DPAT, do agonista preferencial de receptores 5-HT<sub>2A</sub> DOI ou do agonista preferencial de receptores 5-HT<sub>2C</sub> mCPP inibe a resposta de fuga (Zanoveli et al., 2003), mais uma vez concordando com a teoria de Deakin e Graeff (1991).

Já em relação ao complexo amigdalóide, os estudos conduzidos com o labirinto em T elevado mostram resultados conflitantes, divergindo da proposição formulada por Deakin e Graeff (1991) quanto ao papel desta área cerebral na ansiedade. Em um dos primeiros estudos realizados com este modelo experimental, Zangrossi e colaboradores (1999) mostraram que a ativação de receptores serotoninérgicos do tipo 5-HT<sub>1A</sub> no complexo amigdalóide causa efeito ansiolítico sobre a tarefa de esquiva inibitória no labirinto em T elevado, e não ansiogênico como hipotetizado por Deakin e Graeff (1991). Além disso, um estudo de marcação da proteína Fos realizado posteriormente mostrou que esta estrutura é ativada não só pela tarefa de esquiva, mas também pela resposta de fuga (Silveira et al., 2001).

Entretanto, antes de apresentarmos com mais particularidades estes resultados, que foram de relevância para a formulação do presente estudo, é necessário fazer uma breve consideração sobre a divisão anatômica do complexo amigdalóide.

O complexo amigdalóide está localizado no lobo temporal e é, na realidade, um aglomerado de núcleos que diferem entre si nos aspectos citoarquitetônicos, histoquímicos e funcionais. A organização arquitetônica do complexo amigdalóide tem

sido extensivamente estudada e inúmeras variações são encontradas na literatura quanto à organização, divisão e subdivisão de seus núcleos (Krettek e Price, 1978; De Olmos et al., 1985; Price et al., 1987; Amaral et al., 1992; Alheid et al., 1995; McDonald, 1998; Swanson e Petrovich, 1998; Pitkänen, 2000; Sah et al., 2003).

As diferenças anatômicas entre os núcleos amigdalóides foram detectadas em estudos comparativos no início do século XX quando Johnston (1923), baseado em critérios filogenéticos propôs, pela primeira vez, a divisão desta estrutura. Johnston verificou que o complexo amigdalóide é formado por um grupo primitivo de núcleos associado ao sistema olfatório e um grupo filogeneticamente novo de núcleos. O primeiro, denominado grupo corticomedia, compreende os núcleos central, medial e cortical, assim como núcleos do trato olfatório lateral. Já o segundo, denominado grupo basolateral, é composto pelos núcleos basolateral, basomedial e lateral (Johnston, 1923, *apud* Swanson e Petrovich, 1998). Porém, análises mais recentes mostraram diferenças histoquímicas e anatômicas entre os núcleos central e medial e o resto do grupo corticomedia (Alheid et al., 1995). Atualmente, os núcleos amigdalóides têm sido agrupados em três grandes grupos: 1) o grupo basolateral, composto pelos núcleos lateral, basolateral e basomedial; 2) o grupo centro-medial, formado pelos núcleos medial e central e 3) o grupo cortical, que inclui os núcleos corticais anterior e posterior (McDonald, 1998; Sah et al., 2003).

O envolvimento de núcleos amigdalóides específicos na modulação de diferentes comportamentos defensivos vem sendo investigado por meio de várias técnicas, como estimulação elétrica (Ursin e Kaada, 1960; Ursin, 1965), lesão (Coover et al., 1973; Grossman et al., 1975; Shibata et al., 1982; Jellestad et al., 1986; LeDoux et

al., 1990; Wallace e Rosen, 2001), marcação neuronal da proteína Fos (Campeau et al., 1991; Sandner et al., 1993; Duncan et al., 1996; Savonenko et al., 1999; Beckett et al., 1997; De Oliveira et al., 2000; Silveira et al., 2001) e manipulação farmacológica (Shibata et al., 1982; 1989; Hodges et al., 1987; Green e Vale, 1992; Duxon et al., 1997; Li CI et al., 2004). Os estudos de marcação neuronal da proteína Fos mostram, por exemplo, que núcleos amigdalóides distintos são ativados em decorrência da exposição de ratos a diferentes estímulos aversivos como choques elétricos (Campeau et al., 1991; Savonenko et al., 1999), altura e/ou espaços abertos (Duncan et al., 1996; Silveira et al., 2001), estímulos ultra-sônicos (Beckett et al., 1997) ou a estimulação elétrica ou química da matéria cinzenta periaquedutal (Sandner et al., 1993; De Oliveira et al., 2000). Neste sentido, tem sido mostrado que os núcleos amigdalóides parecem contribuir diferencialmente para a modulação de determinadas respostas defensivas (Killkross et al., 1997; Sah et al., 2003; Rosen, 2004). No entanto, na teoria original proposta por Deakin e Graeff (1991) os autores não fazem alusão a qual ou quais núcleos do complexo amigdalóide estariam implicados na regulação de comportamentos relacionados à ansiedade generalizada.

É interessante notar que nos estudos citados por Deakin e Graeff (1991) para embasar sua hipótese, a injeção das drogas serotoninérgicas foi realizada no núcleo basolateral (Petersen e Scheel-Kruger, 1984; Hodges et al., 1987). De fato, este núcleo tem sido frequentemente envolvido com a modulação de comportamentos defensivos associados à ansiedade generalizada, como as respostas de esquia inibitória e de inibição comportamental gerada em modelos baseados na punição (Nagy et al., 1979; Jellestad e Garcia Cabrera, 1986; Ambrogio Lorenzini et al., 1991; Davis, 1992; Killkross et al., 1997; Amorphant et al., 2000; Goosens e Maren, 2001). No entanto,

utilizando o labirinto em T elevado, Zangrossi e colaboradores (1999) mostraram que a injeção de 8-OH-DPAT no núcleo basolateral/lateral prejudica a aquisição da esquiiva inibitória, em vez de facilitá-la como hipotetizado por Deakin e Graeff (1991).

Cabe notar aqui que o efeito ansiolítico do 8-OH-DPAT nesta região também foi observado em um estudo conduzido no labirinto em cruz elevado, um modelo frequentemente utilizado para a seleção de drogas para o tratamento da ansiedade generalizada. Inicialmente, os autores mostraram que a administração intra-complexo amigdalóide desta droga, nas doses de 2, 4 ou 8 nmoles, foi destituída de efeito (Zangrossi e Graeff, 1994). Porém, por meio da análise comparativa dos dados, os autores mostraram que a maior dose (8 nmoles) de 8-OH-DPAT, quando comparada individualmente com o grupo controle, aumenta significativamente o tempo gasto pelos animais nos braços abertos, indicando efeito ansiolítico. Os autores mostraram ainda que a injeção do antagonista preferencial de receptores 5-HT<sub>2A</sub> cetanserina na mesma região produziu efeito ansiogênico no labirinto em cruz (Zangrossi e Graeff, 1994). Em conjunto, tais observações corroboram o efeito ansiolítico observado na resposta de esquiiva no labirinto em T elevado após a administração do agonista de receptores 5-HT<sub>1A</sub> 8-OH-DPAT (Zangrossi et al., 1999), mas contrastam com a hipótese proposta por Deakin e Graeff (1991) quanto ao papel ansiogênico da serotonina no complexo amigdalóide.

Além destes resultados conflitantes, outros estudos indicam que esta estrutura não esteja envolvida exclusivamente na modulação de comportamentos associados à ansiedade (Sandner et al., 1993; De Oliveira et al., 2000; Silveira et al., 2001). Utilizando o labirinto em T elevado, Silveira e colaboradores (2001) verificaram, por meio da marcação neuronal da proteína Fos, que a execução da resposta de fuga induz a

um aumento da expressão da proteína Fos no núcleo basolateral. Outros estudos que utilizaram a mesma técnica mostram que este núcleo é ativado também pela fuga gerada pela estimulação elétrica da matéria cinzenta periaquedutal (Sandner et al., 1993) ou pela apresentação de um estímulo aversivo de ultra-som de 20kHz (Beckett et al., 1997), sugerindo o envolvimento do núcleo basolateral no controle de respostas defensivas associadas ao pânico. Tais observações são reforçadas ainda por diferentes estudos que mostram a participação deste núcleo na regulação de outras respostas associadas a ataques de pânico como, por exemplo, o aumento da frequência cardíaca, da pressão sanguínea e da respiração (Gelsema, 1987; Maskati, 1989; Sanders e Shekhar, 1991; Sajdyk et al., 1999; Shekhar et al., 1999; 2003).

Os estudos mencionados acima sugerem que o papel da serotonina no complexo amigdalóide seja mais complexo e abrangente do que o proposto na teoria original de Deakin e Graeff (1991). Neste sentido, o presente trabalho tem como objetivo estender as investigações quanto ao efeito da ativação de receptores serotoninérgicos do tipo 5-HT<sub>1A</sub> e 5-HT<sub>2A</sub> do núcleo basolateral do complexo amigdalóide na modulação de respostas defensivas associadas ao transtorno de ansiedade generalizada e ao transtorno de pânico.

Ademais, é de nosso interesse verificar o efeito da ativação destes subtipos de receptores também no núcleo medial do complexo amigdalóide. Assim como o núcleo basolateral, este núcleo parece estar envolvido na regulação tanto de comportamentos associados à ansiedade generalizada como de comportamentos associados ao pânico. Desta forma, enquanto o estudo de marcação da proteína Fos de Silveira e colaboradores (2001) mostra que este núcleo é ativado pela tarefa de esquiiva inibitória no labirinto em T elevado, outros estudos que utilizaram esta mesma técnica apontam o

envolvimento do núcleo medial na regulação do comportamento de fuga, como o gerado pela estimulação elétrica ou química da matéria cinzenta periaquedutal (Sandner et al., 1993; De Oliveira et al., 2000).

Assim, no presente estudo, os efeitos da injeção dos agonistas serotoninérgicos no núcleo basolateral ou no núcleo medial foram investigados em animais submetidos aos testes do labirinto em T elevado e de transição claro-escuro. O comportamento de esquiava gerado durante este último teste, assim como a esquiava inibitória medida no labirinto em T elevado, tem sido associado à ansiedade generalizada (Graeff e Zangrossi, 2002).

Cabe ressaltar ainda que no presente estudo os animais foram pré-expostos a um dos braços abertos do labirinto em T elevado na véspera da realização do teste. Este procedimento foi adotado tendo em vista evidências que mostram que a pré-exposição potencializa a resposta de fuga, reduzindo respostas comportamentais à novidade, tais como o comportamento exploratório e a inibição comportamental, e favorecendo assim a detecção do efeito de drogas (Teixeira et al., 2000; Zanoveli et al., 2003). É digno de nota que a análise prévia do efeito da injeção de 8-OH-DPAT no núcleo basolateral sobre as respostas geradas no labirinto em T elevado realizada por Zangrossi e colaboradores (1999) foi conduzida em animais ingênuos a um dos braços abertos do aparelho experimental.

O presente trabalho teve por objetivo estender as investigações quanto aos efeitos da ativação dos receptores serotoninérgicos dos tipos 5-HT<sub>1A</sub> e 5-HT<sub>2A/2C</sub> dos núcleos basolateral e medial do complexo amigdalóide sobre as respostas defensivas geradas pelos testes do labirinto em T elevado e da transição claro-escuro.

Para tal, foram realizadas injeções bilaterais intra-núcleo basolateral ou intra-núcleo medial do agonista de receptores do tipo 5-HT<sub>1A</sub> 8-OH-DPAT ou do agonista preferencial de receptores do tipo 5-HT<sub>2A</sub> DOI. Os efeitos destes agonistas serotoninérgicos foram comparados aos causados pela administração nos mesmos núcleos amigdalóides de midazolam, uma droga ansiolítica benzodiazepínica. Cabe ressaltar que no teste do labirinto em T elevado todos os animais foram pré-expostos a um dos braços abertos do aparelho experimental.

Para verificar se os resultados obtidos nos testes do labirinto em T elevado e da transição claro-escuro não foram devidos a possíveis efeitos inespecíficos das drogas sobre a atividade locomotora dos animais, o comportamento dos animais também foi avaliado no teste do campo aberto.

### 3.1. ANIMAIS

Foram utilizados ratos Wistar, machos, provenientes do Biotério Central do Campus da Universidade de São Paulo – Ribeirão Preto, pesando no início do experimento, entre 290 a 310 g. O biotério possuía ciclo de claro-escuro de 12 horas (7:00 às 19:00 h) e temperatura controlada em  $22 \pm 1^\circ$  C. Os animais permaneciam em caixas de polipropileno (38 x 32 x 18 cm), forradas com serragem (seis animais por caixa), até o dia da cirurgia e tinham livre acesso à água e comida durante todo o experimento.

### 3.2. DROGAS

Foram utilizadas as seguintes drogas: maleato de midazolam (Roche, Brasil); 8-OH-DPAT ([8-hidroxi-2-(di-n-propilamino) tetralin], RBI, EUA) e DOI ([1-(2,5-dimetoxi-4-iodofenil)-2-aminopirapano], RBI, EUA).

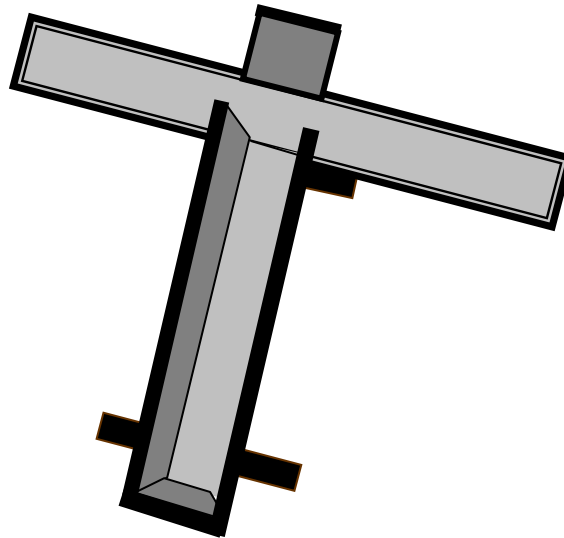
As drogas foram solubilizadas em salina estéril a 0,9% antes de cada sessão experimental.

### 3.3. APARATOS UTILIZADOS

**Labirinto em T elevado** – O labirinto em T elevado (Figura 1) é composto de 3 braços de madeira medindo, cada um, 50 cm de comprimento por 12 cm de largura. Um

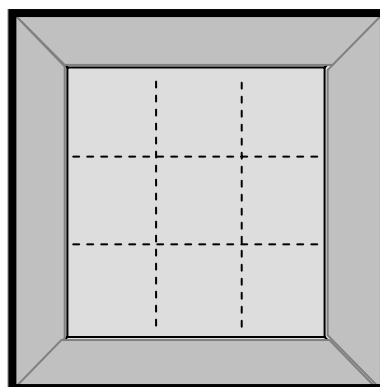


dos braços é circundado lateralmente por paredes opacas de 40 cm e é disposto perpendicularmente aos outros dois braços, que permanecem abertos. Todo o conjunto está elevado a 50 cm do solo. Para evitar a queda dos animais, os braços abertos são circundados por uma tira de acrílico transparente de 1 cm de altura.



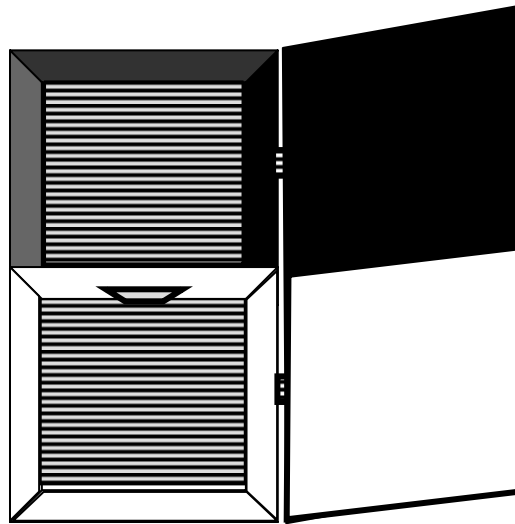
**Fig. 1.** Labirinto em T elevado

**Campo aberto** – O teste do campo aberto (Figura 2) foi realizado em uma arena de madeira, medindo 60 x 60 cm, com paredes laterais de 40 cm de altura.



**Fig. 2.** Campo aberto

**Caixa claro-escuro** – O teste da transição claro-escuro foi realizado em uma caixa confeccionada em madeira de 47 x 22 x 22 cm dividida em dois compartimentos de iguais dimensões, um de cor branca (compartimento claro) e outro de cor preta (compartimento escuro). Entre os compartimentos claro e escuro há um orifício (7 x 6 cm) que permite a transição do animal entre os dois compartimentos. O assoalho é constituído por barras de aço espaçadas em 1 cm. A caixa possui ainda uma tampa de acrílico pintada de preto sobre o compartimento escuro e translúcida sobre o compartimento claro (Figura 3).



**Fig. 3.** Caixa Claro-escuro

### 3.4. PROCEDIMENTO CIRÚRGICO

#### *Cirurgia estereotáxica para implante de cânulas no complexo amigdalóide*

Os animais foram anestesiados com 2,2,2 tribromoetanol (Aldrich, EUA) a 2,5% (10 mL/Kg, i.p.). Após a tricotomia na região da cabeça, o animal foi fixado a um aparelho estereotáxico (David-Kopf, EUA), de forma que a barra dos incisivos estivesse situada 3,3 mm abaixo do plano interaural. Doses suplementares do anestésico foram administradas quando necessário para manter o animal anestesiado durante a cirurgia. Uma associação antibiótica de largo espectro (Pentabiótico, Fontoura-Wyeth-Brasil) foi administrada (0,2 mL/animal, i.m.), a fim de prevenir possíveis infecções. Além disso, foi administrado (2,5 mg/mL/Kg, s.c.) o agente analgésico com atividade anti-inflamatória e antipirética Banamine (Schering-Plough S/A-Brasil).

Após a realização da limpeza do campo cirúrgico com uma solução hidroalcoólica contendo iodo a 2% foi administrado, via subcutânea, o anestésico local cloridrato de lidocaína associado a um vasoconstritor (Novocol 100, S.S. White-Brasil). Posteriormente, foi feita uma incisão longitudinal dos tecidos cutâneos e subcutâneos na área cirúrgica. Através de orifícios na superfície craniana, perfurados por meio de uma broca, cânulas guia de 14 mm (0,6 mm de diâmetro externo) foram introduzidas bilateralmente no encéfalo. As cânulas foram direcionadas para o núcleo basolateral ou para o núcleo medial do complexo amigdalóide de acordo com as seguintes coordenadas: AP = 2,5 mm; LM = 5,0 mm e DV = 6,4 mm, para o núcleo basolateral ou AP = 2,5 mm; LM = 3,5 mm e DV = 6,9 mm, para o núcleo medial, tendo bregma como referência (Paxinos e Watson, 1997). As cânulas foram fixadas no crânio por uma prótese de resina acrílica autopolimerizável presa a um parafuso de aço inoxidável

fixado à calota craniana. Por fim, foi introduzido em cada cânula guia um mandril de aço inoxidável, de mesmo comprimento, para evitar possíveis entupimentos das cânulas.

Após a cirurgia, os animais eram alojados em pares e retornavam ao biotério do laboratório, onde permaneciam por 7 dias até a realização dos testes comportamentais.

### **3.5. TESTES COMPORTAMENTAIS**

**Habituação** – Dois dias antes do teste, os animais foram manuseados pelo experimentador por duas vezes (5 minutos pela manhã e 5 minutos pela tarde). Após cada sessão de manuseio, os animais foram colocados por 5 minutos em uma caixa de acrílico de 24 x 18 x 35 cm com serragem no assoalho. Esta caixa era posteriormente utilizada como coadjuvante na execução do teste do labirinto em T. A sala onde a habituação e os testes foram realizados era iluminada por uma lâmpada de 40 W e possuía um exaustor de ar que produzia um ruído de fundo constante.

**Pré-exposição** – No dia seguinte à habituação (24 horas antes do teste), os animais foram pré-expostos por 30 minutos a um dos braços abertos do labirinto em T elevado. Cada animal era colocado individualmente em um dos braços abertos que permanecia isolado dos demais braços por uma parede de madeira, disposta na linha de separação entre a área central do labirinto e a porção proximal do braço aberto.

**Testes Comportamentais** - Vinte e quatro horas após a pré-exposição, os animais foram submetidos aos testes comportamentais.

Na primeira etapa do estudo, os animais, após sorteio prévio, receberam a injeção bilateral no núcleo basolateral do complexo amigdalóide (0,2  $\mu$ L / 2 min) de salina ou midazolam (10, 20 ou 40 nmoles) no experimento 1A, salina ou 8-OH-DPAT (4, 8 ou 16 nmoles) no experimento 1B, e salina ou DOI (4, 8 ou 16 nmoles) no experimento 1C. Adicionalmente, no experimento 1B grupos independentes de animais foram injetados com salina ou 8-OH-DPAT (0,4 nmol). Esta dose de 8-OH-DPAT causa efeito ansiogênico sobre respostas defensivas de ratos submetidos a modelos de punição (Hodges et al., 1987). Já doses maiores (16 nmoles) deste composto apresenta efeito ansiolítico no labirinto em T elevado em animais ingênuos aos braços abertos do aparelho experimental (Zangrossi e Graeff, 1999).

Nos experimentos da segunda etapa do estudo (experimentos 2A, 2B e 2C), os animais receberam as mesmas doses das drogas utilizadas na etapa 1, exceto a dose de 0,4 nmol de 8-OH-DPAT, porém agora administradas bilateralmente no núcleo medial do complexo amigdalóide.

Em todos os experimentos, a injeção foi feita simultaneamente nos dois hemisférios por meio de duas agulhas odontológicas (Mizzy, 16 mm) inseridas pelas cânulas guia, até atingir o alvo 2 mm abaixo da extremidade das cânulas. Cada agulha odontológica era conectada a uma microseringa (Hamilton 701-RN, EUA) de 5  $\mu$ L através de um tubo de polietileno (PE-10), o qual foi preenchido com água destilada. O deslocamento de uma bolha de ar no polietileno foi utilizado para verificar se a droga foi realmente microinjetada. Para controle do volume e do tempo de injeção, foi utilizada uma bomba microinjetora digital (Harvard Apparatus, modelo 55-2222).

Os animais foram testados no labirinto em T elevado 10 minutos após a microinjeção, exceto os animais tratados com DOI, que foram testados no labirinto em T elevado 20 minutos após a microinjeção (ver Nogueira e Graeff, 1995). Durante o teste, cada animal era primeiramente colocado na extremidade distal do braço fechado e o tempo de saída, com as quatro patas, deste braço era cronometrado (Linha de Base). A mesma medida foi tomada por mais duas vezes com intervalos de 30 segundos entre elas (Esquiva 1 e Esquiva 2). Os animais tiveram o tempo máximo de 5 minutos, em cada uma das tomadas de esquiva, para saírem do braço fechado. Trinta segundos após a tomada da Esquiva 2 foi verificada a latência de fuga (F) dos animais de um dos braços abertos do labirinto. Para tal, cada animal era colocado na extremidade do braço aberto e o tempo de saída deste braço, com as quatro patas, era cronometrado (F1). A latência de saída do braço aberto foi tomada por mais duas vezes (F2 e F3) com intervalos de 30 segundos entre elas. Durante os intervalos de 30 segundos, os animais eram colocados na caixa de acrílico descrita no procedimento de habituação.

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

Imediatamente após o teste no campo aberto, os animais foram colocados, individualmente, no compartimento claro da caixa claro-escuro, com a cabeça voltada para a porta divisória. O comportamento dos animais no teste do claro-escuro foi filmado e gravado para posterior análise. Durante os cinco minutos que sucederam a primeira entrada do animal no compartimento escuro, foram registrados o tempo total

gasto pelo animal no compartimento claro do aparato e o número de transições realizadas entre os dois compartimentos.

Um estudo realizado recentemente mostrou que a exposição ao labirinto em T elevado e ao campo aberto previamente ao teste do claro-escuro não altera o número de transições e o tempo de permanência no compartimento claro medidos neste teste (Sena, 2002).

### **3.6. PERFUSÃO**

Para a verificação da localização do sítio de injeção, os animais foram sacrificados com uretana a 25% e perfundidos intracardiacamente com salina (NaCl a 0,9%) e formol (10%). Após a perfusão, uma microagulha (Mizzy, 16mm) era inserida pela cânula guia e injetado 0,2 µL de corante Fast Green a 1%. O encéfalo era removido e mantido por, no mínimo, 48 horas em formol a 10%, até a confecção das lâminas histológicas.

### **3.7. HISTOLOGIA**

Os encéfalos foram levados ao criostato (Leica CM1850), onde secções coronais de 60 µm eram realizadas e adequadamente montadas em lâminas para verificação macroscópica do sítio de microinjeção, segundo diagramas reproduzidos do Atlas de Paxinos e Watson (1997). Foram incluídos nas análises estatísticas somente os dados

dos animais que tiveram a ponta da agulha de microinjeção localizada no núcleo basolateral (etapa 1) ou no núcleo medial (etapa 2) do complexo amigdalóide nos dois hemisférios cerebrais.

### **3.8. ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS RESULTADOS**

Em todos os experimentos, as latências de esquiva aos braços abertos do labirinto em T elevado, assim como as respostas de fuga, foram submetidas a uma análise de variância de medida repetida, tendo como fator independente o tratamento recebido pelo animal e como medida repetida as diferentes tentativas realizadas (Linha de base, E1 e E2 ou F1, F2 e F3). Quando apropriado, comparações entre os grupos em uma mesma tentativa foram feitas pelo teste de comparações múltiplas de Duncan. A distância percorrida no campo aberto, assim como o tempo gasto no compartimento claro e o número de transições realizados no teste do claro-escuro, foram submetidos a ANOVA seguida pelo teste de Duncan.



## **EFEITOS DA INJEÇÃO DE MIDAZOLAM, 8-OH-DPAT OU DOI NO NÚCLEO BASOLATERAL DO COMPLEXO AMIGDALÓIDE**

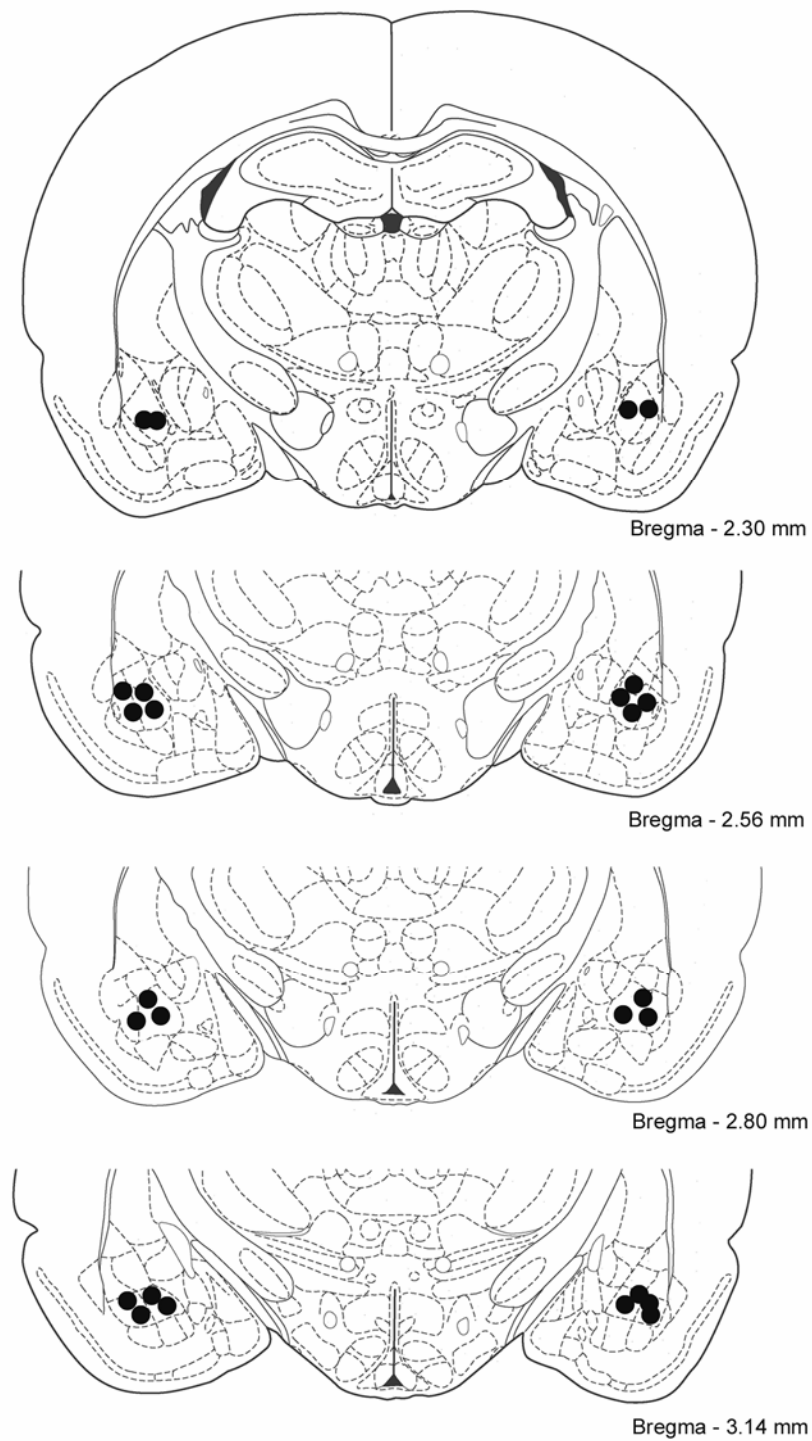
### **Análise histológica**

Dos 38 animais operados no experimento 1A, somente os dados de 29 animais foram incluídos na análise estatística. Dos 9 animais restantes, 6 tiveram o núcleo basolateral atingido em apenas um hemisfério, 1 não teve o núcleo atingido em nenhum dos hemisférios e 2 animais morreram antes dos testes comportamentais serem realizados.

No experimento 1B, foram operados 97 animais. Destes, 57 tiveram o sítio de injeção no núcleo basolateral do complexo amigdalóide nos dois hemisférios. Em 20 animais este núcleo foi atingido somente em um hemisfério e em 16 animais não foi atingido em nenhum dos hemisférios. Neste experimento, 2 animais foram descartados por apresentarem inflamação da área operada e 2 animais não tiveram os sítios de injeção identificados por erros metodológicos.

Já no experimento 1C, dos 58 animais operados, 34 tiveram seus dados incluídos na análise estatística. 13 animais tiveram o núcleo basolateral atingido em apenas um hemisfério e em 10 animais o sítio de injeção estava fora do núcleo basolateral do complexo amigdalóide nos dois hemisférios. Além disso, 1 animal foi descartado por parecer debilitado antes da realização dos testes comportamentais.

Os sítios de injeção observados nos três experimentos da etapa 1 estão ilustrados na Figura 4.



**Fig. 4.** Ilustração dos sítios de injeções, no núcleo basolateral do complexo amigdalóide, observados nos três experimentos da etapa 1, através do plano ântero-posterior (bregma – 2,30 mm até – 3,14 mm) de acordo com referências do Atlas Paxinos e Watson (1997). O número de pontos na figura é menor do que o total de animais usados (N =120) devido às muitas sobreposições.

## EXPERIMENTO 1A

### EFEITOS DA INJEÇÃO DE MIDAZOLAM NO NÚCLEO BASOLATERAL

#### Labirinto em T elevado

A Figura 5 representa o efeito da injeção de midazolam no núcleo basolateral do complexo amigdalóide sobre as respostas de esquiva (Figura 5A) e fuga (Figura 5B) medidas no labirinto em T elevado.

A ANOVA de medida repetida mostrou que os animais adquiriram a esquiva inibitória aos braços abertos do labirinto ao longo das tentativas [efeito tent.:  $F(2,50) = 64,80$ ;  $p \leq 0,001$ ]. Entretanto, este efeito foi significativamente diferente entre os grupos [efeito trat.:  $F(3,25) = 13,47$ ;  $p \leq 0,001$ ]. Foi observado ainda o efeito de interação entre o tratamento e as tentativas efetuadas [efeito trat. x tent.:  $F(6,50) = 5,09$ ;  $p \leq 0,001$ ]. Isto se deve ao fato que as latências de saída do braço fechado dos animais tratados com 10, 20 ou 40 nmoles de midazolam foram significativamente menores do que as do grupo tratado com salina na E1 e na E2, mas não na linha de base.

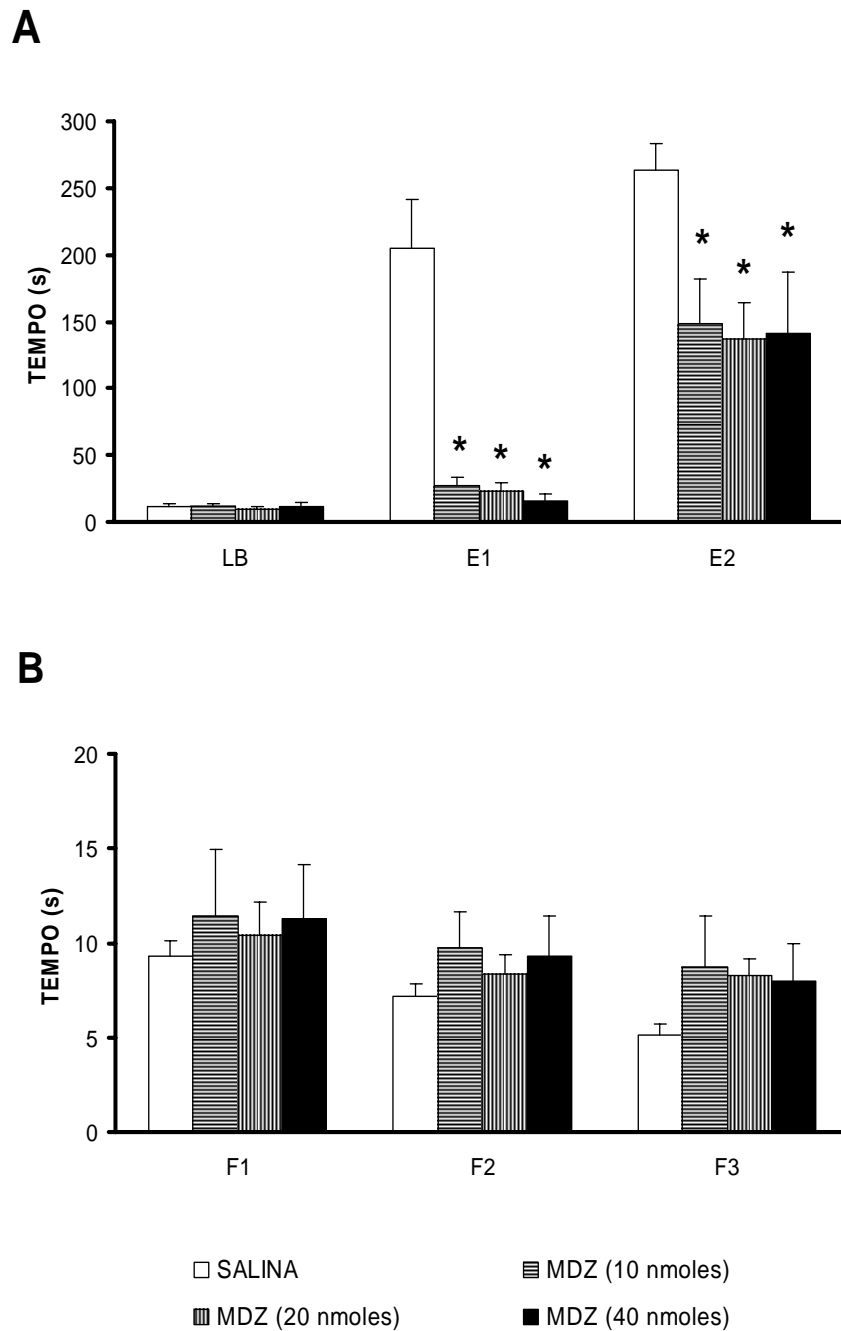
Em contraste ao observado na esquiva, a resposta de fuga no labirinto em T elevado não foi alterada pela injeção das diferentes doses de midazolam no núcleo basolateral do complexo amigdalóide [efeito trat.:  $F(3,25) = 0,54$ ; NS]. Foi observado efeito das tentativas [efeito tent.:  $F(2,50) = 5,91$ ;  $p \leq 0,05$ ], mas não de interação [efeito trat. X tent :  $F(6,50) = 0,14$ ; NS].

### **Campo aberto**

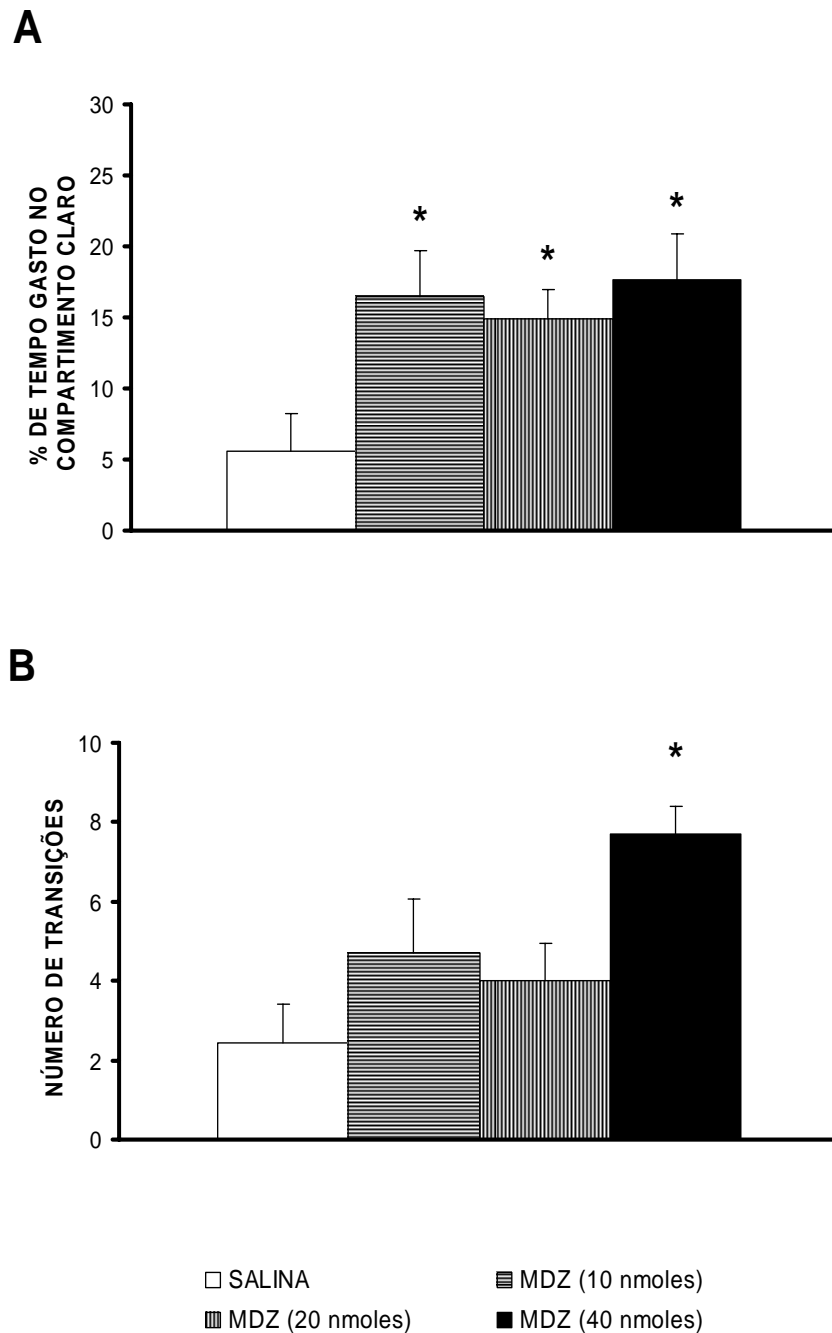
Como pode ser observado na Tabela 2, a injeção de midazolam no núcleo basolateral do complexo amigdalóide não alterou a atividade locomotora, medida pela distância total percorrida, no campo aberto [ $F(3,25) = 2,34$ , NS].

### **Claro-Escuro**

A ANOVA mostrou diferença significativa entre os grupos quanto às respostas medidas no teste do claro-escuro. A Figura 6A mostra que os animais que receberam midazolam no núcleo basolateral do complexo amigdalóide permaneceram mais tempo no compartimento claro da caixa claro-escuro quando comparados aos tratados com salina [ $F(3,25) = 3,71$ ,  $p \leq 0,05$ ]. No entanto, somente o grupo que recebeu a maior dose de midazolam (40 nmoles) efetuou mais transições na caixa claro-escuro quando comparado ao grupo salina [ $F(3,25) = 5,46$ ,  $p \leq 0,05$ ] (Figura 6B).



**Fig. 5.** Efeito (Média  $\pm$  EPM) da injeção de salina ou midazolam (10, 20 ou 40 nmoles) no núcleo basolateral do complexo amigdalóide sobre as respostas de esquiva inibitória (A) e fuga (B) no teste do labirinto em T elevado ( $n = 7 - 8$  por grupo). \*  $p \leq 0,05$  se comparado ao grupo salina em uma mesma tentativa.



**Fig. 6.** Efeito (Média  $\pm$  EPM) da injeção de midazolam (10, 20 ou 40 nmoles) ou salina no núcleo basolateral do complexo amigdalóide sobre a porcentagem de tempo de permanência no compartimento claro (A) e o número de transições (B) realizados no teste do claro-escuro (n = 7 - 8 por grupo). \*  $p \leq 0,05$ , se comparado ao grupo salina

## EXPERIMENTO 1B

### EFEITOS DA INJEÇÃO DE 8-OH-DPAT NO NÚCLEO BASOLATERAL

#### Labirinto em T elevado

O efeito da injeção de 8-OH-DPAT no núcleo basolateral do complexo amigdalóide sobre as respostas de esquiva e fuga medidas no labirinto em T elevado pode ser observado na Figura 7.

Foi verificado que os grupos testados adquiriram a esquiva inibitória aos braços abertos do labirinto [efeito tent.:  $F(2,74) = 6,38$ ;  $p \leq 0,001$ ]. No entanto, a aquisição da esquiva inibitória foi diferente para os diferentes grupos [efeito trat.:  $F(3,37) = 4,58$ ;  $p \leq 0,05$ ]. Foi observado ainda efeito de interação entre o tratamento e as tentativas efetuadas [efeito trat. x tent.:  $F(6,74) = 3,12$ ;  $p \leq 0,05$ ], já que os animais tratados com 8-OH-DPAT apresentaram latências de saída do braço fechado do labirinto menores do que as do grupo salina na E1 e na E2, mas não na linha de base.

Assim como a resposta de esquiva, na resposta de fuga observou-se efeito das tentativas [efeito tent.:  $F(2,74) = 26,45$ ;  $p \leq 0,001$ ] e do tratamento [efeito trat.:  $F(3,37) = 4,90$ ;  $p \leq 0,05$ ]. O efeito da interação entre o tratamento e as tentativas foi apenas marginal à significância estatística [efeito trat. x tent.:  $F(6,74) = 1,96$ ;  $p = 0,082$ ]. A análise post-hoc mostrou que somente os animais tratados com 4 nmoles de 8-OH-DPAT gastaram mais tempo do que os animais do grupo salina para realizarem a resposta de fuga em todas as tentativas. Já os animais tratados com 8 nmoles de 8-OH-DPAT tiveram o tempo de saída do braço aberto maior que o do grupo salina somente na F1.

Como pode ser visto na Figura 9, os grupos independentes de animais tratados com salina ou 8-OH-DPAT (0,4 nmol) também adquiriram a esquiava inibitória aos braços abertos do labirinto em T elevado [efeito tent.:  $F(2,28) = 46,67$ ;  $p \leq 0,001$ ]. No entanto, não houve diferença significativa entre estes dois grupos em nenhuma das tentativas [efeito trat.:  $F(1,14) = 0,05$ ; NS] (Figura 9A).

Assim como observado com a resposta de esquiava, não houve diferença significativa entre os grupos salina e 8-OH-DPAT (0,4 nmol) também quanto à resposta de fuga [efeito trat.:  $F(1,14) = 0,26$ ; NS] (Figura 9B).

### **Campo aberto**

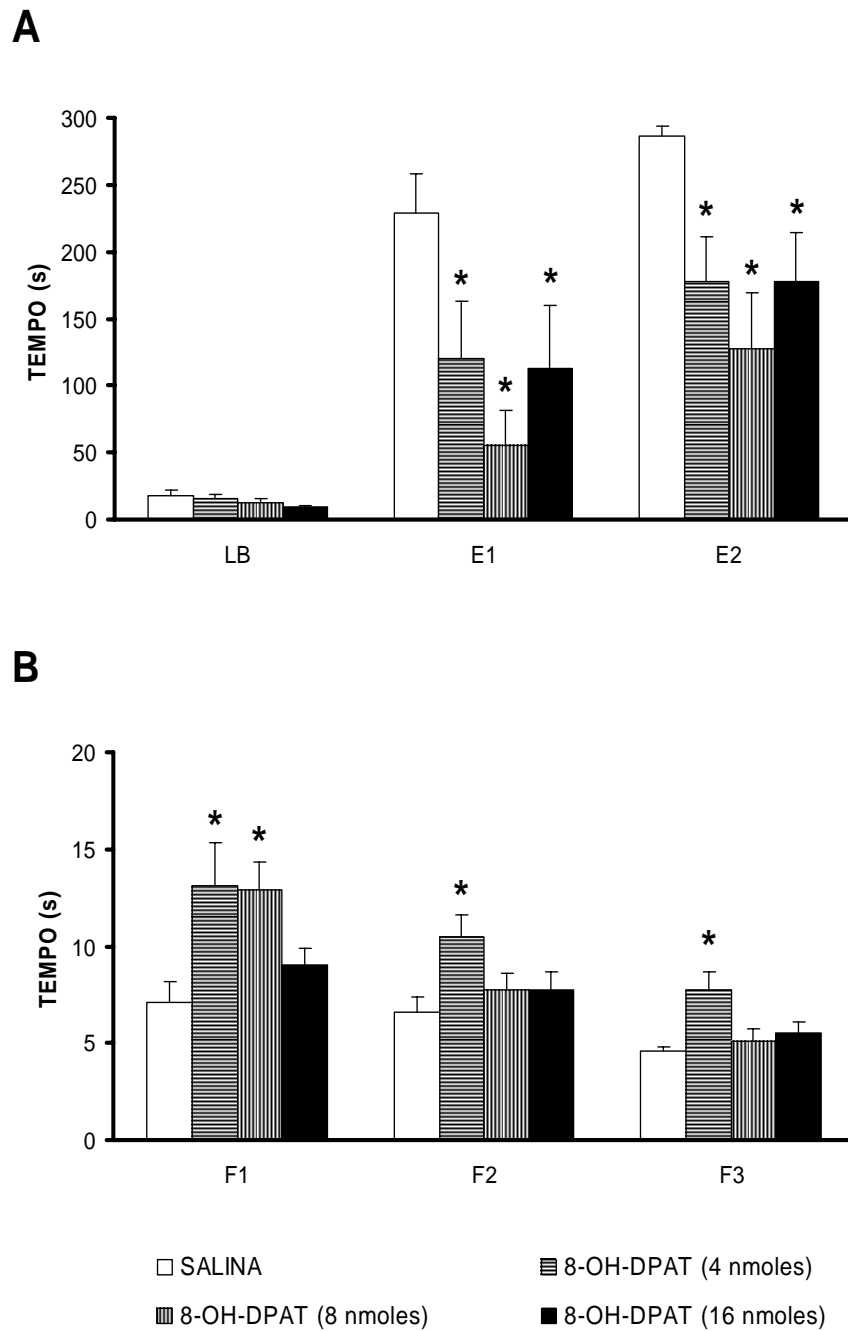
A distância percorrida no campo aberto (Tabela 2) não foi alterada pela injeção das diferentes doses de 8-OH-DPAT no núcleo basolateral [ $F(3,37) = 1,84$ , NS e  $t = 1,13(14)$ ; NS] (Tabela 2).

### **Claro-Escuro**

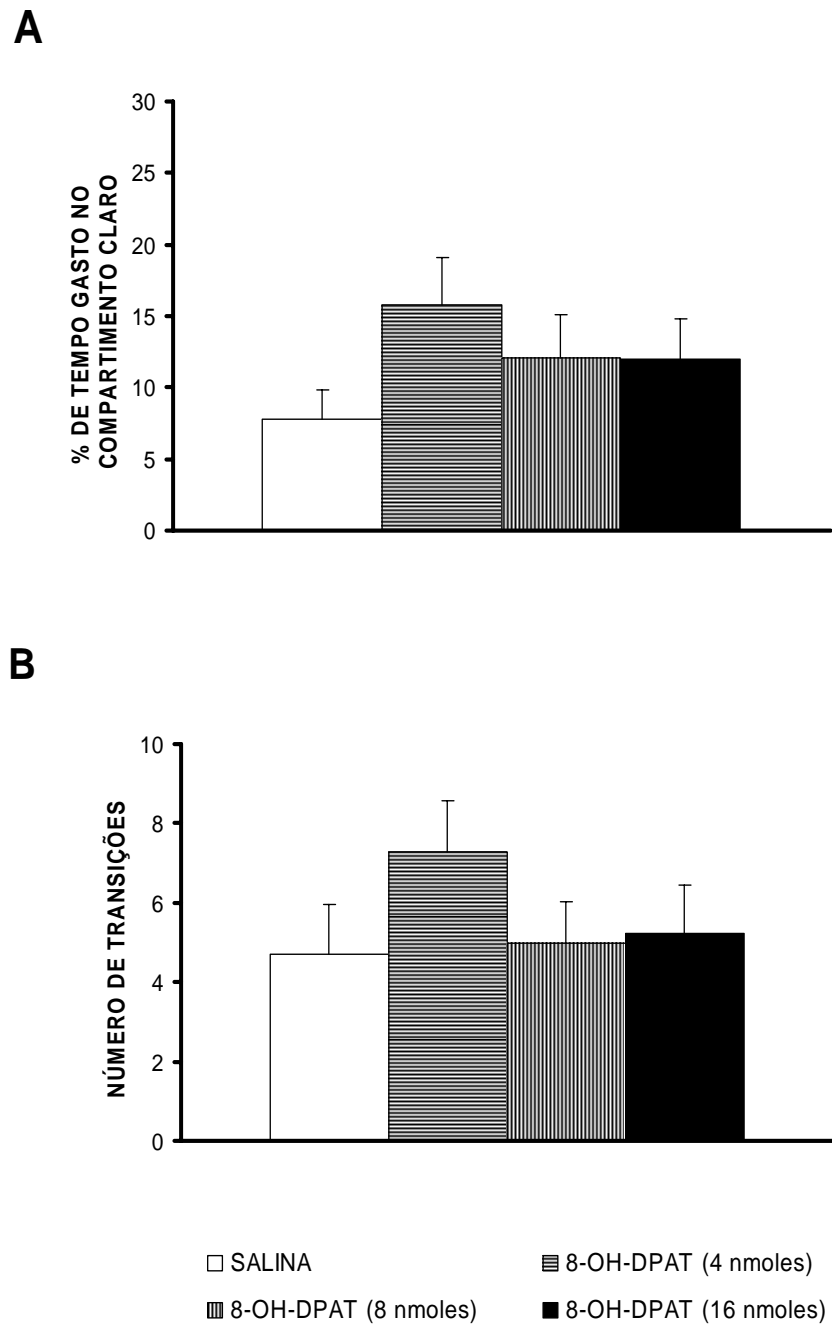
A análise de variância não mostrou efeito das diferentes doses de 8-OH-PAT sobre o tempo de permanência no compartimento claro [ $F(3,33) = 0,39$ , NS] ou sobre o número de transições [ $F(3,37) = 1,33$ , NS] realizadas na caixa claro-escuro (Figura 8).

Assim como o observado com a injeção de doses maiores de 8-OH-DPAT, não houve diferença significativa entre os grupos de animais que receberam salina ou 0,4 nmol deste composto quanto ao tempo de permanência no compartimento claro [ $t = 0,72(14)$ ; NS] e ao número de transições [ $t = 0,34(14)$ ; NS] medidas neste teste (Figura 10).

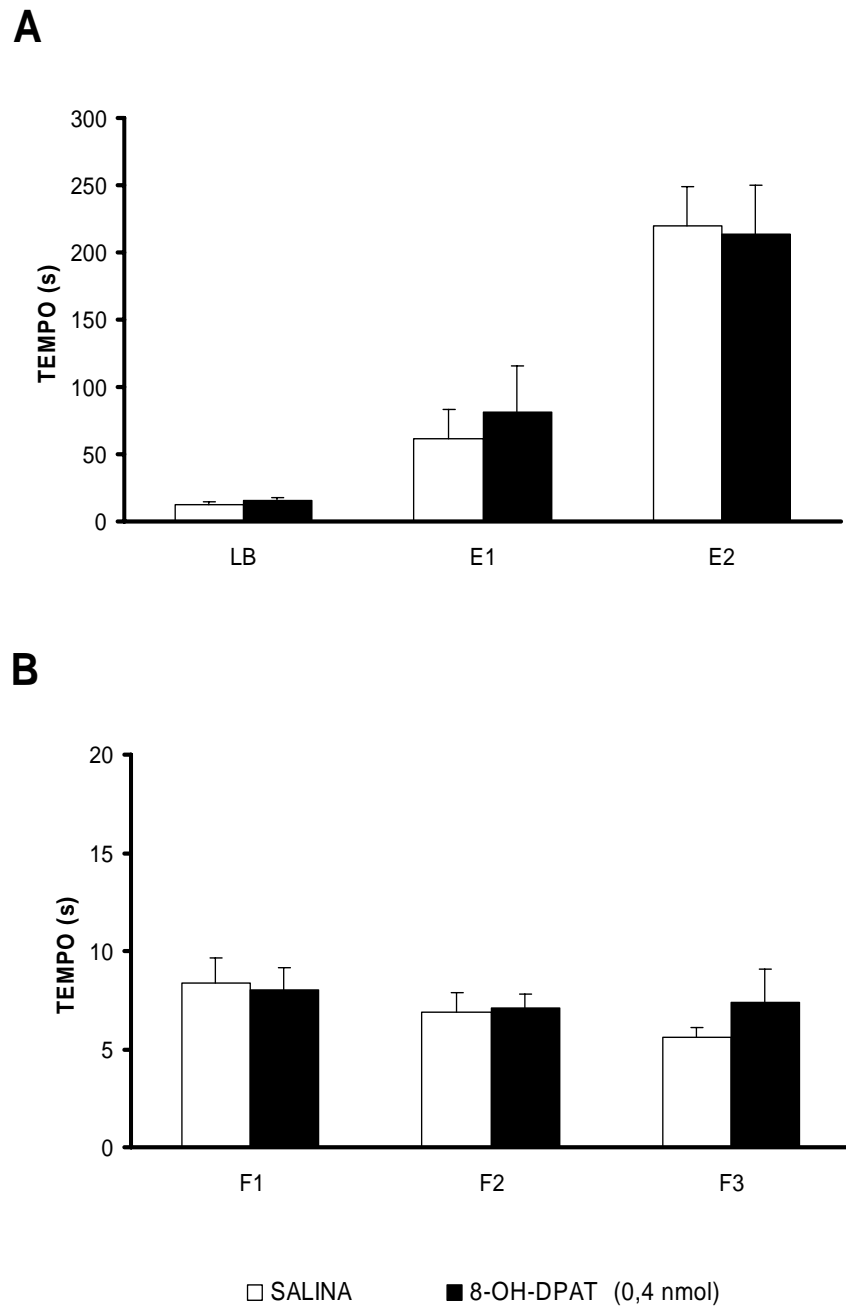




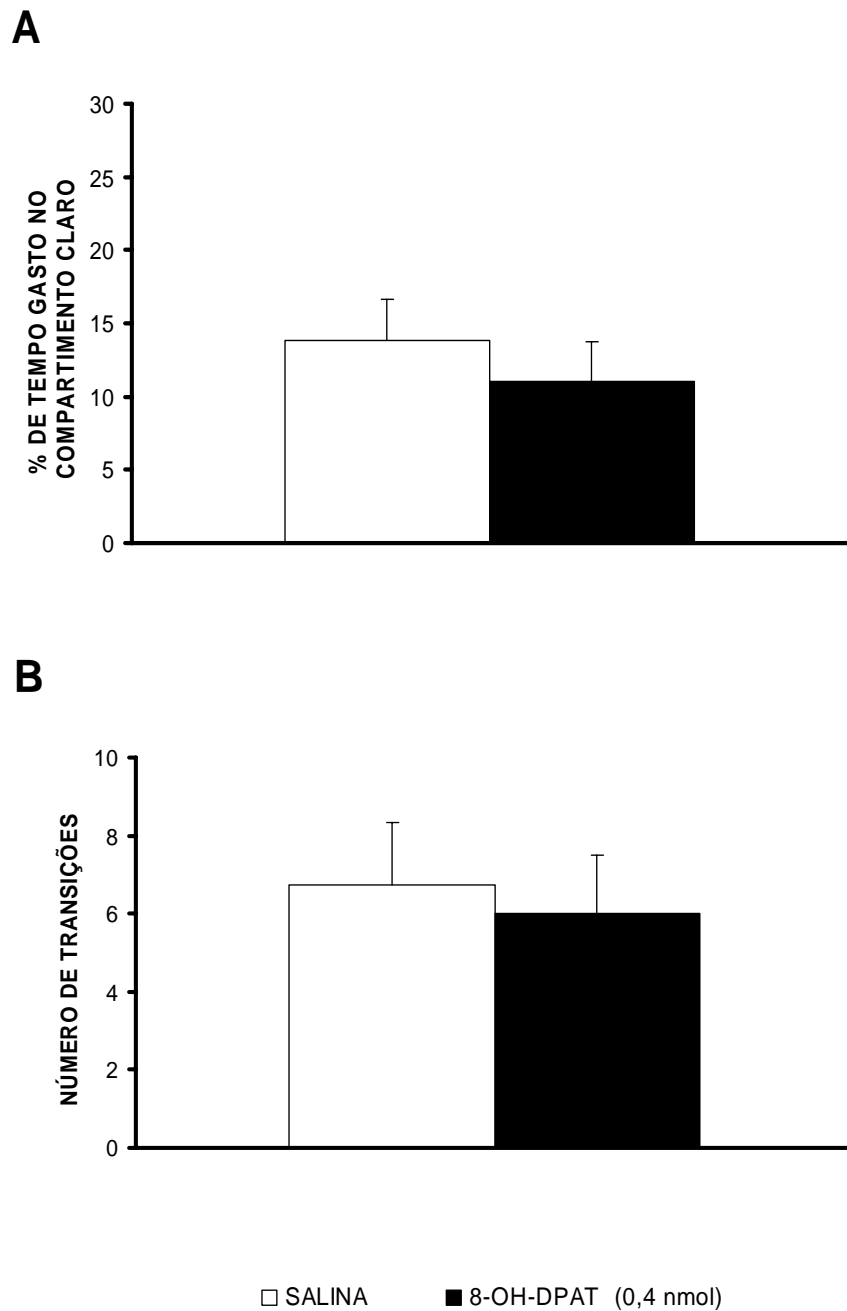
**Fig. 7.** Efeito (Média  $\pm$  EPM) da injeção de salina ou 8-OH-DPAT (4, 8 ou 16 nmoles) no núcleo basolateral do complexo amigdalóide sobre as respostas de esquiva inibitória (A) e fuga (B) no teste do labirinto em T elevado ( $n = 9 - 11$  por grupo). \*  $p < 0,05$ , se comparado ao grupo salina



**Fig. 8.** Efeito (Média  $\pm$  EPM) da injeção de salina ou 8-OH-DPAT (4, 8 ou 16 nmoles) no núcleo basolateral do complexo amigdalóide sobre a porcentagem de tempo de permanência no compartimento claro (A) e o número de transições (B) realizados no teste do claro-escuro (n = 9 - 11 por grupo).



**Fig. 9.** Efeito (Média  $\pm$  EPM) da injeção de salina ou 8-OH-DPAT (0,4 nmol) no núcleo basolateral do complexo amigdalóide sobre as respostas de esquiva inibitória (A) e fuga (B) no teste do labirinto em T elevado (n = 8 por grupo).



**Fig. 10.** Efeito (Média  $\pm$  EPM) da injeção de salina ou 8-OH-DPAT (0,4 nmol) no núcleo basolateral do complexo amigdalóide sobre a porcentagem de tempo de permanência no compartimento claro (A) e o número de transições (B) realizados no teste do claro-escuro (n = 8 por grupo).

## EXPERIMENTO 1C

### EFEITOS DA INJEÇÃO DE DOI NO NÚCLEO BASOLATERAL

#### Labirinto em T elevado

A Figura 11 representa o efeito da injeção de DOI no núcleo basolateral do complexo amigdalóide sobre as respostas de esquiva (Figura 11A) e fuga (Figura 11B) medidas no labirinto em T elevado.

Os animais adquiriram a esquiva inibitória aos braços abertos do labirinto ao longo das tentativas [efeito tent.:  $F(2,60) = 39,15$ ;  $p \leq 0,001$ ]. Entretanto, este efeito foi significativamente diferente entre os grupos [efeito trat.:  $F(3,30) = 6,05$ ;  $p \leq 0,05$ ]. Foi observado o efeito de interação entre o tratamento e as tentativas efetuadas [efeito trat. x tent.:  $F(6,60) = 3,46$ ;  $p \leq 0,05$ ] devido ao fato que os grupos que receberam 4, 8 ou 16 nmoles de DOI apresentaram latências de esquiva menores do que as do grupo salina na E1 e na E2, mas não na linha de base.

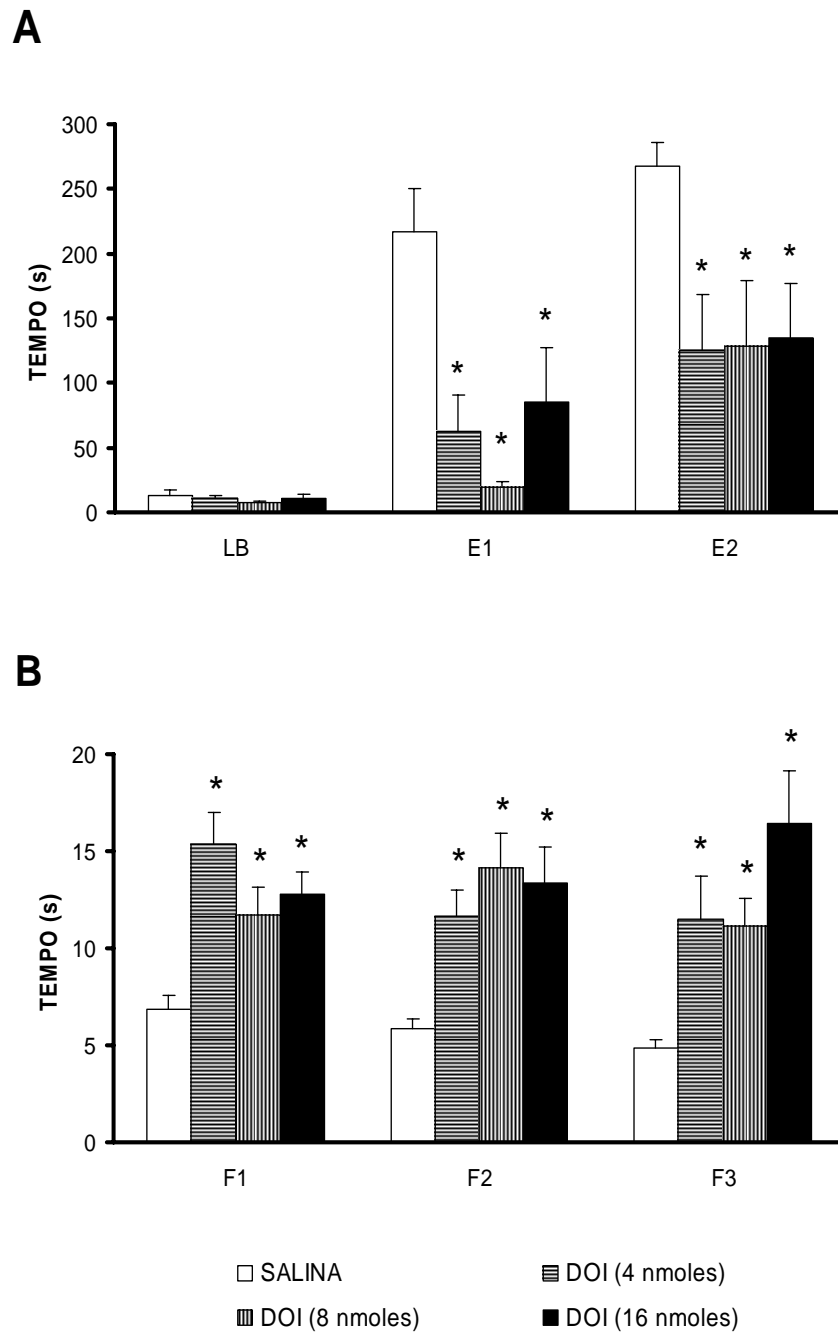
Assim como a tarefa de esquiva, a fuga do braço aberto do labirinto em T elevado (Figura 11B) foi alterada pela injeção das diferentes doses de DOI no núcleo basolateral [efeito trat.:  $F(3,30) = 9,64$ ;  $p \leq 0,001$ ]. Além disso, também foi observado o efeito de interação entre o tratamento e as tentativas efetuadas na tarefa de fuga [efeito trat. x tent.:  $F(6,60) = 2,74$ ;  $p \leq 0,05$ ]. Os grupos tratados com DOI apresentaram latências de saída do braço aberto do labirinto em T elevado maiores do que as do grupo tratado com salina na F1, F2 e F3.

### **Campo aberto**

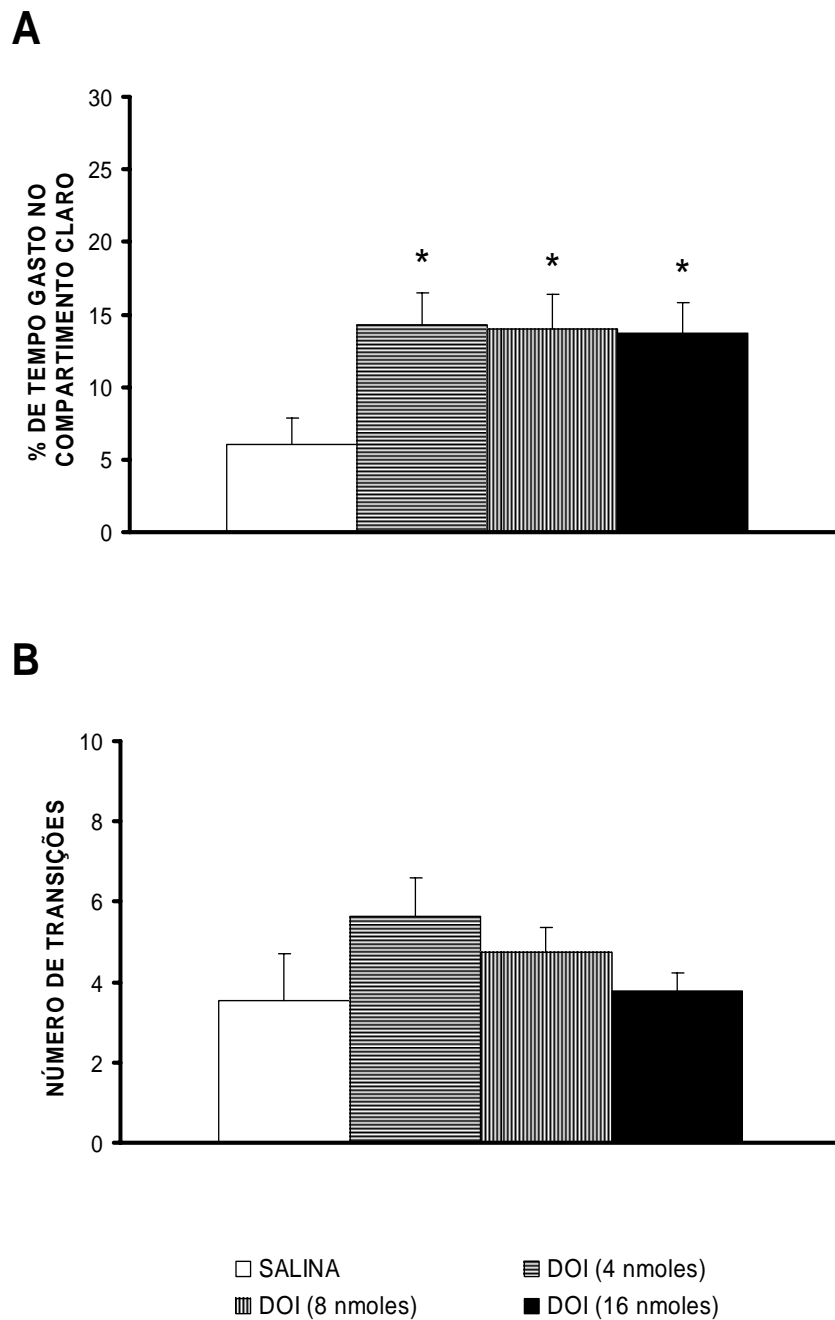
A atividade locomotora dos animais, medida no campo aberto, não foi alterada pela injeção de DOI no núcleo basolateral do complexo amigdalóide [ $F(3,30) = 0,16$ ; NS] (Tabela 2).

### **Claro-Escuro**

O tempo de permanência no compartimento claro da caixa claro-escuro foi significativamente maior para os grupos que receberam DOI se comparado ao grupo que recebeu salina [ $F(3,30) = 3,59$ ;  $p \leq 0,05$ ]. Entretanto, não houve diferença significativa entre os grupos quanto ao número de transições realizadas neste teste [ $F(3,30) = 1,26$ ; NS] (Figuras 12A e 12B).



**Fig. 11.** Efeito (Média  $\pm$  EPM) da injeção de salina ou DOI (4, 8 ou 16 nmoles) no núcleo basolateral do complexo amigdalóide sobre as respostas de esquiva inibitória (A) e fuga (B) no teste do labirinto em T elevado ( $n = 8 - 9$  por grupo). \*  $p \leq 0,05$ , se comparado ao grupo salina



**Fig. 12.** Efeito (Média  $\pm$  EPM) da injeção de salina ou DOI (4, 8 ou 16 nmoles) no núcleo basolateral do complexo amigdalóide sobre a porcentagem de tempo de permanência no compartimento claro (A) e o número de transições (B) realizados no teste do claro-escuro (n = 8 - 9 por grupo). \*  $p \leq 0,05$ , se comparado ao grupo salina



**Tabela 2 – Médias  $\pm$  EPM da distância total (m) percorrida no campo aberto, durante 5 minutos, pelos animais testados nos experimentos A, B e C da etapa 1.**

<b>DISTÂNCIA PERCORRIDA</b>	
<b>EXPERIMENTO 1A</b>	
Salina	12,34 $\pm$ 1,29
Midazolam 10 nmoles	16,41 $\pm$ 2,76
Midazolam 20 nmoles	13,35 $\pm$ 1,36
Midazolam 40 nmoles	18,03 $\pm$ 0,90
<b>EXPERIMENTO 1B</b>	
Salina	11,96 $\pm$ 1,01
8-OH-DPAT 4 nmoles	15,27 $\pm$ 1,70
8-OH-DPAT 8 nmoles	14,22 $\pm$ 1,08
8-OH-DPAT 16 nmoles	17,69 $\pm$ 3,18
Salina	16,14 $\pm$ 2,14
8-OH-DPAT 0,4 nmol	13,23 $\pm$ 1,41
<b>EXPERIMENTO 1C</b>	
Salina	13,59 $\pm$ 1,39
DOI 4 nmoles	14,83 $\pm$ 1,27
DOI 8 nmoles	14,29 $\pm$ 2,35
DOI 16 nmoles	14,89 $\pm$ 0,91

## **EFEITOS DA INJEÇÃO DE MIDAZOLAM, 8-OH-DPAT OU DOI NÚCLEO MEDIAL DO COMPLEXO AMIGDALÓIDE**

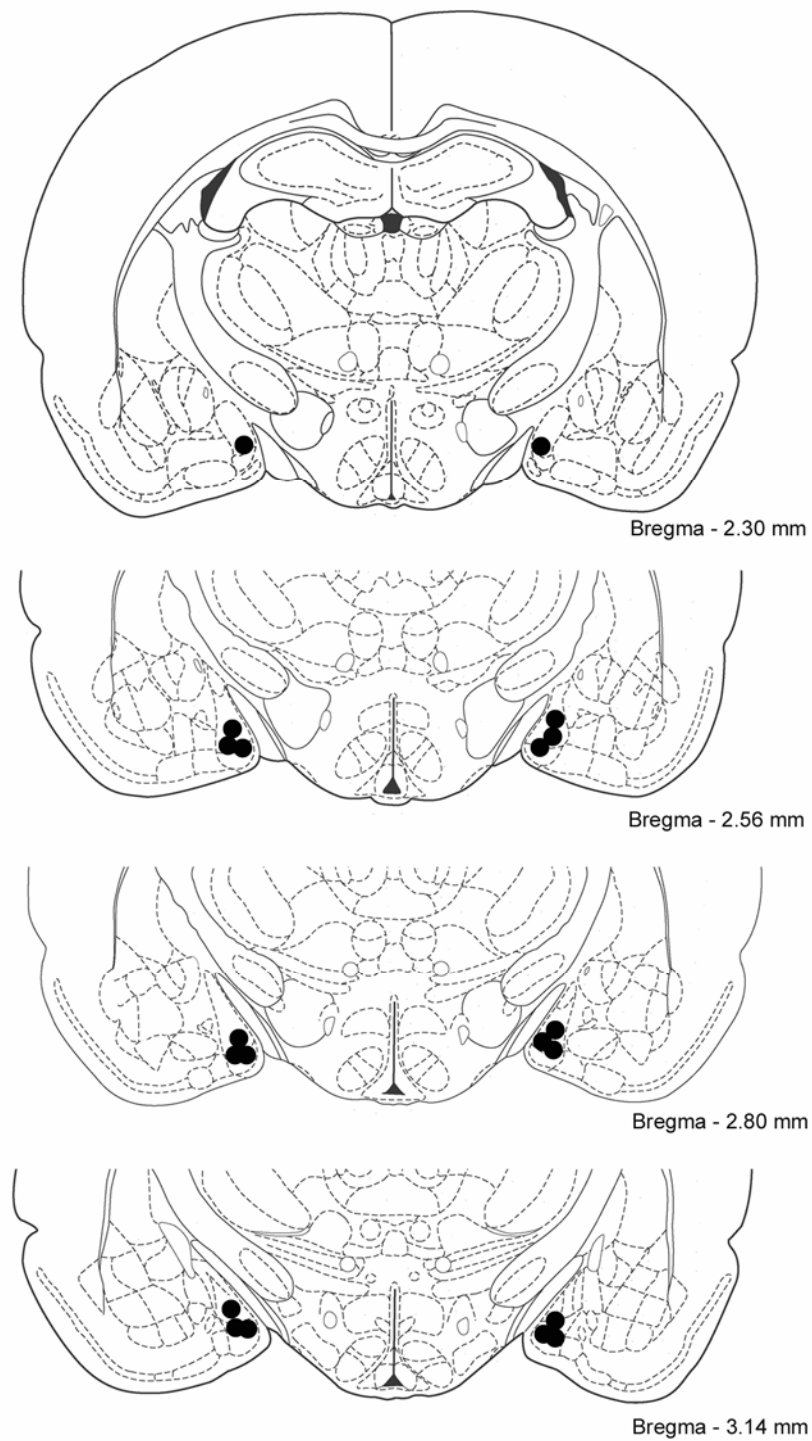
### **Análise histológica**

No experimento 2A, 43 animais foram operados e os dados de 35 animais foram incluídos na análise estatística. Dos animais excluídos, 2 animais tiveram o alvo de injeção atingido somente em um hemisfério e em outros 2 animais o sítio de injeção não estava localizado no núcleo medial do complexo amigdalóide em nenhum dos hemisférios. Em 4 animais não foi possível identificar o sítio de injeção.

No experimento 2B, foram operados 68 animais. Destes, 35 tiveram o sítio de injeção no núcleo medial nos dois hemisférios, em 14 animais este núcleo foi atingido somente em um hemisfério e em 16 animais não foi atingido em nenhum dos hemisférios. Neste experimento, 1 animal morreu após a cirurgia, 1 animal foi descartado porque apresentou quedas do labirinto em T elevado durante a pré-exposição e 1 animal não teve o sítio de injeção identificado por erros metodológicos.

Finalmente, no experimento 2C, dos 48 animais operados 30 tiveram o alvo de injeção atingido. Em 9 animais o núcleo medial foi atingido em somente um dos hemisférios e em 7 a injeção não atingiu o núcleo medial do complexo amigdalóide em nenhum dos hemisférios. Neste experimento, 1 animal morreu após a cirurgia e outro não teve o sítio de injeção identificado.

A Figura 13 ilustra os sítios de injeção observados nos experimentos 2A, 2B e 2C.



**Fig. 13.** Ilustração dos sítios de injeções, no núcleo medial do complexo amigdalóide, observados nos três experimentos da etapa 2, através do plano ântero-posterior (bregma – 2,30 mm até – 3,14 mm) de acordo com referências do Atlas Paxinos e Watson (1997). O número de pontos na figura é menor do que o total de animais usados (N =100) devido às muitas sobreposições.

## EXPERIMENTO 2A

### EFEITOS DA INJEÇÃO DE MIDAZOLAM NO NÚCLEO MEDIAL

#### Labirinto em T elevado

Como pode ser observado na Figura 14A, os animais tratados com salina e midazolam (10, 20 ou 40 nmoles) adquiriram a esquiua inibitória no labirinto em T elevado [efeito tent.:  $F(2,62) = 46,55$ ;  $p \leq 0,001$ ]. Entretanto, foi observado que a injeção de midazolam no núcleo medial do complexo amigdalóide não alterou esta resposta [efeito trat.:  $F(3,31) = 0,52$ ; NS].

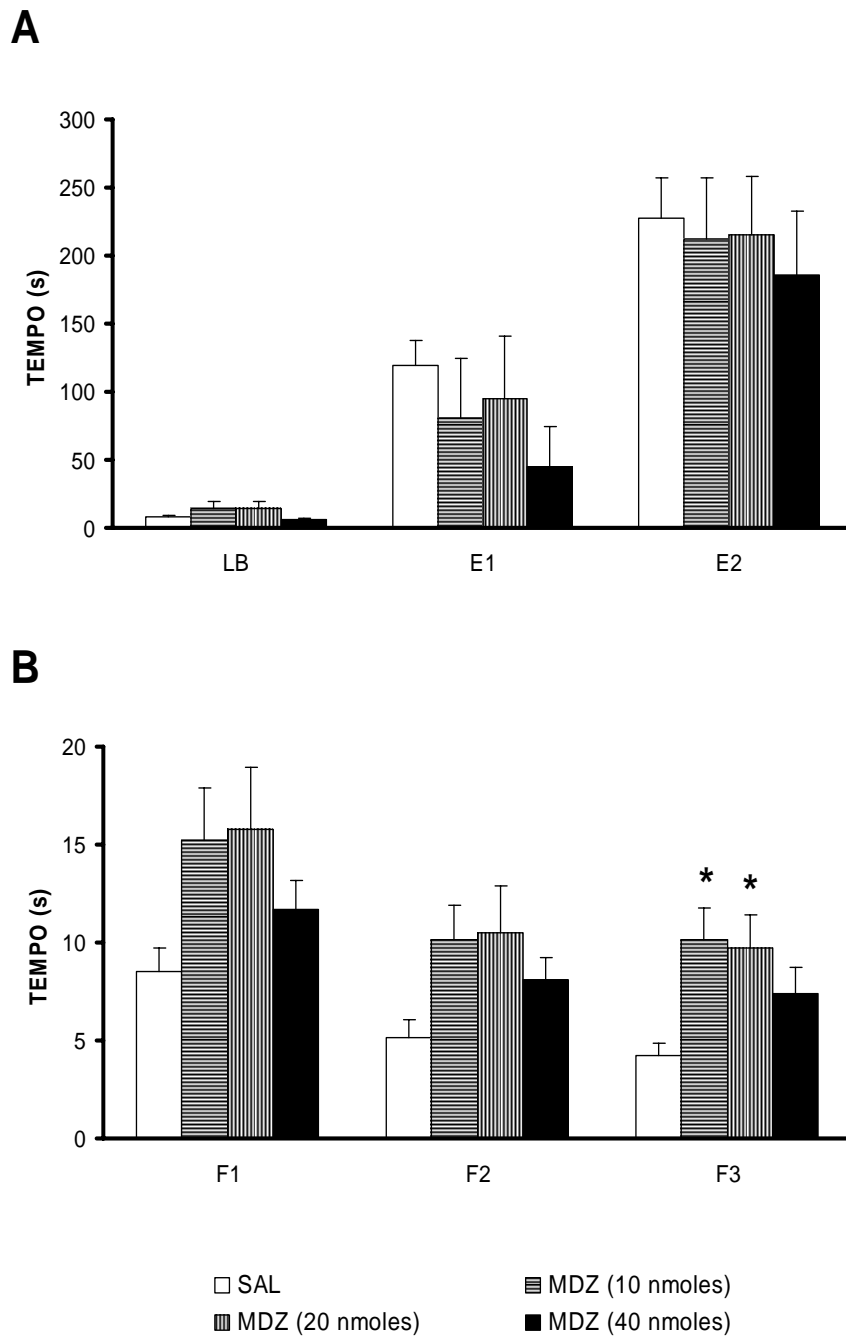
Quanto à resposta de fuga, representada na Figura 14B, foi observado efeito do tratamento [efeito trat.:  $F(3,31) = 3,68$ ;  $p \leq 0,05$ ] e das tentativas [efeito tent.:  $F(2,62) = 18,43$ ;  $p \leq 0,001$ ], mas não de interação entre o tratamento e as tentativas [efeito trat. x tent.:  $F(6,62) = 0,19$ ; NS].

#### Campo aberto

Como pode ser observado na Tabela 3, a injeção das diferentes doses de midazolam no núcleo medial do complexo amigdalóide não alterou a atividade locomotora dos animais medida no campo aberto [ $F(0,31) = 1,63$ , NS].

#### Claro-Escuro

A ANOVA não mostrou diferença significativa entre os grupos salina e midazolam quanto à porcentagem de tempo de permanência no compartimento claro [ $F(3,31) = 1,37$ , NS] e ao número de transições [ $F(3,31) = 2,19$ , NS] realizados no teste de transição claro-escuro (Figuras 15A e 15B).



**Fig. 14.** Efeito (Média  $\pm$  EPM) da injeção de salina ou midazolam (10, 20 ou 40 nmoles) no núcleo medial do complexo amigdalóide sobre as respostas de esquia inibitória (A) e fuga (B) no teste do labirinto em T elevado ( $n = 8 - 10$  por grupo). \*  $p < 0,05$ , se comparado ao grupo salina



## EXPERIMENTO 2B

### EFEITOS DA INJEÇÃO DE 8-OH-DPAT NO NÚCLEO MEDIAL

#### Labirinto em T elevado

As Figuras 16A e 16B mostram o efeito da injeção de 8-OH-DPAT no núcleo medial do complexo amigdalóide sobre as respostas de esquiva e fuga medidas no labirinto em T elevado. Os animais adquiriram a esquiva inibitória aos braços abertos do labirinto [efeito tent.:  $F(2,62) = 82,89$ ;  $p \leq 0,001$ ]. No entanto, este efeito foi significativamente diferente entre os grupos tratados com 8-OH-DPAT e o grupo tratado com salina [efeito trat.:  $F(3,31) = 31,01$ ;  $p \leq 0,001$ ]. Foi observado ainda o efeito de interação entre o tratamento e as tentativas efetuadas [efeito trat. x tent.:  $F(6,62) = 20,99$ ; NS]. Tal interação se deve ao fato que a resposta de esquiva no grupo tratado com 4 nmoles de 8-OH-DPAT foi menor do que a do grupo salina somente na linha de base. Já os grupos tratados com 8 ou 16 nmoles de 8-OH-DPAT permaneceram menos tempo no braço fechado em todas as tentativas.

Foi observado efeito das tentativas também em relação à resposta de fuga [efeito tent.:  $F(2,62) = 20,92$ ;  $p \leq 0,001$ ]. Porém, ao contrário da resposta de esquiva, não houve efeito do tratamento com as diferentes doses de 8-OH-DPAT sobre esta resposta [efeito trat.:  $F(3,31) = 1,18$ ; NS].

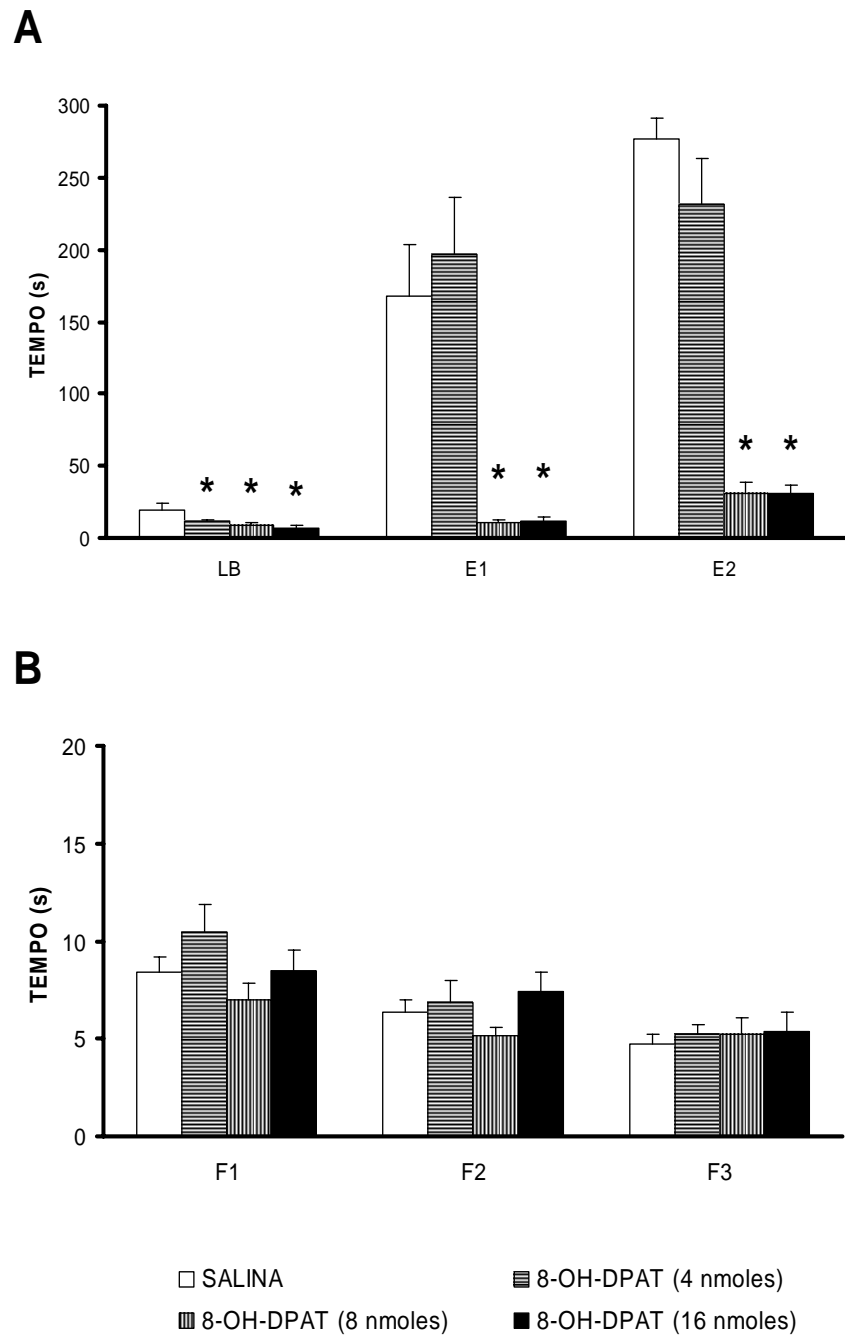
#### Campo aberto

Não houve diferença significativa entre os grupos testados quanto à distância percorrida [ $F(3,31) = 0,28$ , NS] no campo aberto (Tabela 3).

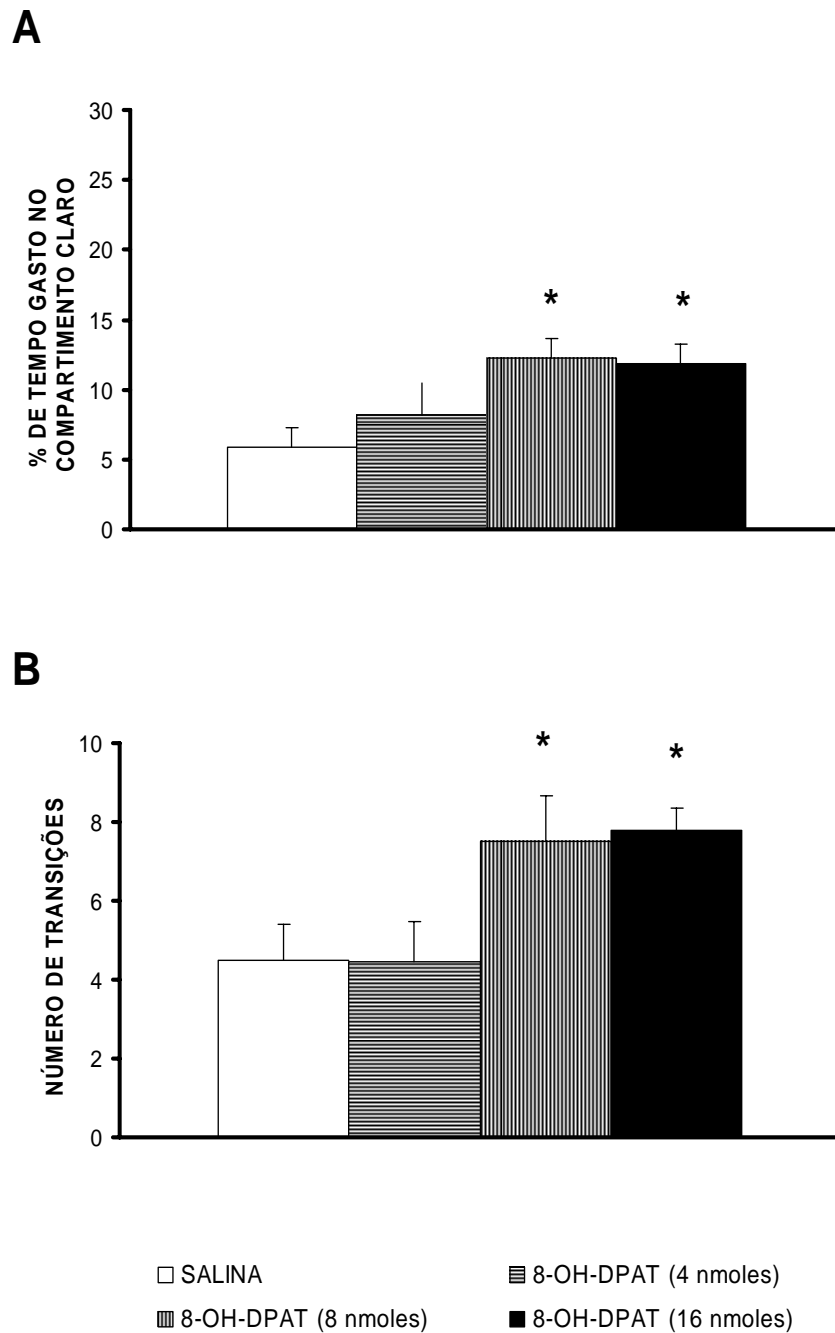
### **Claro-Escuro**

Quanto às medidas do teste de transição claro-escuro, foi observado que os grupos tratados com 8 e 16 nmoles de 8-OH-DPAT permaneceram mais tempo no compartimento claro [F (3,31) = 3,01,  $p \leq 0,05$ ] do que o grupo salina (Figura 17A). Além disso, estes grupos realizaram mais transições na caixa claro-escuro [F (3,31) = 4,03,  $p \leq 0,05$ ] quando comparados ao grupo salina (Figura 17B).





**Fig. 16.** Efeito (Média  $\pm$  EPM) da injeção de salina ou 8-OH-DPAT (4, 8 ou 16 nmoles) no núcleo medial do complexo amigdalóide sobre as respostas de esquia inibitória (A) e fuga (B) no teste do labirinto em T elevado ( $n = 8 - 10$  por grupo). \*  $p \leq 0,05$ , se comparado ao grupo salina



**Fig. 17.** Efeito (Média  $\pm$  EPM) da injeção de salina ou 8-OH-DPAT (4, 8 ou 16 nmoles) no núcleo medial do complexo amigdalóide sobre a porcentagem de tempo de permanência no compartimento claro (A) e o número de transições (B) realizados no teste do claro-escuro (n = 8 - 10 por grupo). \*  $p \leq 0,05$ , se comparado ao grupo salina

---

## EXPERIMENTO 2C

### EFEITOS DA INJEÇÃO DE DOI NO NÚCLEO MEDIAL

#### **Labirinto em T elevado**

O efeito da injeção de DOI, no núcleo medial do complexo amigdalóide sobre as respostas de esquiva e de fuga no labirinto em T elevado está representado nas Figuras 18A e 18B, respectivamente. Todos os animais adquiriram a esquiva inibitória [efeito tent.:  $F(2,52) = 67,62$ ;  $p \leq 0,001$ ]. No entanto, não houve diferença significativa entre os grupos que receberam a microinjeção de DOI ou salina [efeito trat.:  $F(3,26) = 0,22$ ; NS] em nenhuma das tentativas.

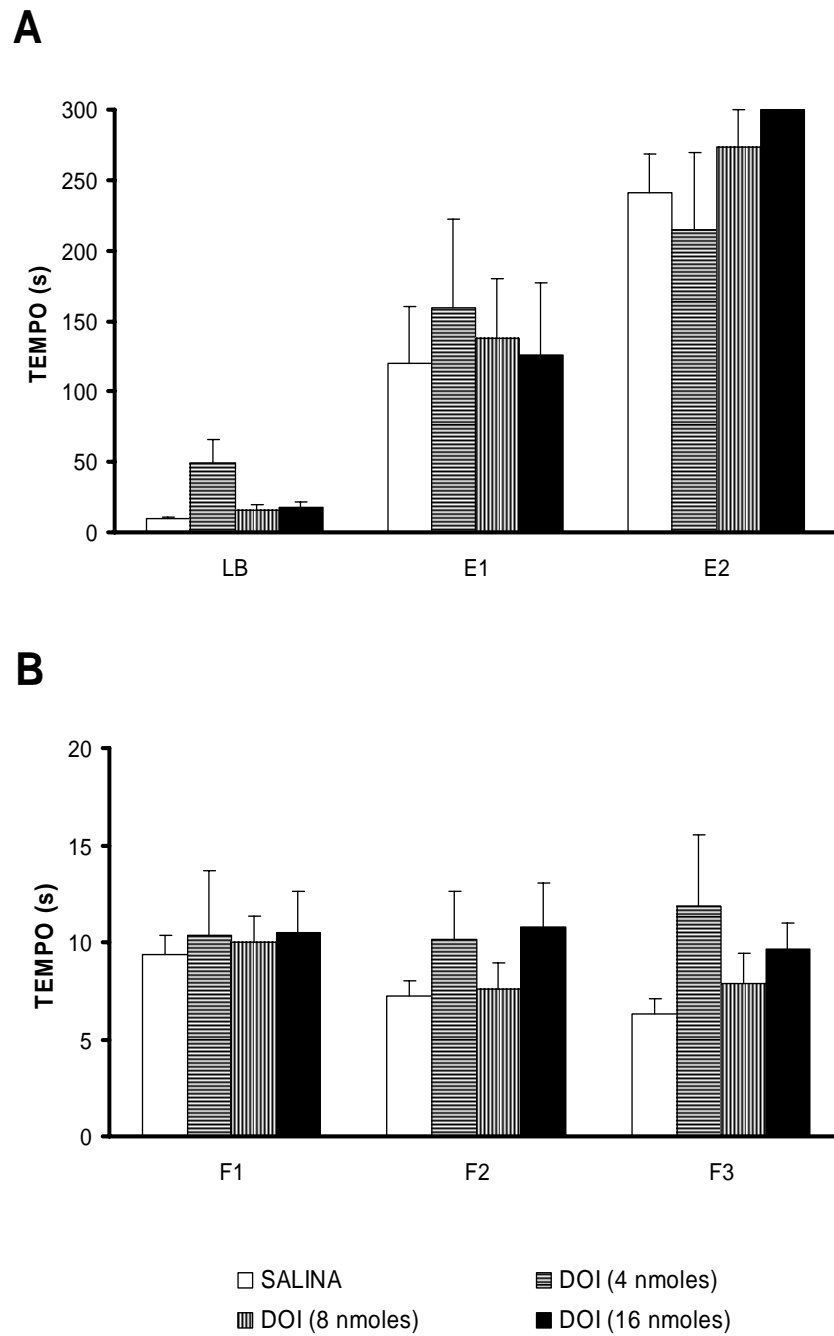
Quanto à resposta de fuga, não foi observado efeito das tentativas [efeito tent.:  $F(2,52) = 1,16$ ; NS] nem do tratamento [efeito trat.:  $F(3,26) = 0,90$ ; NS] entre os grupos tratados com as diferentes doses de DOI e o grupo salina.

#### **Campo aberto**

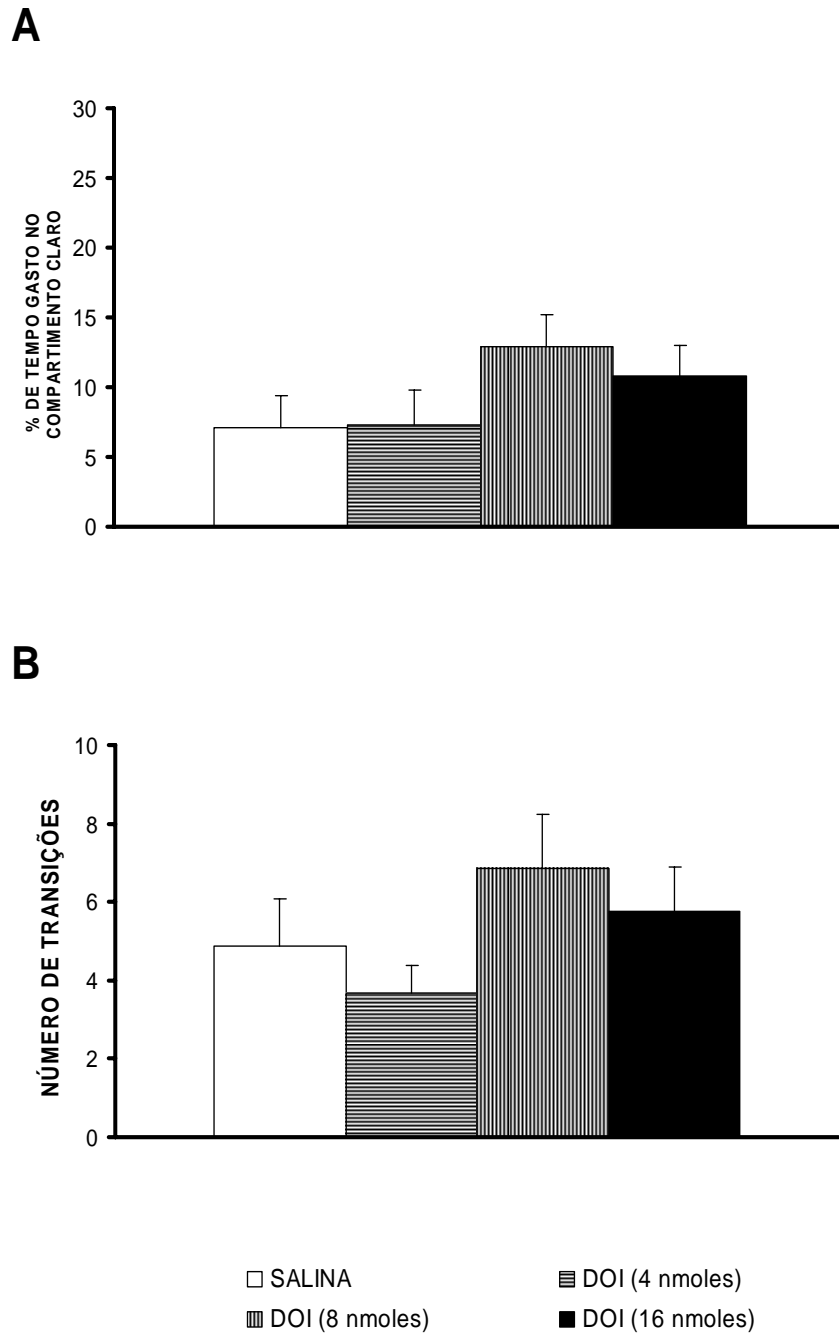
A injeção de DOI no núcleo medial do complexo amigdalóide não alterou a atividade locomotora dos animais medida pela distância total percorrida [ $F(3,26) = 0,83$ ; NS] no campo aberto (Tabela 3).

#### **Claro-Escuro**

Não foi observada diferença significativa entre os grupos salina e aqueles tratados com DOI quanto à porcentagem de tempo de permanência no compartimento claro [ $F(3,26) = 1,50$ ; NS] e ao número de transições [ $F(3,26) = 1,15$ ; NS] realizados no teste de transição claro-escuro (Figuras 19A e 19B, respectivamente).



**Fig. 18.** Efeito (Média  $\pm$  EPM) da injeção de salina ou DOI (4, 8 ou 16 nmoles) no núcleo medial do complexo amigdalóide sobre as respostas de esquiva inibitória (A) e fuga (B) no teste do labirinto em T elevado (n = 6 - 9 por grupo).



**Fig. 19.** Efeito (Média  $\pm$  EPM) da injeção de salina ou DOI (4, 8 ou 16 nmoles) no núcleo medial do complexo amigdalóide sobre a porcentagem de tempo de permanência no compartimento claro (A) e o número de transições (B) realizados no teste do claro-escuro (n = 6 - 9 por grupo).

**Tabela 3 – Médias  $\pm$  EPM da distância total (m) percorrida no campo aberto, durante 5 minutos, pelos animais testados nos experimentos A, B e C da etapa 2.**

<b>DISTÂNCIA PERCORRIDA</b>	
<b>EXPERIMENTO 2A</b>	
Salina	16,66 $\pm$ 1,00
Midazolam 10 nmoles	12,65 $\pm$ 1,51
Midazolam 20 nmoles	12,16 $\pm$ 1,81
Midazolam 40 nmoles	12,45 $\pm$ 1,82
<b>EXPERIMENTO 2B</b>	
Salina	14,50 $\pm$ 0,40
8-OH-DPAT 4 nmoles	16,40 $\pm$ 1,55
8-OH-DPAT 8 nmoles	15,06 $\pm$ 1,45
8-OH-DPAT 16 nmoles	15,07 $\pm$ 1,84
<b>EXPERIMENTO 2C</b>	
Salina	16,14 $\pm$ 2,43
DOI 4 nmoles	13,83 $\pm$ 1,87
DOI 8 nmoles	16,38 $\pm$ 1,81
DOI 16 nmoles	12,43 $\pm$ 1,91

Evidências na literatura são conflitantes quanto à participação de receptores serotoninérgicos no complexo amigdalóide na modulação de respostas defensivas associadas à ansiedade generalizada e ao pânico (Petersen e Scheel-Kruger, 1984; Hodges et al., 1987; Zangrossi e Graeff, 1994; Zangrossi e Graeff, 1999; Silveira et al., 2001). Neste contexto, o presente estudo teve como objetivo estender estas investigações, avaliando o efeito da injeção de agonistas de receptores serotoninérgicos dos tipos 5-HT<sub>1A</sub> e 5-HT<sub>2A/2C</sub>, 8-OH-DPAT e DOI, respectivamente, nos núcleos basolateral e medial desta estrutura sobre as respostas defensivas geradas nos testes do labirinto em T elevado e da transição claro-escuro. Enquanto a resposta de esquiva inibitória no labirinto em T elevado e no teste de transição claro-escuro tem sido associada à ansiedade generalizada, a de fuga no labirinto em T tem sido associada ao pânico. Os efeitos comportamentais dos agonistas serotoninérgicos 8-OH-DPAT e DOI foram comparados aos causados pela injeção, nos mesmos núcleos, da droga ansiolítica benzodiazepínica midazolam.

Inicialmente, cabe ressaltar que os resultados por nós obtidos não parecem decorrer de efeitos inespecíficos das drogas utilizadas sobre a atividade locomotora dos animais. Neste sentido, nenhuma das drogas administradas no núcleo basolateral ou no núcleo medial do complexo amigdalóide alteraram a distância percorrida pelos animais no teste do campo aberto. Além disso, alterações opostas sobre as latências de esquiva e fuga no teste do labirinto em T elevado também indicam ausência de efeito das drogas sobre a atividade locomotora. Como pôde ser observado, por exemplo, com a injeção de 8-OH-DPAT ou DOI no núcleo basolateral, enquanto a latência de esquiva foi diminuída, a de fuga foi aumentada. Tendo em vista que a demanda motora para a

execução destas tarefas é similar, é assim improvável que o efeito destes compostos no teste seja devido primariamente a alterações na atividade locomotora dos animais.

Visando facilitar a compreensão da presente discussão, os resultados obtidos nos modelos experimentais de ansiedade serão abordados na ordem em que foram descritos na seção dos resultados, ou seja, primeiro os referentes ao núcleo basolateral e depois os referentes ao núcleo medial. Durante a discussão dos resultados relativos a cada um destes núcleos, abordaremos inicialmente o efeito observado sobre a resposta de esquiva tanto no labirinto em T elevado como no teste de transição claro-escuro. Posteriormente, serão abordados os resultados obtidos sobre a resposta de fuga.

Quanto aos efeitos das drogas injetadas no núcleo basolateral, nossos resultados mostram que a microinjeção tanto do agonista de receptores 5-HT<sub>1A</sub> 8-OH-DPAT como do agonista preferencial de receptores 5-HT<sub>2A</sub> DOI inibiu a aquisição da esquiva inibitória no labirinto em T elevado. Este resultado é similar ao observado após a injeção, no mesmo núcleo, da droga ansiolítica benzodiazepínica midazolam. O efeito ansiolítico do DOI e do midazolam observado sobre a resposta de esquiva no labirinto em T elevado foi também detectado pelo teste do claro-escuro. Pode-se observar ainda, conforme representado na Figura 8, que os animais que receberam o 8-OH-DPAT tendem a permanecer por mais tempo no compartimento claro da caixa claro-escuro do que os animais que receberam salina. Neste sentido, apesar de não haver diferença estatisticamente significativa entre estes grupos, os resultados observados no teste de transição claro-escuro apontam para a mesma direção dos obtidos no labirinto em T elevado.



Como no presente estudo, Zangrossi e colaboradores (1999) mostram que a administração de midazolam no núcleo basolateral causa efeito ansiolítico sobre a resposta de esquiva no labirinto em T elevado, medidos em ratos ingênuos aos braços abertos do aparelho experimental. Assim, nossos resultados corroboram estudos realizados anteriormente mostrando que a exposição prévia dos animais a um dos braços abertos do labirinto em T não interfere com a resposta de esquiva inibitória (Teixeira et al., 2000; Zanoveli et al., 2003).

O efeito ansiolítico do midazolam intra-núcleo basolateral, por nós obtido, também está de acordo com o efeito observado em outros modelos experimentais como, por exemplo, em testes de punição (Scheel-Krüger e Petersen, 1982; Petersen et al., 1985; Hodges et al., 1987) e no teste do labirinto em cruz elevado (Green e Vale, 1992; Zangrossi e Graeff, 1994; Pesold e Treit, 1995). Em conjunto, tais resultados sustentam as correlações que têm sido feitas entre a resposta de esquiva inibitória e a ansiedade e apontam para o envolvimento dos receptores benzodiazepínicos deste núcleo amigdalóide na elaboração de respostas associadas ao transtorno de ansiedade generalizada.

Assim como o observado com a injeção de midazolam, o efeito ansiolítico obtido após a administração de 8-OH-DPAT no núcleo basolateral também foi verificado em estudo prévio de Zangrossi e colaboradores (1999) com animais ingênuos aos braços abertos do labirinto em T. Deste modo, nossos resultados mostram, mais uma vez, que a pré-exposição ao braço aberto não parece interferir com o efeito das drogas sobre a resposta de esquiva neste teste (Teixeira et al., 2000; Zanoveli et al., 2000).

Entretanto, o efeito ansiolítico obtido sobre a esquiva no labirinto em T é oposto ao observado após a injeção intra-núcleo basolateral deste mesmo agonista serotoninérgico nos modelos de ansiedade de Geller-Seifter (Hodges et al., 1987) e da interação social (Gonzalez et al., 1996). É interessante notar que nestes últimos testes, o efeito ansiogênico foi observado após o uso de doses de 0,39 e 0,15 nmol, respectivamente. Nesta mesma faixa de dose, nossos resultados mostram que o 8-OH-DPAT é ineficaz em alterar a aquisição da resposta de esquiva tanto no labirinto em T como no teste do claro-escuro. Em concordância com os nossos resultados estão estudos realizados com o labirinto em cruz elevado. Neste teste foi verificado que a dose de 0,15 nmol (Gonzalez et al., 1996) de 8-OH-DPAT é igualmente destituída de efeito. Zangrossi e Graeff (1994) verificaram que doses maiores da droga (2, 4 e 8 nmoles) também não apresentam efeito no labirinto em cruz. Cabe, no entanto, ressaltar que em um estudo publicado posteriormente (Zangrossi et al., 1999) os autores ressaltam que a dose de 8 nmoles, quando comparada individualmente com o grupo controle, aumenta significativamente a porcentagem de tempo gasto pelos animais nos braços abertos do labirinto em cruz (Zangrossi e Graeff, 1994), indicando efeito ansiolítico. Este resultado está em pleno acordo com o efeito ansiolítico obtido com esta mesma dose no presente estudo. Do exposto acima, desprende-se que a discrepância entre os resultados citados não parece ser produto da utilização de diferentes doses de 8-OH-DPAT. Ela parece, no entanto, advir do emprego de diferentes tipos de modelos de ansiedade.

Quanto ao envolvimento de receptores do tipo 5-HT<sub>2A</sub> no núcleo basolateral na regulação de comportamentos associados à ansiedade, resultados conflitantes também são encontrados na literatura. Assim, enquanto nossos resultados indicam que a estimulação destes receptores, por meio da injeção do agonista DOI, inibe a ansiedade,

estudos realizados com modelos de punição sugerem o oposto. Por exemplo, no teste de Vogel (Petersen e Scheel-Krüger, 1984), a administração do antagonista preferencial de receptores 5-HT<sub>2A</sub> cetanserina no núcleo basolateral tem efeito ansiolítico. Tais resultados sugerem que o agonista endógeno estimule tonicamente estes receptores, favorecendo a expressão de comportamentos associados à ansiedade. Portanto, tais incongruências parecem apontar, mais uma vez, para as diferenças entre os testes do labirinto em T elevado e os testes de punição, como o de Vogel. Em apoio a esta interpretação, Zangrossi e Graeff (1994) mostram que a administração de cetanserina neste núcleo, na mesma faixa de dose empregada no estudo com o teste de punição, causa efeito ansiogênico no teste do labirinto em cruz elevado.

Contrastando com o observado com a resposta de esquiva inibitória, a resposta de fuga não foi alterada pela injeção de midazolam, mas somente pela injeção das drogas serotoninérgicas 8-OH-DPAT e DOI. A ausência de efeito do midazolam sobre a fuga corrobora resultados obtidos anteriormente por Zangrossi e colaboradores (1999) no mesmo teste, contudo, com o uso de animais ingênuos aos braços abertos do labirinto.

Já os resultados referentes ao efeito da injeção de 8-OH-DPAT no núcleo basolateral sobre a resposta de fuga mostraram-se bastante interessantes. O aumento no tempo gasto para realizar esta tarefa após a injeção da droga observado no presente estudo contrasta com os achados de Zangrossi e colaboradores (1999) que verificaram que a injeção de 8-OH-DPAT na mesma região não altera esta resposta. Porém, o fato de não terem utilizado a pré-exposição em seus experimentos pode ser uma explicação para a discrepância entre seus resultados e os obtidos no presente estudo. A capacidade da pré-exposição de potencializar a resposta de fuga e assim favorecer a detecção do

efeito de drogas foi mostrada em estudos desenvolvidos anteriormente em nosso laboratório (Teixeira et al., 2000; Zanoveli et al., 2003). No estudo de Zanoveli e colaboradores (2003), por exemplo, o aumento significativo de latência de saída dos animais do braço aberto, causado pela injeção intra-matéria cinzenta periaquedutal de drogas serotoninérgicas, foi verificado apenas em animais que haviam sido pré-expostos. Ao passo que em animais que não haviam sido pré-expostos, o efeito não foi observado. Segundo os autores, a pré-exposição reduz respostas comportamentais à novidade, tais como o comportamento exploratório e a inibição comportamental que podem ser expressas quando o animal se encontra no braço aberto. Assim, a pré-exposição tem a finalidade de favorecer a expressão da resposta de fuga (Teixeira et al., 2000; Zanoveli et al., 2003). Deste modo, a ausência de efeito do 8-OH-DPAT intra-núcleo basolateral nos estudos de Zangrossi e colaboradores (1999) com animais ingênuos pode ter sido causada pelo fato da resposta de fuga estar contaminada por respostas comportamentais motivadas pela novidade. Já em nosso estudo, a utilização de animais pré-expostos possibilitou a detecção do efeito do 8-OH-DPAT sobre esta resposta.

Da mesma maneira, observamos que a injeção local de DOI causou inibição da resposta de fuga. No entanto, até o momento, não foram realizados outros estudos com o intuito de avaliar o efeito da ativação de receptores do tipo 5-HT<sub>2A</sub> do núcleo basolateral sobre respostas defensivas que, assim como a fuga no labirinto em T elevado, sejam associadas ao pânico.

É interessante lembrar que um estudo realizado no labirinto em T elevado, ainda que em animais ingênuos, mostra o aumento da expressão da proteína Fos no núcleo basolateral em decorrência da performance do comportamento de fuga (Silveira et al.,

2001). Além disso, estudos que utilizaram esta mesma técnica mostram que este núcleo é ativado também pela fuga induzida pela estimulação elétrica da matéria cinzenta periaquedutal (Sandner et al., 1993) ou pela apresentação de um estímulo aversivo de ultra-som de 20kHz (Beckett et al., 1997). Tais evidências apontam para o envolvimento do núcleo basolateral no controle de respostas defensivas associadas ao pânico. Nossos resultados corroboram estes estudos e, mais especificamente, sugerem que a regulação desta resposta pelo núcleo basolateral parece não envolver a ativação de receptores benzodiazepínicos, mas sim a ativação de receptores serotoninérgicos.

Concluindo, de acordo com os efeitos das drogas injetadas no núcleo basolateral, nossos resultados mostram que a ativação de receptores benzodiazepínicos do núcleo basolateral contrasta com a ativação de receptores serotoninérgicos. Podemos observar que embora a injeção tanto de midazolam como dos agonistas serotoninérgicos 8-OH-DPAT e DOI tenha prejudicado a resposta de esquiva, somente os agonistas serotoninérgicos produziram efeito do tipo panicolítico sobre a resposta de fuga. Deste modo, nossos resultados apontam o envolvimento de receptores serotoninérgicos do tipo 5-HT<sub>1A</sub> e 5-HT<sub>2A</sub> do núcleo basolateral na regulação tanto de comportamentos associados à ansiedade como de comportamentos associados ao pânico.

Quanto ao efeito de drogas injetadas no núcleo medial, nossos resultados mostram que o midazolam não alterou a resposta de esquiva nos testes do labirinto em T elevado e da transição claro-escuro. A ausência de efeito da injeção de compostos que atuam em receptores benzodiazepínicos do núcleo medial sobre a resposta de esquiva é também verificada em modelos baseados em punição. Assim, Shibata e colaboradores (1982) verificaram que a injeção intra-núcleo medial de midazolam, nesta mesma faixa de dose por nós empregada, é destituída de efeito sobre a ansiedade gerada no teste de

Geller-Seifter. Cabe notar ainda que neste mesmo estudo os autores verificaram que a administração local de outros agonistas benzodiazepínicos, como o clordiazepóxido e o diazepam, também não produziu efeito sobre a resposta punida.

Quanto ao efeito de drogas serotoninérgicas injetadas neste núcleo, nossos resultados mostram que enquanto a injeção de 8-OH-DPAT prejudica a resposta de esquiva, a injeção de DOI não altera esta resposta. Porém, até o momento, não há estudos realizados com a finalidade de se verificar o efeito de drogas que atuam receptores 5-HT<sub>1A</sub> e 5-HT<sub>2A</sub> no núcleo medial sobre respostas defensivas associadas à ansiedade.

Em relação à fuga, os resultados apontam para o envolvimento do núcleo medial na modulação desta resposta. Apesar da injeção das drogas serotoninérgicas não apresentar efeito, a injeção de midazolam inibiu este comportamento. É interessante notar que estudos de marcação da proteína Fos também indicam a participação do núcleo medial em respostas de fuga, como a gerada pela estimulação elétrica da matéria cinzenta periaquedutal (Sandner et al., 1997). Ademais, corroborando nossos resultados em relação ao envolvimento de receptores GABA/benzodiazepínicos do núcleo medial na modulação da resposta de fuga, foi observado recentemente em nosso laboratório que a inativação deste núcleo, induzida pela injeção do anestésico local lidocaína ou do agonista de receptores GABA muscimol, inibe tanto a fuga gerada no labirinto em T elevado (Strauss e Zangrossi, dados não publicados) como aquela gerada pela estimulação da matéria cinzenta periaquedutal (Herdade, 2005). Tais evidências apontam para a participação do núcleo medial no controle de comportamentos defensivos associados ao pânico. Adicionalmente, os resultados do presente estudo

sugerem que esta participação envolve a ativação de receptores benzodiazepínicos, mas não a ativação de receptores serotoninérgicos.

Curiosamente, no estudo de marcação neuronal realizado no labirinto em T elevado, a resposta de fuga não gerou o aumento da expressão da proteína Fos neste núcleo, mas sim no núcleo basolateral (Silveira et al., 2001). Cabe ressaltar, porém, que neste último estudo os animais eram ingênuos a um dos braços abertos do labirinto.

De modo geral, o conjunto dos nossos resultados não corrobora as previsões traçadas pela teoria de Deakin e Graeff (1991), quanto ao papel preponderante do complexo amigdalóide em modular comportamentos expressos em resposta aos perigos potenciais ou distais, como a esquiva inibitória, e quanto à proposição de que a serotonina nesta estrutura teria o papel de facilitar respostas de ansiedade. Entretanto, de acordo com o que foi discutido no presente trabalho, alguns fatores contribuem para o surgimento destas incongruências, tais como a participação de diferentes núcleos amigdalóides e o envolvimento de diferentes subtipos de receptores serotoninérgicos. Em relação a este último fator, é importante ressaltar que além dos receptores do tipo 5-HT<sub>1A</sub> e 5-HT<sub>2A</sub> os receptores do tipo 5-HT<sub>2C</sub> do complexo amigdalóide também tem sido envolvidos na modulação de respostas associadas à ansiedade (Campbell e Merchant, 2003; De Mello Cruz et al., 2005). Corroborando com a proposição de Deakin e Graeff (1991), evidências experimentais indicam que a ativação de receptores serotoninérgicos do tipo 5-HT<sub>2C</sub> no núcleo basolateral do complexo amigdalóide aumenta a ansiedade. Assim, Campbell e Merchant (2003) mostram que a injeção de agonistas 5-HT<sub>2C</sub> causa efeito ansiogênico no teste do campo aberto. Mais especificamente, estes autores verificaram que o efeito ansiogênico da injeção do agonista não seletivo de receptores 5-HT<sub>2C</sub> *m*-CPP ou do agonista seletivo IL-639 no

núcleo basolateral é bloqueado pelo pré-tratamento sistêmico com o antagonista seletivo 5-HT<sub>2C</sub> SB242084. Adicionalmente, De Mello Cruz e colaboradores (2005) também forneceram evidências de que a ativação dos receptores 5-HT<sub>2C</sub> do núcleo basolateral causa efeito ansiogênico. Estes autores mostraram que a injeção do antagonista misto 5-HT<sub>2A/2C</sub> ritanserina no núcleo basolateral bloqueia o efeito ansiogênico causado pela injeção sistêmica do agonista preferencial de receptores 5-HT<sub>2C</sub> MK-212 sobre as medidas de ansiedade no labirinto em cruz elevado. Como a ritanserina apresenta maior afinidade por receptores 5-HT<sub>2C</sub> do que por receptores 5-HT<sub>2A</sub> (Leisen, 2004), os autores sugerem que os efeitos observados no labirinto em cruz elevado sejam mediados pelos receptores 5-HT<sub>2C</sub> do núcleo basolateral (De Mello Cruz et al., 2005).

Em conjunto com os nossos resultados, as evidências citadas acima sugerem que o papel ansiogênico da serotonina no complexo amigdalóide, conforme proposto por Deakin e Graeff (1991), parece depender do subtipo de receptor estimulado. Assim, novos estudos são necessários para se avaliar o efeito de agonistas seletivos para receptores do tipo 5-HT<sub>2C</sub> sobre respostas relacionadas à ansiedade, como a de esquiva inibitória medida nos testes do labirinto em T elevado e da transição claro-escuro.

O fato do complexo amigdalóide estar envolvido na modulação não só da resposta de esquiva, mas também da fuga nos remete à hipótese formulada recentemente por McNaughton e Corr (2004) quanto aos substratos neurais responsáveis pelas elaboração do medo e da ansiedade. Estes autores introduziram o conceito do *sistema bidimensional de defesa*, que está fundamentado nos conceitos de *direção defensiva* (Gray e McNaughton, 2000) e de *distância defensiva* (Blanchard e Blanchard, 1988; Blanchard et al., 1993; Blanchard et al., 2001) mencionados na introdução do presente estudo. Os autores propõem que as estruturas encefálicas envolvidas nos sistemas de



defesa que controlam a ansiedade e o medo, caracterizados por comportamentos que visem à aproximação e a retirada do animal da situação de perigo, respectivamente, são inter e intraconectadas. Para McNaughton e Corr (2004), as estruturas que compõem estes sistemas são hierarquicamente organizadas e atuam de acordo com a distância em que se encontra a fonte de perigo. Enquanto comportamentos expressos em resposta a estímulos potenciais seriam controlados primordialmente por estruturas mais rostrais e corticais, comportamentos expressos em resposta a estímulos proximais seriam regulados por estruturas mais caudais e subcorticais. Segundo os autores, todas as estruturas envolvidas modulam tanto os comportamentos elaborados como, por exemplo, a esquiva inibitória, como respostas rápidas e explosivas, como a fuga. Dentre as estruturas que participam destes dois sistemas está o complexo amigdalóide, elaborando a resposta defensiva mais apropriada para a situação (McNaughton e Corr, 2004). Nossos resultados apóiam a proposição de McNaughton e Corr (2004) pois mostram o envolvimento do complexo amigdalóide na modulação das respostas de esquiva e de fuga. Mais especificamente, nossos resultados indicam que os núcleos amigdalóides distintos parecem modular diferencialmente as respostas defensivas de ansiedade e medo. Enquanto o sistema serotoninérgico do núcleo basolateral parece modular tanto a resposta de esquiva como a resposta de fuga, o sistema serotoninérgico do núcleo medial parece modular somente a resposta de esquiva.

Finalmente, os resultados do presente estudo mostram que o papel da serotonina no complexo amigdalóide é mais complexo e abrangente do que o proposto na teoria original de Deakin e Graeff (1991). Neste sentido, novos estudos são necessários para se avaliar o efeito de drogas que atuam em receptores serotoninérgicos específicos de

núcleos amigdalóides distintos para se entender o real papel deste neurotransmissor na fisiopatologia do medo e da ansiedade.

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

ALHEID G.F.; DE OLMOS J.; BELTRAMINO C.A. Amygdala and extended amygdala. In: PAXINOS G.; ORLANDO, FL (eds.). *The Rat Nervous System*, p. 495-578. Academic, 1995.

ALMEIDA-FILHO N.; MARI J.J.; COUTINHO E.; FRANÇA J.F.; FERNANDES J.; ANDREOLI S.B.; BUSNELLO E.D. Brazilian multicentric study of psychiatric morbidity. Methodological features and prevalence estimates. *Brazilian Journal of Psychiatry*, 171: 524-529, 1997.

AMARAL D.G.; PRICE J.L.; PITKÄNEN A., CARMICHAEL S.T. Anatomical organization of the primate amygdaloid complex. In: AGGLETON J.P. (eds.). *The amygdala: Neurobiological Aspects of Emotion, Memory and Mental Dysfunction*, p. 1-66. New York: Wiley-Liss, 1992.

AMBROGI LORENZINI C.; BUCHERELLI C.; GIACHETTI A.; MUGNAI L; TASSONI G. Effects of nucleus basolateralis amygdalae neurotoxic lesions on aversive conditioning in the rat. *Physiology and Behavior*, 49: 765-770, 1991.

AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION. *Diagnostic and statistical manual of mental disorders*. Fourth edition. Washington DC: APA Press, 1994.

AMORAPANTH P.; LEDOUX J.E.; NADER K. Different lateral amygdala outputs mediate reactions and actions elicited by a fear-arousing stimulus. *Nature Neuroscience*, 3:74-79, 2000.

ANDRADE I.; WALTERS E.E.; GENTIL V.; LAURENT R. Prevalence of ICD 10 mental disorders in a cathment area in the city of São Paulo, Brasil. *Social Psychiatric and Psychiatric Epidemiology*, 37: 316-325, 2002.

ARGYROPOULOS S.V.; SANDFORD J.J.; NUTT D.J. The psychobiology of anxiolytic drug. Part 2: Pharmacological treatments of anxiety. *Pharmacology & Therapeutics*, 88: 213-227, 2000.

AZMITIA E.C.; SEGAL M. An autodiographic analysis of the differential ascending projections of the dorsal and median raphe nuclei in the rat. *The Journal of Comparative Neurology*, 179: 641-688, 1978.

BAXTER G.S.; KENNETT G.; BLANEY F.; BLACKBURN T.P. 5-HT<sub>2</sub> receptor subtypes: a family re-united? *Trends in Pharmacological Science*, 16: 105-110, 1995.

BEARD G. *Neurasthenia*. Boston Medical and Surgical Journal, 1869.

BECKETT S.R.; DUXON M.S.; ASPLEY S.; MARSDEN C.A. Central c-fos expression following 20kHz/ultrasound induced defence behaviour in the rat. *Brain Research Bulletin*, 42: 421-426, 1997.

BERNIK A.M.; MINNUTTENTAG N.W. Farmacoeconomia. In: HETEM L.A.B.; GRAEFF F.G. (eds.). *Transtornos de Ansiedade*. São Paulo: Editora Ateneu, 2004.

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.

BLANCHARD D.C.; GRIEBEL G.; BLANCHARD R.J. The Mouse Defense Test Battery: pharmacological and behavioral assays for anxiety and panic. *European Journal of Pharmacology*, 463: 97-116, 2003.

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

BLANCHARD R.J.; YUDKO E.B.; RODGERS R.J.; BLANCHARD D.C. Defensive system psychopharmacology: an ethological approach to the pharmacology of fear and anxiety. *Behavioural Brain Research*, 58: 155-166, 1993.

BLAND R.C.; ORN H.; NEWMAN S.C. Lifetime prevalence of psychiatric disorders in Edmonton. *Acta Psychiatrica Scandinavica*, 77: 24-32, 1998.

CAMPBELL B.M.; MERCHANT K.M. Serotonin 2C receptors within the basolateral amygdala induce acute fear-like responses in an open-field environment. *Brain Research*, 993: 1-9, 2003.

CAMPEAU S.; HAYWARD M.D.; HOPE B.; ROSEN J.B.; NESTLER E.J.; DAVIS M. Induction of the *c-fos* proto-oncogen in rat amygdala during unconditioned and conditioned fear. *Brain Research*, 565: 349-352, 1991.

CARRIVE P. The periaqueductal gray and defensive behavior: functional representation and neuronal organization. *Behavioural Brain Research*, 58: 27-47, 1993.

CASANOVAS J.M.; HERVAS I.; ARTIGAS F. Postsynaptic 5-HT<sub>1A</sub> receptors control 5-HT release in the rat medial prefrontal cortex. *Neuroreport*, 10: 1441-1445, 1999.

CELEUMANS D.L.S.; HOPPENBROUWERS M.L.J.A.; 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. *Pharmacopsychiatry*, 18: 303-305, 1985.

COOVER G.; URSIN H.; LEVINE S. Corticosterone and avoidance in rats with basolateral amygdala lesions. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 85: 111-122, 1973.

DA COSTA J.M. On irritable heart: a clinical study of a form of functional cardiac disorder and its consequences. *The American Journal of the Medical Sciences*, 61: 17-52, 1871.

DARWIN C.R. *The expression of emotions in man and animals*. London: John Murray. 1872.

DAVIS M. The role of the amygdala in fear and anxiety. *Annual Review of Neuroscience*, 15: 353-375, 1992.

DE MELLO CRUZ A.P.; 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.

DE OLIVEIRA R.W.; DEL BEL E.A.; GUIMARAES F.S. Behavioral and c-fos expression changes induced by nitric oxide donors microinjected into the dorsal periaqueductal gray. *Brain Research Bulletin*, 51: 457-464, 2000.

DE OLMOS J.; ALHEID G.F.; BELTRAMINO A. *The rat nervous system*. Academic Press 7: 223-317, 1985.

DEAKIN J.F.W.; GRAEFF F.G.; GUIMARÃES F.S. 5-HT receptor subtypes and the modulation of aversion. In: MARSDEN C.A., HEAL D.J. (eds.). *Central serotonin receptors and psychotropic drugs*. Oxford: Blackwell Scientific Publication, p. 147-174, 1992.

DEAKIN J.F.W.; GRAEFF F.G. 5-HT and mechanisms of defence. *Journal of Psychopharmacology*, 5: 305-315, 1991.

DEN BOER J.A.; WESTENBERG H.G. Behavioral, neuroendocrine, and biochemical effects of 5-hydroxytryptophan administration in panic disorder. *Psychiatry Research*, 31: 267-278, 1990.

DUNCAN G.E.; KNAPP D.J.; BREESE G.R. Neuroanatomical characterization of Fos induction in rat behavioral models of anxiety. *Brain Research*, 713: 79-91, 1996.

DUXON M.S.; BECKETT S.R.; BAXTER G.S.; BLACKBURN T.P.; FONE K.C.F. Intra-amygdala injection of the 5-HT<sub>2B</sub> receptor agonist BW723C86 produces anxiolysis on the elevated plus-maze in the rat. *British Journal of Pharmacology*, 116: 331P, 1995.

DUXON M.S.; KENNETT G.A.; LIGHTOWLER S.; BLACKBURN T.P.; FONE K.C.F.; Activation of 5-HT<sub>2</sub> receptors in the medial amygdala causes anxiolysis in the social interaction test in the rat. *Neuropharmacology*, 36: 601-608, 1997.

EISON A.S.; TEMPLE D.L. Bupirone: review of its pharmacology and current perspectives on the mechanism of action. *The American journal of medicine*, 80: 1-9, 1989.

FERNANDEZ DE MOLINA A.; HUNSPERGER R.W. Central representation of affective reactions in forebrain and brain stem: Electrical stimulation of amygdala, stria terminalis and adjacent structures. *Journal de Physiologie*, 1959.

FIGUEIREDO M.S.L. Classificação. In: HETEM L.A.B.; GRAEFF F.G. (eds.). *Transtornos de Ansiedade*. São Paulo: Editora Ateneu, p. 29, 2004.

FINGER S. Theories of emotion from Democritus to Willian James. In: FINGER, S. (eds.). *Origins of neuroscience – a history of explorations into brain function*. New York: Oxford University Press, 1994.

FREUD S. Sobre os critérios para destacar da neurastenia uma síndrome particular intitulada “neurose de angústia”. In: FREUD S (1895), *Edição Standard Brasileira das Obras Psicológicas Completas de Sigmund Freud*. vol. 3. Rio de Janeiro: Imago, p. 111, 1976.

GELLER I.; SEIFTER J. The effects of meprobamate, barbiturates, d-amphetamine and promazine on experimentally induced conflict in the rat. *Psychopharmacology* 1: 482-492, 1960.

GELLER I. Effect of punishment on lever pressing maintained by food reward or brain stimulation. *Physiology Behaviour*, 5: 203-206, 1970.

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

GELSEMA A.J.; MCKITRICK D.J.; CALARESU F.R. Cardiovascular responses to chemical and electrical stimulation of amygdala in rats. *The American journal of physiology*, 253: 712-718, 1987.

GONZALEZ L.E.; ANDREWS N.; FILE S.E. 5-HT<sub>1A</sub> and benzodiazepine receptors in the basolateral amygdala modulate anxiety in the social interaction test, but not in the elevated plus-maze. *Brain Research*, 732: 145-153, 1996.

GOOSENS K.A.; MAREN S. Contextual and auditory fear conditioning are mediated by the lateral, basal, and central amygdaloid nuclei in rats. *Learning & Memory*, 8: 148-155, 2001.

GRAEFF F.G. Animals models of aversion. In: SIMON P.; SOUBRIÉ P.; WIDLOCLER D. (eds.). *Animal models of psychiatry*. vol 9. Karger: Basel, p. 115-141, 1988.



GRAEFF F.G. Brain defense systems and anxiety. In: BURROWS G.D.; ROTH M.; NOYES JR. R. (eds.). *Handbook of Anxiety – The neurobiology of anxiety*. Amsterdam: Elsevier Science Publishers, p. 307-354, 1990.

GRAEFF F.G. Neurotransmitters in the dorsal periaqueductal grey and animal models of panic anxiety. In: BRILEY M.; FILE S.E. (eds.). *New Concepts in Anxiety*. London: Mc Millian Press, p. 288-312, 1991.

GRAEFF F.G. Role of 5-HT in defensive behavior and anxiety. *Reviews in the Neurosciences*, 4: 181-211, 1993.

GRAEFF F.G. Neuroanatomy and neurotransmitter regulation of defensive behaviors and related emotions in mammals. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 27: 811-829, 1994.

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

GRAEFF F.G. On serotonin and experimental anxiety. *Psychopharmacology*, 163: 467-476, 2002.

GRAEFF F.G. Serotonin, the periaqueductal gray and panic. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 28: 239-259, 2004.

GRAEFF F.G.; SCHOENFELD R.I. Tryptaminergic mechanisms in punished and nonpunished behavior. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 173: 277–283, 1970.

GRAEFF F.G.; VIANA M.B.; TOMAZ C. The elevated T maze, a new experimental model of anxiety and memory: effect of diazepam. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* , 26: 67-70, 1993.

GRAEFF F.G.; VIANA M.B.; MORA P.O. Opposed regulation by dorsal raphe nucleus 5-HT pathways of two types of fear in the elevated T-maze. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 53: 171-177, 1996.

GRAEFF F.G.; VIANA M.B.; MORA P.O. Dual role of 5-HT in defense and anxiety. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 21: 791-799, 1997.

GRAEFF F.G.; NETTO C.F.; ZANGROSSI Jr. H. The elevated T-maze as an experimental model of anxiety. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 23: 237-246, 1998.

GRAEFF F.G.; ZANGROSSI Jr. H. Animal models of anxiety disorders. In: D'HAENEN H.; DEN BOER J.A.; WESTENBERG H.; P. WILLNER P. (eds.). *Textbook of Biological Psychiatry: Animal models of Anxiety Disorders*. London: John Wiley & Sons, p. 879-893, 2002.

GRAY J.A.; MCNAUGHTON N. *The neuropsychology of anxiety*. Oxford: Oxford University Press, 2000.

GREEN S.; VALE A.L. Role of amygdaloid nuclei in the anxiolytic effects of benzodiazepines in rats. *Behavioural pharmacology*, 3: 261-264, 1992.

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

GROSSMAN S.P.; GROSSMAN L.; WALSH L Functional organization of the rat amygdala with respect to avoidance behavior. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 88: 829-850, 1975.

GUIMARÃES F.S.; HETEM L.A.B. Ansiedade induzida experimentalmente em humanos. In: GRAEFF F.G.; HETEM L.A.B. (eds.). *Ansiedade e transtornos de ansiedade*. Rio de Janeiro: Editora Científica Nacional, p. 121-151, 1997.

HANDLEY S.L.; MCBLANE J.W.; CRITCHLEY M.A.; NJUNG'E K. Multiple serotonin mechanisms in animal models of anxiety: environmental, emotional and cognitive factors. *Behavioural Brain Research*, 58: 203-210, 1993.

HENSMAN R.; GUIMARAES F.S.; WANG M.; DEAKIN J.F. Effects of ritanserin on aversive classical conditioning in humans. *Psychopharmacology*, 104: 220-224, 1991.

HERDADE, K.C.P. *Avaliação dos efeitos da inativação do núcleo medial da amígdala sobre o limiar de fuga induzido pela substância cinzenta periaquedutal dorsal*. Dissertação de Mestrado apresentada à Faculdade de Filosofia Ciências e Letras de Ribeirão Preto/USP Ribeirão Preto, 2005.

HESS W.R.; BRÜGGER M. Das subkortikale Zentrum der affektiven Abwehrreaktion. *Helvetica Physiologica et Pharmacologica Acta*, 1: 33-52, 1943.

HJORTH S.; SHARP T. Effect of the 5-HT<sub>1A</sub> receptor agonist 8-OH-DPAT on the release of 5-HT in dorsal and median raphe-innervated rat brain regions as measured by in vivo microdialysis. *Life Sciences*, 48: 1779-1786, 1991.

HODGES H.; GREEN S.; GLENN B. Evidence that amygdala is involved in benzodiazepine and serotonergic effects on punished responding but not on discrimination. *Psychopharmacology*, 92: 491-504, 1987.

HORVATH F.E. Effects of basolateral amygdectomy on three types of avoidance behavior in cats. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 56: 380-389, 1963.

HWU H.G.; YEH E.K.; CHANG L.Y. Prevalence of psychiatric disorders in Taiwan defined by the Chinese Diagnostic Interview Schedule. *Acta Psychiatrica Scandinavica*, 79: 136-147, 1989.

JELLESTAD F.K.; GARCIA CABRERA I. Exploration and avoidance learning after ibotenic acid and radio frequency lesions in the rat amygdala. *Behavioral and Neural Biology*, 46: 196-215, 1986.

JELLESTAD F.K.; MARKOWSKA A.; BAKKE H.K.; WALTHER B. Behavioral effects after ibotenic acid, 6-OHDA and electrolytic lesions in the central amygdala nucleus of the rat. *Physiology & Behavior*, 37: 855-862, 1986.

JENCK F.; BROEKKAMP C.L.; VAN DELFT A.M. The effect of antidepressants on aversive periaqueductal gray stimulation in rats. *European Journal of Pharmacology*, 177: 201-204, 1990.

JOHNSON M.R.; LYDIARD R.B.; BALLENGER J.C. Panic disorder. pathophysiology and drug treatment. *Drugs*, 49: 328-344, 1995.

JOHNSTON J.B. Further contributions to the study of the evolution of the forebrain. *The Journal of Comparative Neurology*, 35, 337-481, 1923.

KESSLER R.C.; MCGONAGLE K.A.; ZHAO S.L.; NELSON C.B.; HUGLES M.; ESHLEMAN S.; WITTCHEN H.; KENDLER K.S. Lifetime and 12-month prevalence of DSM-III-R psychiatric disorders in the United States. Results from the National Comorbidity Survey. *Archives of General Psychiatry*, 51: 8-19, 1994.

KILLCROSS S.; ROBBINS T.W.; EVERITT B.J. Different types of fear-conditioned behaviour mediated by separate nuclei within amygdala. *Nature*, 388: 377-380, 1997.

KISER R.S.; BROWN C.A.; SANGHERA M.K.; GERMAN D.C. Dorsal raphe nucleus stimulation reduces centrally-elicited fearlike behavior. *Brain Research*, 191: 265-272, 1980.

KISER R.S.; GERMAN D.C.; LEOVITZ R.M. Serotonergic reduction of dorsal central gray area stimulation-produced aversion. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 9: 27-31, 1978.

KISER R.S.; LEOVITZ R.M. Monoaminergic mechanisms in aversive brain stimulation. *Physiology & Behavior*, 15: 47-53, 1975.

KLEIN D. Anxiety reconceptualized. *Comprehensive Psychiatry*, 21: 411-427, 1980.

KRETTEK J.E.; PRICE J.L. A description of the amygdaloid complex in the rat and cat with observations on intra-amygdaloid axonal connections. *The Journal of Comparative Neurology*, 178: 255-280, 1978.

LAWLOR T.; LAZARE A. Anxiety. In: LAZARE A. (org.). *Outpatient psychiatry. Diagnosis and Treatment*. Second edition. Baltimore: Wilians & Wilkins, p. 246-251, 1989.

LEDOUX J.E.; CICHETTI P.; XAGORARIS A.; ROMANSKI L.M. The lateral amygdaloid nucleus: sensory interface of the amygdala in fear conditioning. *The Journal of Neuroscience*, 10: 1062-1069, 1990.

LEYSEN J.E. 5-HT<sub>2</sub> receptors. *Current Drug Targets. CNS and Neurological Disorders* 3: 11-26, 2004.

LI C.I.; MAGLINAO T.L.; TAKAHASHI L.K. Medial amygdala modulation of predator odor-induced unconditioned fear in the rat. *Behavioral Neuroscience*, 118: 324-332, 2004.

LOVICK T.A. Panic disorder – a malfunction of multiple transmitter control systems within the midbrain periaqueductal gray matter? *The Neuroscientist*, 6: 48-59, 2000.

MANSION P.P.; WARSHAW M.G.; FUNARI C.C.; UEKI I.; IKEDA S.; MCDONALD D.M. *et al.* Quality of life and psychiatric morbidity in panic disorder and generalized anxiety disorder. *The American Journal of Psychiatry*, 150: 600-607, 1993.

MARKS I.M. *Fears, phobias and rituals: panic, anxiety and their disorders*. New York: Oxford University Press, 1987.

MASKATI Z. Cardiovascular and motor components of the defense reactions elicited in rats by electrical and chemical stimulation in amygdala. *Journal of the Autonomic Nervous System*, 28: 127-132, 1989.

MCDONALD A.J. Cortical pathways to the mammalian amygdala. *Progress in Brain Research*, 55: 257–332, 1998.

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

MELTZER H.; GILL B.; PETTICREW M.; HINDS K. OPCS surveys of psychiatric morbidity in Great Britain. Report 2. *Physical complaints, service use and treatment of adults with psychiatric disorders*. Londres: HMSO, 1995.

MONTGOMERY K.C. The relation between fear induced by novel stimulation and exploratory behavior. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 48: 254-260, 1955.

NAGY J.; ZAMBO K.; DESCİ L. Anti-anxiety action of diazepam after intra amygdaloid application in the rat. *Neuropharmacology*, 18: 573-576, 1979.

NASHOLD Jr. B.S.; WILSON W.P.; SLAUGHTER D.G. Sensations evoked by stimulation in the midbrain of man. *Journal of Neurosurgery*, 30: 14-24, 1969.

NASHOLD Jr. B.S.; WILSON W.P.; SLAUGHTER D.G. The midbrain and pain. In: BONICA J.J (eds.). *Advances in Neurology, International Symposium on pain*, vol. 4, New York: Raven Press, p. 191-196, 1974.

NOGUEIRA R.L.; GRAEFF F.G. Role of 5-HT receptor subtypes in the modulation of aversion generated in the dorsal periaqueductal gray. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 52: 1-6, 1995.

PANKSEPP J. The psychoneurology of fear: evolutionary perspectives and the role of animals models in understanding humans anxiety. In: BURROWS G.D.; ROTH M.; R. NOYES Jr. (eds.). *Handbook of anxiety – The neurobiology of anxiety*. Amsterdam: Elsevier Science Publisher, p. 3, 1990.

PAXINOS G.; WATSON C. *The rat brain in stereotaxic coordinates*. Third edition. San Diego: Academic, 1997.

PEREIRA M.E.C. O conceito de ansiedade. In: HETEM L.A.B.; GRAEFF F.G. (eds.). *Transtornos de Ansiedade*. São Paulo: Editora Ateneu, p. 3, 2004.

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

PETERSEN E.N.; BRAESTRUP C.; SCHEEL-KRUGER J. Evidence that the anticonflict effect of midazolam in amygdala is mediated by specific benzodiazepine receptors. *Neuroscience Letters*, 53: 285-288, 1985.

PETERSEN E.N.; SCHEEL-KRÜGER J. Anticonflict effects of 5-HT antagonists by intra-amygdaloid injection. *Abstracts of the 14th CINP Congress*, p. 654, 1984.

PITKÄNEN A. Connectivity of the rat amygdaloid complex. In: AGGLETON J.P. (eds.). *The Amygdala: A Functional Analysis*. Oxford, UK: Oxford Univ Press, p. 31–115, 2000.

POBBE R.L.; ZANGROSSI Jr. H. 5-HT(1A) and 5-HT(2A) receptors in the rat dorsal periaqueductal gray mediate the antipanic-like effect induced by the stimulation of serotonergic neurons in the dorsal raphe nucleus. *Psychopharmacology*, 18: 1-8, 2005.

PAPROCKI J.O. O emprego de ansiolíticos benzodiazepínicos pelo clínico geral e por especialistas não psiquiatras. *Arquivos Brasileiros de Medicina*, 64: 305-312, 1990.

PRATT J.A. The neuroanatomical basis of anxiety. *Pharmacology & Therapeutics*, 55: 149-181, 1992.

PRICE J.L.; RUSSCHEN F.T.; AMARAL D.G. *The Limbic Region. II: The Amygdaloid Complex*. New York: Elsevier Science, 1987.

REGIER D.A.; RAE D.S.; NARROW W.E.; KOELBER C.T.; SCHATZBERG A.F. Prevalence of anxiety disorders and their comorbidity with mood and addictive disorders. *British Journal of Psychiatry*, 173: 24-28, 1998.

RICKELS K.; DOWNING R.; SCHWEIZER E.; HASSMAN H. Antidepressants for the treatment of generalized anxiety disorder. A placebo-controlled comparison of imipramine, trazodone, and diazepam. *Archives of General Psychiatry*, 50: 884-895, 1993.

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

ROBINS L.N.; REGIER D.A. *Psychiatric disorders in America: the epidemiologic Catchment Area Study*. New York: Library of Congress Cataloging-in-publication data, 1991.



ROSEN J.B. The neurobiology of conditioned and unconditioned fear: a neurobehavioral system analysis of the amygdala. *Behavioral and Cognitive Neuroscience Reviews*, 3: 23-41, 2004.

SAH P.; FABER E.S.; LOPEZ DE ARMENTIA M.; POWER J. The amygdaloid complex: anatomy and physiology. *Physiological Reviews* 83: 803-834, 2003.

SAJDYK T.J.; SCHOBER D.A.; GEHLERT D.R.; SHEKHAR A. Role of corticotropin-releasing factor and urocortin within the basolateral amygdala of rats in anxiety and panic responses. *Behavioural Brain Research*, 100: 207-215, 1999.

SANDERS S.K.; SHEKHAR A. Blockade of GABAA receptors in the region of the anterior basolateral amygdala of rats elicits increases in heart rate and blood pressure. *Brain Research*, 567: 101-110, 1991.

SANDNER G.; OBERLING P.; SILVEIRA M.C.; DI SCALA G.; ROCHA B.; BAGRI A.; DEPOORTERE R. What brain structures are active during emotions? Effects of brain stimulation elicited aversion on *c-fos* immunoreactivity and behavior. *Behavioural Brain Research*, 58: 9-18, 1993.

SANSON L.T.; CAROBREZ A.P. Long-lasting inhibitory avoidance acquisition in rats submitted to the elevated T-maze model of anxiety. *Behavioural Brain Research*, 101: 59-64, 1999.

SAVONENKO A.; FILIPKOWSKI R.K.; WERKA T.; ZIELINSKI K.; KACZMAREK L. Defensive conditioning-related functional heterogeneity among nuclei of the rat amygdala revealed by *c-Fos* mapping. *Neuroscience*, 94: 723-733, 1999.

SCHEEL-KRUGER J.; PETERSEN E.N. Anticonflict effect of the benzodiazepines mediated by a GABAergic mechanism in the amygdala. *European Journal of Pharmacology*, 82: 115-116, 1982.

SCHENBERG L.C.; BITTENCOURT A.S.; SUDRE E.C.; VARGAS L.C. Modeling panic attacks. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 25: 647-659, 2001.

SCHENBERG L.C.; GRAEFF F.G. Role of the periaqueductal gray substance in the antianxiety action of benzodiazepines. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 9: 287-295, 1978.

SCHUTZ M.T.; DE AGUIAR J.C.; GRAEFF F.G. Anti-aversive role of serotonin in the dorsal periaqueductal grey matter. *Psychopharmacology*, 85: 340-345, 1985.

SHEKHAR A.; SAJDYK T.S.; KEIM S.R.; YODER K.K.; SANDERS S.K. Role of the basolateral amygdala in panic disorder. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 877: 747-750, 1999.

SHEKHAR A.; SAJDYK T.J.; GEHLERT D.R.; RAINNIE D.G. The amygdala, panic disorder, and cardiovascular responses. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 985:308-325, 2003.

SENA L.M.; BUENO C.; POBBE R.L.; ANDRADE T.G.; ZANGROSSI Jr. H.; VIANA M.B. The dorsal raphe nucleus exerts opposed control on generalized anxiety and panic-related defensive responses in rats. *Behavioural Brain Research*, 142: 125-133, 2003. Erratum in: *Behavioural Brain Research*, 145: 233, 2003.

SHIBATA K.; KATAOKA Y.; GOMITA Y.; UEKI S. Localization of the site of the anticonflict action of benzodiazepines in the amygdaloid nucleus of rats. *Brain Research*, 234: 442-446, 1982.

SHIBATA S.; YAMASHITA K.; YAMAMOTO E.; OZAKI T.; UEKI S. Effects of benzodiazepine and GABA antagonists on anticonflict effects of antianxiety drugs injected into the rat amygdala in a water-lick suppression test. *Psychopharmacology*, 98: 38-44, 1989.

SILVEIRA M.C.L.; ZANGROSSI Jr. H.; VIANA M.B.; SILVEIRA R.; GRAEFF F.G. Differential expression of *Fos* protein in the rat brain induced by performance of avoidance or escape in the elevated T-maze. *Behavioural Brain Research*, 126: 13–21, 2001.

SPROUSE J.S.; AGHAJANIAN G.K. Electrophysiological responses of serotonergic dorsal raphe nucleus to 5-HT<sub>1A</sub> and 5-HT<sub>1B</sub> agonists. *Synapse*, 1: 3-9, 1987.

SWANSON L.W.; PETROVICH G.D. What is the amygdala? *Trends in Neurosciences*, 21: 323–331, 1998.

TEIXEIRA R.C.; ZANGROSSI H.; GRAEFF F.G. Behavioral effects of acute and chronic imipramine in the elevated T-maze model of anxiety. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 65: 571-576, 2000.

TYE N.C.; EVERITT B.J.; IVERSEN S.D. 5-Hydroxytryptamine and punishment. *Nature*, 268: 741–742, 1977.

URSIN H. The effect of amygdaloid lesions on flight and defense behavior in cats. *Experimental Neurology*, 11: 61-79, 1965.

URSIN H.; KAADA B.R. Functional localization within the amygdaloid complex in the cat. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology*, 12: 1-20, 1960.

VIANA M.B.; TOMAZ C.; GRAEFF F.G. The elevated T-maze: an animal model of anxiety and memory. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 49: 549-554, 1994.

WALLACE K.J.; ROSEN J.B. Neurotoxic lesions of the lateral nucleus of the amygdala decrease conditioned fear but not unconditioned fear of a predator odor: comparison with electrolytic lesions. *The Journal of Neuroscience*, 21: 3619-3627, 2001.

WISE C.D.; BERGER B.D.; STEIN L Benzodiazepines: Anxiety-reducing activity by reduction of serotonin turnover in the brain. *Science*, 177: 180–183, 1972.

YONKERS K.A.; DYCK I.R.; WARSHAW M.; KELLER M.B. Factors predicting the clinical course of generalized anxiety disorder. *British Journal of Psychiatry*, 176: 544-549, 2000.

ZANGROSSI Jr. H.; VIANA M.B.; ZANOVELI J.; BUENO C.; NOGUEIRA R.L.; GRAEFF F.G. Serotonergic regulation of inhibitory avoidance and one-way escape in the elevated T-maze. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 25: 637–645, 2001.

ZANGROSSI H.; GRAEFF F.G. Behavioural effects of intra-amygdala injections of GABA and 5-HT acting drugs in the elevated plus-maze. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 27: 2453-2456, 1994.

ZANGROSSI H.; GRAEFF F.G. Behavioral validation of the elevated T-maze, a new animal model of anxiety. *Brain Research Bulletin*, 44: 1-5, 1997.

ZANGROSSI H.; VIANA M.B.; GRAEFF F.G. Anxiolytic effect of intra-amygdala injection of midazolam and 8-hydroxy-2-(di-n-propylamino)tetralin in the elevated T-maze. *European Journal of Pharmacology*, 369: 267-270, 1999.

ZANGROSSI Jr. H.; GRAEFF F.G. Modelos Animais. In: HETEM L.A.B.; GRAEFF F.G (eds.). *Transtornos de Ansiedade*. São Paulo: Editora Ateneu, p. 55, 2004.

ZANOVELI J.M.; NOGUEIRA R.L.; ZANGROSSI Jr. H. Serotonin in the dorsal periaqueductal gray modulates inhibitory avoidance and one-way escape behaviors in the elevated T-maze. *European Journal of Pharmacology*, 473: 153-161, 2003.

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

PARTICIPAÇÃO DO SISTEMA SEROTONINÉRGICO DO  
COMPLEXO AMIGDALÓIDE NA MODULAÇÃO  
DE RESPOSTAS DEFENSIVAS

Christiana Villela de Andrade Strauss

Revisão da literatura apresentada à  
Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras  
de Ribeirão Preto - USP, como parte das  
exigências para a obtenção do título de  
Doutor em Ciências, Área: Psicobiologia

Orientador: Prof. Dr. Hélio Zangrossi Jr.

Ribeirão Preto  
2004

## 1. INTRODUÇÃO

As primeiras evidências de que a serotonina (5-HT) participaria dos processos de ansiedade foram obtidas, há mais de trinta anos, a partir da observação de que a administração sistêmica do inibidor da síntese de 5-HT, a para-cloro-fenilalanina (pCPA), e de dois antagonistas serotoninérgicos não-seletivos, a metisergida e o ácido bromolisérgico, liberava a expressão de comportamentos punidos por choques elétricos, caracterizando um efeito anticonflito ou ansiolítico (Robichaud e Sledge, 1969; Graeff e Schoenfeld, 1970). Além disso, corroborando tais evidências, foi verificado que a administração do precursor da síntese de 5-HT, o 5-hidroxitriptofano (5-HTP), bloqueava o efeito do tipo ansiolítico induzido pelo pCPA (Geller e Blum, 1970).

Mais tarde, a confirmação clínica e laboratorial das propriedades ansiolíticas de agonistas de receptores serotoninérgicos do tipo 5-HT<sub>1A</sub>, como a buspirona (Eison e Temple, 1989), e de drogas antidepressivas/ansiolíticas que atuam pela inibição seletiva da recaptação de 5-HT, como a fluoxetina (Argyropoulos e cols., 2000) impulsionou a investigação sobre o envolvimento da 5-HT na fisiopatologia da ansiedade, bem como no mecanismo de ação de drogas ansiolíticas (Graeff, 1981, 1990, 1991, 1993, 1994; Hensman e cols., 1991; Handley e McBlane, 1993; Griebel, 1995; Guimarães e Hetem, 1997; Gray e McNaughton, 2000; Zangrossi e cols., 2001; Graeff e Zangrossi, 2002).

No entanto, os resultados obtidos no decorrer destes estudos apontavam tanto para o papel ansiogênico (Geller, 1970; Graeff e Schoenfeld, 1970; Wise e cols., 1972; Tye e cols., 1977; Hodges e cols., 1987), como para o papel ansiolítico (Jenck e cols., 1990; Kiser

e cols., 1980; Nogueira e Graeff, 1995) da 5-HT na modulação das respostas de ansiedade medidas em diferentes modelos animais. Adicionalmente, resultados incongruentes também eram observados na clínica, onde a administração do antagonista de receptores serotoninérgicos do tipo 5-HT<sub>2A/2C</sub> ritanserina atenuava quadros de ansiedade generalizada (Celeumans e cols, 1985), mas não causava efeito (den Boer e Westenberg, 1990), ou então, piorava quadros de transtorno de pânico (Deakin e cols, 1992). Estas observações foram ainda confirmadas em testes experimentais conduzidos em humanos tanto em modelos relacionados à ansiedade generalizada (Hensman e cols., 1991) como em modelos relacionados ao transtorno de pânico (Guimarães e cols., 1997).

Com a finalidade de conciliar estas evidências aparentemente contraditórias sobre a participação da 5-HT nos processos de ansiedade, Deakin e Graeff (1991) propuseram uma teoria na qual diferentes vias serotoninérgicas modulariam os substratos neurais do transtorno de ansiedade generalizada e do transtorno do pânico. Duas estruturas cerebrais, ainda que não exclusivamente, estariam envolvidas nestes processos: o complexo amigdalóide e a matéria cinzenta periaquedutal.

A matéria cinzenta periaquedutal e o complexo amigdalóide são inervados por fibras serotoninérgicas provenientes do núcleo dorsal da rafe através dos tratos periventricular e prosencefálico, respectivamente (Azmitia, 1978). Assim, Deakin e Graeff (1991) propuseram que diante de estímulos aversivos estas vias serotoninérgicas seriam ativadas ocasionando o aumento da liberação de 5-HT em ambas as estruturas. Por conseguinte, a ativação destas vias modularia a expressão de diferentes respostas comportamentais defensivas. Mais especificamente, na matéria cinzenta periaquedutal, o

aumento da concentração de 5-HT inibiria a expressão de comportamentos desencadeados por ameaças proximais, como a luta e/ou a fuga. Já no complexo amigdalóide este aumento favoreceria a expressão de comportamentos que ocorrem em resposta a estímulos ameaçadores potenciais ou distantes e que envolvem o conflito entre aproximação/esquiva - proposto mais tarde por Gray e McNaughton (2000) - como os comportamentos de avaliação de risco e esquiva. Deste modo, a 5-HT exerceria um papel dual, uma vez que integraria diferentes tipos de reações comportamentais de defesa. Ademais, os autores propõem ainda que enquanto a 5-HT diminuiria o pânico agindo na matéria cinzenta periaquedutal, este neurotransmissor aumentaria a ansiedade atuando no complexo amigdalóide (Deakin e Graeff, 1991; Graeff, 1993; Graeff e cols., 1996, 1997; Graeff, 2002).

De maneira geral, evidências experimentais obtidas nos últimos anos corroboram a proposição de Deakin e Graeff (1991) de que a transmissão serotoninérgica na matéria cinzenta periaquedutal inibiria a resposta de fuga (para revisão ver Graeff, 2002). No entanto, resultados conflitantes têm sido observados em relação ao papel da 5-HT no complexo amigdalóide.

Tem sido demonstrado, por exemplo, que no modelo desenvolvido para se testar a teoria de Deakin e Graeff (1991), o labirinto em T elevado (Graeff e cols., 1993, 1996, 1998; Viana e cols., 1994; Zangrossi e Graeff, 1997), a injeção no núcleo basolateral/lateral do complexo amigdalóide do agonista 5-HT<sub>1A</sub> 8-OHDPAT, prejudica a resposta de esquiva inibitória, sem alterar a resposta de fuga (Zangrossi e cols., 1999). Em parte, estes resultados corroboram a proposição de que enquanto a resposta de esquiva seria modulada pelo complexo amigdalóide, a resposta de fuga seria modulada pela matéria cinzenta



periaquedutal (Graeff e cols., 1993; Viana e cols., 1994). Porém, o efeito ansiolítico observado vai contra a proposta de Deakin e Graeff (1991), já que em vez de facilitar, este agonista serotoninérgico no complexo amigdalóide prejudicou a resposta de esquiva inibitória.

Entretanto, na teoria original proposta por Deakin e Graeff (1991), os autores não fazem alusão sobre qual ou quais núcleos do complexo amigdalóide estariam mediando os comportamentos relacionados à ansiedade. Este fato reveste-se de importância ao se constatar que distintos núcleos amigdalóides participam da modulação de diferentes respostas defensivas. Assim, por meio da marcação neuronal com a proteína *Fos*, tem sido observada a ativação de núcleos amigdalóides específicos durante as respostas emitidas por animais expostos a diferentes situações aversivas como choques elétricos (Campeau e cols., 1991; Savonenko e cols., 1999), altura e/ou espaços abertos (Duncan e cols., 1996; Silveira e cols., 2001), estímulos ultra-sônicos (Beckett e cols., 1997) ou a estimulação elétrica ou química da matéria cinzenta periaquedutal (Sandner e cols., 1993; De Oliveira e cols., 2000).

Quanto às respostas medidas no labirinto em T elevado, por exemplo, esta mesma técnica permitiu observar que enquanto a tarefa de esquiva inibitória produzia o aumento da expressão da proteína *Fos* no núcleo medial, a tarefa de fuga levava ao aumento desta proteína no núcleo basolateral (Silveira e cols., 2001). De fato, um estudo de microdiálise mostra que a 5-HT é liberada na região basolateral após a estimulação química do núcleo dorsal da rafe (Viana e cols., 1997). Já um outro estudo mostra que os níveis de 5-HT no núcleo central também são alterados após a administração de agonistas de receptores do tipo 5-HT<sub>1A</sub> do núcleo dorsal da rafe (Bosker e cols., 1997).

A ativação dos núcleos amigdalóides observada no teste do labirinto em T elevado (Silveira e cols., 2001) sugere a participação destes núcleos na modulação tanto de respostas que parecem envolver o conflito entre aproximação/esquiva, como a resposta de esquiva inibitória, como daquelas que não envolvem este conflito, como a resposta de fuga. Neste sentido, com o objetivo de verificar a extensão da proposição de Deakin e Graeff (1991) sobre o papel do complexo amigdalóide na ansiedade, a seguir, serão revisados resultados de estudos farmacológicos que vem sendo realizados com a finalidade de esclarecer o papel da 5-HT nos diferentes núcleos desta estrutura na modulação de respostas defensivas relacionadas à ansiedade e ao medo.

Cabe lembrar, no entanto, que algumas dificuldades são encontradas quando se pretende avaliar os efeitos de drogas administradas diretamente no complexo amigdalóide. Entre estes obstáculos está o fato de que nem sempre é possível se verificar tais efeitos em núcleos amigdalóides específicos. Por exemplo, ao contrário dos trabalhos que estudam o efeito de drogas injetadas diretamente nos núcleos central (Treit e Menard, 1996), medial (Duxon e cols., 1997) ou cortical (Schreiber e DeVry, 1993), em alguns trabalhos que têm como alvo o complexo basolateral, é comum a localização das agulhas de microinjeção em dois (Hodges e cols., 1987; Zangrossi e Graeff, 1994; Zangrossi e cols., 1999) ou mais (Higgins e cols., 1991) núcleos desta região. Além da variabilidade da localização dos sítios de injeção dentro do complexo amigdalóide, deve-se considerar que a difusão do volume de droga administrado pode atingir núcleos adjacentes.

A estas dificuldades somam-se as inúmeras variações que são encontradas na literatura quanto à organização e subdivisões dos núcleos do complexo amigdalóide

(Johnston, 1923; Krettek e Price, 1978; De Olmos e cols., 1985; Price e cols., 1987; Alheid e cols., 1995; McDonald, 1998; Swanson e Petrovich, 1998; Pitkänen, 2000). Neste contexto, optamos por utilizar, na presente revisão, a divisão do complexo amigdalóide como é proposta por Sah e cols (2003) que é baseada nos estudos de Price e cols. (1987) e McDonald (1998). Nesta, o complexo amigdalóide pode ser dividido em três grandes grupos: 1) o grupo basolateral, composto pelos núcleos lateral, basolateral ou basal e basomedial ou basal acessório; 2) o grupo centro-medial, formado pelos núcleos medial e central e 3) o grupo cortical, que inclui os núcleos corticais anterior e posterior.

Outro ponto que contribui para a complexidade da análise dos estudos a serem revisados se refere aos diferentes tipos de receptores de 5-HT que estão envolvidos na modulação dos comportamentos defensivos. Entre os receptores serotoninérgicos, os do tipo 5-HT<sub>1A</sub>, 5-HT<sub>2A/C</sub> e 5-HT<sub>3</sub> são de particular interesse para esta revisão, já que têm sido os mais comumente relacionados à mediação dos processos de ansiedade (Graeff, 1997). Apesar de não haver uma distribuição uniforme entre os núcleos amigdalóides, vários estudos evidenciam a presença destes receptores no complexo amigdalóide (Pazos e Palacios, 1985; Pazos e cols., 1985; Barnes e cols., 1989; Sugita e cols., 1992; Morilak e cols., 1993).

De acordo com o que foi exposto, a presente revisão tem o objetivo de avaliar os efeitos de drogas serotoninérgicas, que atuam em receptores 5-HT<sub>1A</sub>, 5-HT<sub>2A/2C</sub> e 5-HT<sub>3</sub>, administradas em diferentes núcleos amigdalóides sobre a regulação de comportamentos defensivos. Para tal, nossa análise levou em conta os três principais grupos amigdalóides: o grupo basolateral, o grupo centro-medial e o grupo cortical (Sah e cols., 2003).

## **2. DROGAS SEROTONINÉRGICAS INJETADAS NO GRUPO BASOLATERAL**

### **2.1. Drogas que atuam em receptores do tipo 5-HT<sub>1A</sub>**

Os trabalhos iniciais apontando para o papel ansiogênico da 5-HT no CA foram obtidos em modelos de conflito após a observação de que a injeção do agonista endógeno 5-HT no grupo basolateral diminuía a resposta punida no modelo de Geller-Seifter (Hodges e cols., 1987). O mesmo efeito foi obtido após administração do agonista de receptores 5-HT<sub>1A</sub> 8-hidroxi-2-(di-n-propil-amino)teralin (8-OH-DPAT), indicando que este efeito ansiogênico envolve a ativação deste tipo de receptores (Hodges e cols., 1987).

Mais tarde, foi observado que a injeção de 8-OH-DPAT no núcleo basolateral também produz efeito ansiogênico no teste de interação social. Tal efeito foi bloqueado pela administração do antagonista 5-HT<sub>1A</sub> (-) tertatolol, indicando que este efeito realmente ocorre pela ativação dos receptores 5-HT<sub>1A</sub> (Gonzalez e cols., 1996).

Em contraste com estes resultados, outros estudos mostram que a injeção de 8-OH-DPAT neste grupo amigdalóide não altera as medidas de ansiedade no labirinto em cruz elevado em experimentos conduzidos em laboratórios diferentes (Zangrossi e Graeff, 1994; Gonzalez e cols., 1996).

Já no labirinto em T elevado, como mencionado na introdução, a administração de 8-OH-DPAT nos núcleos basolateral/lateral, prejudica a resposta de esquia inibitória, indicando efeito ansiolítico (Zangrossi e cols., 1999).

Em suma, resultados discrepantes são observados após a ativação dos receptores 5-HT<sub>1A</sub> do grupo basolateral, como o efeito ansiogênico nos modelos de Geller-Seifter (Hodges e cols., 1987) e da interação social (Gonzalez e cols., 1996), nulo no labirinto em cruz elevado (Zangrossi e Graeff, 1994; Gonzalez e cols., 1996) e ansiolítico no labirinto em T elevado (Zangrossi e cols., 1999). Porém, algumas considerações podem ser feitas em relação a estas incongruências.

Em relação à ausência de efeito do agonista 5-HT<sub>1A</sub> 8-OH-DPAT obtida no labirinto em cruz elevado, um das razões para tal resultado pode estar relacionada à baixa sensibilidade deste modelo para detectar o efeito de drogas que atuam na neurotransmissão serotoninérgica (Handley e McBlane, 1991).

Algumas suposições têm sido feitas para explicar esta baixa sensibilidade. Neste sentido, Handley e McBlane (1991) sugerem que as respostas emitidas no labirinto em cruz elevado resultam da ativação de dois sistemas opostos, um que coordena a emissão de resposta e outro que coordena a supressão de resposta. Assim, a entrada nos braços abertos é inibida pelo comportamento de esquiva, que é modulada por um sistema de inibição de resposta. No entanto, quando os animais se encontram nos braços abertos, a resposta de fuga, que é modulada pelo sistema de emissão de resposta, é desencadeada. Então, a inconsistência dos efeitos dos diferentes grupos de drogas serotoninérgicas, sobre as respostas emitidas durante o teste do labirinto em cruz elevado pode ser resultado da ativação de duas vias serotoninérgicas distintas que inervam o complexo amigdalóide e a matéria cinzenta periaquedutal, e que produzem efeitos opostos (ansiogênico e ansiolítico). Assim, o modelo do labirinto em cruz elevado não detectaria o efeito do 8-OH-DPAT

administrado no grupo basolateral possivelmente por não separar as diferentes respostas defensivas (Handley e McBlane, 1991; Handley e cols., 1993; Graeff, 2002).

Uma outra consideração a ser feita diz respeito às doses de 8-OH-DPAT utilizadas nestes estudos. Por meio da análise comparativa dos dados, Zangrossi e cols. (1999) mostram que a maior dose (8 nmol) de 8-OH-DPAT testada no labirinto em cruz elevado, quando comparada individualmente com o grupo controle, aumenta significativamente o tempo gasto pelos animais nos braços abertos, indicando efeito ansiolítico semelhante ao observado na resposta de esquiva no labirinto em T elevado após a administração de uma dose maior (16 nmol) deste agonista 5-HT<sub>1A</sub> (Zangrossi e cols., 1999).

Desta forma, enquanto doses menores de 8-OH-DPAT injetadas nesta região amigdalóide produzem efeito ansiogênico nos testes de conflito (0,39 nmol [Hodges e cols., 1987]) e da interação social (0,15 nmol [Gonzalez e cols., 1996]), doses maiores produzem efeito ansiolítico nos testes do labirinto em cruz (8 nmol [Zangrossi e Graeff, 1994]) e do labirinto em T elevado (16 nmol [Zangrossi e cols., 1999]). Assim, a discrepância entre os resultados obtidos nos modelos de conflito e aqueles observados no labirinto em T elevado também pode decorrer da utilização de diferentes doses de 8-OH-DPAT utilizadas.

## **2.2. Drogas que atuam em receptores do tipo 5-HT<sub>2</sub>**

Estudos conduzidos em modelos de conflito, na mesma época que os experimentos com agonistas 5-HT<sub>1A</sub>, também contribuíram para a elaboração da proposta de Deakin e Graeff (1991) na qual a 5-HT teria, no complexo amigdalóide, o papel de aumentar a

ansiedade. No entanto, ao contrário dos trabalhos que utilizaram agonistas de receptores 5-HT<sub>1A</sub>, nos estudos referentes aos efeitos de drogas que atuam em receptores 5-HT<sub>2</sub> do grupo basolateral, apenas antagonistas foram utilizados.

Assim, foi verificado que a injeção do antagonista de receptores 5-HT<sub>2</sub> quetanserina no núcleo basolateral facilitava a expressão da resposta punida no teste de Vogel da mesma maneira que as drogas ansiolíticas benzodiazepínicas (Petersen e Scheel-Krüger, 1984). Mais tarde, o mesmo efeito ansiolítico foi observado após a injeção de outro antagonista 5-HT<sub>2</sub>, a metisergida, nos núcleos basolateral/lateral em animais testados no modelo de Geller-Seifter (Hodges e cols., 1987). Estes resultados corroboram a hipótese de que a 5-HT, no complexo amigdalóide, aumenta a ansiedade (Deakin e Graeff, 1991). Além disso, estão de acordo com resultados mais recentes sobre o envolvimento deste grupo (LeDoux e cols., 1990; Fanselow e LeDoux, 1999; Maren, 2003), em especial dos receptores 5-HT<sub>2</sub> localizados no núcleo basolateral (Chen e cols., 2003), nos processos de condicionamento. Uma das possibilidades para o envolvimento dos receptores 5-HT<sub>2</sub> do núcleo basolateral nas respostas condicionadas reside na observação obtida em um estudo de eletrofisiologia, no qual a ativação destes receptores facilitou a transmissão sináptica mediada pelo N-metil-D aspartato (NMDA), podendo assim interferir na formação de associações entre estímulos (Chen e cols., 2003).

No entanto, a injeção do antagonista de receptores 5-HT<sub>2</sub> quetanserina nos núcleo basolateral/medial do complexo amigdalóide produz efeito ansiogênico no teste do labirinto em cruz elevado (Zangrossi e Graeff, 1994), destoando da teoria do papel ansiogênico da 5-HT na ansiedade.

É importante lembrar que as doses de quetanserina utilizadas no estudo com o modelo de conflito (Petersen e Scheel-Krüger, 1984) e no estudo com o labirinto em cruz elevado (Zangrossi e Graeff, 1994) eram semelhantes (aproximadamente 10 nmol). Assim, os resultados contraditórios observados podem estar relacionados às limitações peculiares ao teste do labirinto em cruz elevado citadas anteriormente.

### **2.3. Drogas que atuam em receptores do tipo 5-HT<sub>3</sub>**

Estudos realizados posteriormente mostram que antagonistas de receptores 5-HT<sub>3</sub> injetados no grupo basolateral também alteram as medidas de ansiedade em alguns modelos animais. De fato, foi observado que antagonistas 5-HT<sub>3</sub> como o ondansetron, o granistron e o zacopride apresentaram efeito ansiolítico no teste do labirinto em cruz elevado (Tomkins e cols., 1990), indicando a participação dos receptores 5-HT<sub>3</sub> na modulação das respostas emitidas neste teste.

No entanto, mais tarde, foi observado que outro antagonista 5-HT<sub>3</sub>, o BRL46470A, apesar de não alterar a aquisição da tarefa de esquiva inibitória provocada por choques nas patas, apresenta uma tendência ao efeito ansiogênico (de Souza Silva e cols., 1993).

Já no labirinto em T elevado, a administração desta mesma droga facilita o comportamento de esquiva inibitória, indicando efeito ansiogênico (Gargiulo e cols., 1996). Estes resultados estão de acordo com evidências a respeito da capacidade de antagonistas 5-HT<sub>3</sub> em facilitar os processos de aprendizagem (Barnes e cols., 1989; Costall e cols., 1990; Blackburn e cols., 1993).



Quanto à resposta de fuga no teste do labirinto em T elevado, foi observado que a injeção do BRL46470A inibe este comportamento, indicando efeito ansiolítico (Gargiulo e cols., 1996). Tais resultados apontam para o envolvimento de receptores 5-HT<sub>3</sub> do grupo basolateral do complexo amigdalóide também em respostas que não envolvem a situação de conflito entre aproximação-esquiva, como a resposta de fuga no labirinto em T elevado.

Assim, a participação diferencial dos receptores 5-HT<sub>3</sub> do grupo basolateral nas respostas medidas no labirinto em T elevado evidencia que o teste gera respostas defensivas distintas. No entanto, os efeitos verificados neste teste não corroboram com a hipótese de Deakin e Graeff (1991), pois mostram que a 5-HT no complexo amigdalóide, em vez de facilitar, prejudica o comportamento de esquiva. Além disso, por alterarem as duas respostas medidas no labirinto em T elevado, os resultados sugerem ainda que os receptores 5-HT<sub>3</sub> do grupo basolateral podem estar implicados na modulação tanto dos quadros de ansiedade generalizada como de pânico.

### **3. DROGAS SEROTONINÉRGICAS INJETADAS NO GRUPO CENTRO-MEDIAL**

Como mencionado na introdução, ao contrário dos trabalhos que avaliaram os efeitos de drogas serotoninérgicas injetadas no grupo basolateral, naqueles que avaliaram tais efeitos no grupo centro-medial as injeções foram restritas ao núcleo central ou ao núcleo medial.

### **3.1. Núcleo Central**

#### **3.1.1. Drogas que atuam em receptores do tipo 5-HT<sub>1A</sub>**

Resultados de um estudo apontam para a participação dos receptores 5-HT<sub>1A</sub> do núcleo central na modulação de determinadas respostas defensivas. Neste estudo, foi observado que a injeção de 8-OH-DPAT no núcleo central não alterou o comportamento de ocultação defensiva condicionada, mas aumentou o número de contatos que os animais fazem com o bastão eletrificado neste teste, sugerindo efeito ansiolítico (Treit e Menard, 1996).

Interessantemente, a injeção do benzodiazepínico midazolam neste núcleo, produz efeito semelhante neste teste (Pesold e Treit, 1995), indicando que tanto o sistema GABA/benzodiazepínico como o sistema serotoninérgico do núcleo central participam da modulação da resposta de esquiva inibitória ao bastão eletrificado, mas não do comportamento de ocultação medido neste teste. Este comportamento, no entanto, parece ser regulado primordialmente por outra estrutura cerebral, o septo, uma vez que a injeção no septo tanto de midazolam como de 8-OH-DPAT diminui o tempo gasto no comportamento de ocultação defensiva. Assim, enquanto o septo modularia o comportamento de ocultação defensiva, o complexo amigdalóide, em especial o núcleo central, seria responsável pela resposta de esquiva ao bastão eletrificado (Treit e Menard, 1996).

Como o teste de ocultação defensiva tem sido relacionado ao transtorno de ansiedade generalizada, por envolver o conflito entre aproximação-esquiva (Graeff e Zangrossi, 2002), os resultados citados sugerem que os receptores 5-HT<sub>1A</sub> localizados nestes dois núcleos podem estar implicados nesta patologia. Porém, mais uma vez, pode-se observar o efeito ansiolítico produzido pela ativação de receptores 5-HT do complexo amigdalóide, não corroborando com a hipótese do papel ansiogênico da 5-HT nesta estrutura.

### **3.1.2. Drogas que atuam em receptores do tipo 5-HT<sub>2</sub>**

Ao nosso conhecimento, apenas um estudo foi realizado procurando avaliar o papel dos receptores 5-HT<sub>2</sub> localizados no núcleo central sobre a modulação de comportamentos defensivos. Neste estudo, foi observado que a administração do agonista não seletivo de receptores 5-HT<sub>2</sub> mCPP no núcleo central do complexo amigdalóide não alterou o comportamento de interação social (Whiton e Curson, 1990). No entanto, somente uma dose da droga foi testada e a injeção foi unilateral, dificultando interpretações sobre o envolvimento dos receptores 5-HT<sub>2</sub> do núcleo central na modulação do comportamento de interação social.

### **3.1.3. Drogas que atuam em receptores do tipo 5-HT<sub>3</sub>**

Diferentes doses dos antagonistas 5-HT<sub>3</sub> ondansetron (0,01-1 ng) ou tropisetron (0,1-10 ng), quando injetados no núcleo central, produzem efeito ansiolítico no teste de

transição claro-escuro em camundongos (Costall e cols., 1989). Este teste tem sido relacionado ao transtorno de ansiedade generalizada, já que envolve a situação de conflito de esquiva/aproximação gerada pela aversão a lugares iluminados e pela tendência de explorar lugares novos (para revisão ver Zangrossi e Graeff, 2002). Deste modo, os receptores 5-HT<sub>3</sub> localizados tanto no grupo basolateral (Gargiulo e cols., 1996) como no núcleo central (Costall e cols., 1989) parecem estar envolvidos na modulação de respostas relacionadas a este transtorno.

No entanto, ao contrário do efeito ansiolítico observado na transição claro-escuro (Costall e cols., 1989), antagonistas deste tipo de receptor microinjetados no grupo basolateral produziram efeito ansiogênico no teste do labirinto em T elevado (Gargiulo e cols., 1996). Estes resultados apontam para a modulação em sentidos opostos, dos núcleos central e basolateral, sobre estas respostas defensivas.

É interessante lembrar, entretanto, que os autores do estudo conduzido no teste de transição claro-escuro (Costall e cols., 1989) salientam para a possibilidade do volume de droga injetado ter atingido outros núcleos amigdalóides devido ao pequeno tamanho do núcleo central. Além disso, diferenças entre as espécies testadas também devem ser consideradas, já que os resultados deste estudo foram obtidos em camundongos e não em ratos como nos outros estudos citados na presente revisão.

### 3.2. Núcleo Medial

Diferentemente dos estudos referentes ao grupo basolateral e ao núcleo central, os estudos que avaliaram os efeitos de drogas serotoninérgicas injetadas no medial, utilizaram apenas drogas que atuam em receptores do tipo 5-HT<sub>2</sub>, fortemente encontrados nos neurônios deste núcleo (Duxon e cols., 1995).

Assim, contrastando com a participação dos receptores 5-HT<sub>2</sub> do grupo basolateral (Petersen e Schell-Krüger, 1984; Hodges e cols., 1987), a injeção de diferentes doses (0,09; 0,31 ou 0,93 nmol) do agonista 5-HT<sub>2</sub> BW73C86 não alteraram as respostas no teste do beber punido (Duxon e cols., 1997).

É interessante notar que a menor e a maior dose (0,09 ou 0,93 nmol) desta mesma droga produziram efeito ansiolítico no teste de interação social. Este efeito foi bloqueado pelo pré-tratamento sistêmico com o antagonista 5-HT<sub>2B/C</sub> SB200646A, mostrando que o efeito ansiolítico neste teste se deve, de fato, à ativação dos receptores 5-HT<sub>2</sub> (Duxon e cols., 1995).

Já no teste do labirinto em cruz elevado, a dose de 0,31 nmol de BW73C86 produziu efeito ansiolítico, enquanto outros agonistas 5-HT<sub>2</sub>, como o mCPP e o  $\alpha$ -metil-5-HT, mostram apenas uma tendência para o efeito ansiolítico neste teste. Cabe lembrar que somente uma dose de mCPP (3,1 nmol) e  $\alpha$ -metil-5-HT (3,1 nmol) foram testadas (Duxon e cols., 1995).

Em resumo, os resultados indicam que os receptores 5-HT<sub>2</sub> do núcleo medial não parecem ser ativados nas respostas punidas (Duxon e cols., 1997). Porém, a ativação destes

receptores seria responsável pelo efeito ansiolítico observado nos testes do labirinto em cruz elevado (Duxon e cols., 1995) e de interação social (Duxon e cols., 1997).

Mais uma vez, estes resultados vão contra a proposição de que a 5-HT no complexo amigdalóide aumenta a ansiedade (Deakin e Graeff, 1991), mas mostram que, assim como ocorre com os receptores 5-HT<sub>2</sub> do núcleo basolateral, os efeitos da ativação dos receptores 5-HT<sub>2</sub> do núcleo medial parecem variar de acordo com as respostas medidas nos diferentes modelos.

É importante notar, todavia, que a incongruência destes resultados pode estar relacionada às diferentes afinidades das drogas para subtipos de receptores 5-HT<sub>2</sub>, às diferentes doses testadas e às ressalvas aos modelos de interação social e do labirinto em cruz elevado feitas anteriormente.

#### **4. DROGAS SEROTONINÉRGICAS INJETADAS NO GRUPO CORTICAL**

Ao nosso conhecimento, somente observações feitas a partir da ativação de receptores 5-HT<sub>1A</sub> do grupo cortical verificam a participação específica do sistema serotoninérgico deste grupo na modulação de respostas defensivas.

Deste modo, Schreiber e De Vry (1993), utilizando o modelo da vocalização ultrassônica, verificaram que diferentes doses dos agonistas 5-HT<sub>1A</sub> 8-OH-DPAT, buspirona e

ipsapirona injetados no núcleo cortical diminuíram as vocalizações produzidas por choques nas patas, sugerindo efeito ansiolítico (de Schreiber e De Vry, 1993).

Estes resultados não corroboram a proposição do papel da 5-HT no complexo amigdalóide (Deakin e Graeff, 1991) em dois pontos a serem considerados. Primeiro por divergir do papel ansiogênico que este neurotransmissor exerceria nesta estrutura, uma vez que o agonista 5-HT<sub>1A</sub> produziu efeito ansiolítico. E segundo por indicar a participação de complexo amigdalóide na modulação de uma resposta que tem sido relacionada ao transtorno do pânico (De Vry e cols., 1993; Molewijk e cols., 1995). Realmente, esta resposta parece não gerar o conflito de aproximação/esquiva implicado em comportamentos relacionados ao transtorno de ansiedade generalizada.

A participação do grupo cortical em respostas relacionadas ao transtorno de pânico é observada ainda num estudo que utilizou a marcação neuronal da proteína *Fos* em um procedimento de esquiva ativa. Neste estudo, Savonenko e cols. (1999) sugeriram que enquanto as regiões basolateral e medial do complexo amigdalóide participariam da elaboração da ansiedade antecipatória, a região cortical estaria funcionalmente relacionada ao processamento do medo.

Assim, diferentemente da proposição de Deakin e Graeff (1991), na qual o complexo amigdalóide modularia essencialmente comportamentos relacionados ao transtorno de ansiedade generalizada, os resultados apresentados evidenciam o envolvimento desta estrutura também em comportamentos relacionados ao transtorno de pânico.

## **5. CONSIDERAÇÕES FINAIS**

O objetivo desta revisão foi, baseado na teoria do papel dual da 5-HT (Deakin e Graeff, 1991), analisar o efeito produzido por drogas, que atuam em receptores 5-HT específicos, administradas em diferentes grupos do complexo amigdalóide sobre a modulação de comportamentos defensivos.

Conforme já mencionado, segundo Deakin e Graeff (1991), a 5-HT nesta estrutura facilitaria comportamentos evocados por a estímulos ameaçadores potenciais ou distais, que envolvem o conflito entre aproximação/esquiva e que estariam relacionados ao transtorno de ansiedade generalizada.

De fato, os estudos aqui revisados mostram que o complexo amigdalóide participa da modulação de comportamentos que envolvem o conflito entre aproximação/esquiva, como por exemplo, as respostas punidas e a resposta de esquiva no labirinto em T elevado. Entretanto, os dados que fundamentam a hipótese de Deakin e Graeff (1991) foram obtidos somente em modelos de conflito, baseados na punição. Já estudos conduzidos em outros modelos animais, que não utilizam respostas punidas, sugerem que o complexo amigdalóide também está implicado na modulação de respostas de medo que, segundo a teoria original dos autores, seriam moduladas primordialmente pela matéria cinzenta periaquedutal. Assim, levando-se em conta a capacidade dos modelos existentes para representar aspectos dos transtornos de ansiedade em humanos (para revisão ver Graeff e Zangrossi, 2002), o complexo amigdalóide parece modular tanto respostas relacionadas ao transtorno de ansiedade generalizada como aquelas relacionadas ao transtorno de pânico.



Outro ponto a ser considerado é que a proposição do papel ansiogênico da 5-HT no complexo amigdalóide (Deakin e Graeff, 1991) está baseada em experimentos nos quais o alvo da injeção de drogas era o grupo basolateral. Realmente, a ativação de receptores 5-HT deste grupo produz efeito ansiogênico em modelos de conflito (Petersen e Scheel-Kruger, 1984; Hodges e cols, 1987). Porém, este efeito não é observado após a administração de agonistas 5-HT<sub>2</sub> no núcleo medial (Duxon e cols., 1997), mostrando que os núcleos amigdalóides participam diferencialmente na regulação das respostas de conflito.

Além disso, a participação ou não de vários tipos de receptores 5-HT específicos, como os receptores 5-HT<sub>1A</sub>, 5-HT<sub>2</sub> e 5-HT<sub>3</sub> aumenta o grau de dificuldade em se entender o envolvimento do sistema 5-HT do complexo amigdalóide nos processos de ansiedade. Por exemplo, em relação o grupo basolateral, foi observado que o efeito ansiogênico da 5-HT nos modelos de conflito são modulados tanto por receptores 5-HT<sub>1A</sub> (Hodges e cols., 1987) como 5-HT<sub>2</sub> (Petersen e Scheel-Kruger, 1984), mas não por receptores 5-HT<sub>3</sub> (Higgins e cols., 1991).

Assim, como o sistema serotoninérgico dos diferentes núcleos amigdalóides parece modular respostas defensivas distintas, o papel da 5-HT no nesta estrutura parece ser mais complexo e abrangente do que o proposto na teoria original de Deakin e Graeff (1991). Entretanto, a literatura existente não esclarece totalmente a participação específica do sistema 5-HT de cada núcleo do complexo amigdalóide na modulação dos comportamentos defensivos.

Neste sentido, novos estudos são necessários para se avaliar o efeito de drogas que atuam em receptores 5-HT específicos de núcleos amigdalóides distintos para

complementar a teoria do papel dual da 5-HT de Deakin e Graeff (1991) e se entender o real papel deste neurotransmissor na fisiopatologia da ansiedade.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alheid GF, De Olmos J, Beltramino CA (1995) Amygdala and extend amygdala. In: *The Rat Nervous System*, edited by Paxinos G, Orlando FL: Academic P. 495-578
- Argyropoulos SV, Sandford JJ, Nutt DJ (2000) The psychobiology of anxiolytic drug. Part 2: Pharmacological treatments of anxiety. *Pharmacol Ther* 88 (3): 213-27
- Azmitia EC, Segal M (1978). An autodiographic analysis of the differential ascending projections of the dorsal and median raphe nuclei in the rat. *J Comp Neurol* 179: 641-688
- Barnes JM, Costall B, Coughlan J, Domeney AM, Gerrard PA, Kelly ME, Naylor RJ, Onaivi ES, Tomkins DM, Tyers MB (1989) The effects of ondansetron, a 5-HT<sub>3</sub> receptor antagonist, on cognition in rodents and primates. *Pharmacol Biochem Behav* 35(4): 955-62
- Beckett SR, Duxon MS, Aspley S, Marsden CA (1997) Central c-fos expression following 20kHz/ultrasound induced defence behaviour in the rat. *Brain Res Bull* 42 (6): 421-6
- Blackburn TP, Baxter GS, Kennett GA, King FD, Piper DC, Sanger GJ, Thomas DR, Upton N, Wood MD (1993) BRL 46470A: a highly potent, selective and long acting 5-HT<sub>3</sub> receptor antagonist with anxiolytic-like properties. *Psychopharmacology* 110(3): 257-64
- Bosker F, Vrinten D, Klompmakers A, Westenberg H (1997) The effects of a 5-HT<sub>1A</sub> receptor agonist and antagonist on the 5-hydroxytryptamine release in the central nucleus of the amygdala: a microdialysis study with flesinoxan and WAY 100635. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 355(3): 347-53
- Campeau S, Hayward MD, Hope B, Rosen JB, Nestler EJ, Davis M (1991) Induction of the c-fos proto-oncogen in rat amygdala during unconditioned and conditioned fear. *Brain Res* 565: 349-352
- Celeumans DLS, Hoppenbrouwers MLJA, Gelders YG, Reyntjens AJM (1985) The

- influence of ritanserin, a serotonin antagonist, in anxiety disorders: a double-blind placebo-controlled study versus lorazepam. *Pharmacopsychiatry* 18: 303-305
- Chen A, Hough CJ, Li H (2003) Serotonin type II receptor activation facilitates synaptic plasticity via N-methyl-D-aspartate-mediated mechanism in the rat basolateral amygdala. *Neuroscience* 119 (1): 53-63
- Costall B, Kelly ME, Naylor RJ, Onaivi ES, Tyers MB (1989) Neuroanatomical sites of action of 5-HT<sub>3</sub> receptor agonist and antagonist for alteration of aversive behaviour in the mouse. *Br J Pharmacol* 96: 325-332
- Costall B, Naylor RJ, Tyers MB (1990) The psychopharmacology of 5-HT<sub>3</sub> receptors. *Pharmacol Ther* 47(2):181-202
- De Olmos J, Alheid GF, Beltramino A (1985) The rat nervous system. Academic Press 7: 223-317
- Deakin JWF, Graeff FG (1991) 5-HT and mechanisms of defence. *J Psychopharmacol* 5: 305-315
- Deakin JFW, Graeff FG, Guimarães FS (1992) 5-HT receptor subtypes and the modulation of aversion. In: Marsden CA, Heal DJ (eds). *Central serotonin receptors and psychotropic drugs*. Blackwell Scientific Publication, Oxford, 147-74
- den Boer JA, Westenberg HG (1990) Behavioral, neuroendocrine, and biochemical effects of 5-hydroxytryptophan administration in panic disorder *Psychiatry Res* (3):267-78
- de Oliveira RW, Del Bel EA, Guimaraes FS (2000) Behavioral and c-fos expression changes induced by nitric oxide donors microinjected into the dorsal periaqueductal gray. *Brain Res Bull* 51(6): 457-64
- De Souza Silva MA, Guimarães FS, Graeff FG, Tomaz C (1993) Absence of amnesic effect of an anxiolytic 5-HT<sub>3</sub> antagonist (BRL46470A) injected into basolateral amygdala, as opposed to diazepam. *Behav Brain Res* 59: 141-145
- Duncan GE, Knapp DJ, Breese GR (1996) Neuroanatomical characterization of Fos induction in rat behavioral models of anxiety. *Brain Res* 713(1-2): 79-91
- Duxon MS, Beckett SR, Baxter GS, Blackburn TP, Fone KCF (1995) Intra-amygdala injection of the 5-HT<sub>2B</sub> receptor agonist BW723C86 produces anxiolysis on the elevated plus-maze in the rat. *Br J Pharmacol* 116: 331P
- Duxon MS, Kennett GA, Lightowler S, Blackburn TP, Fone KCF (1997) Activation of 5-HT<sub>2</sub> receptors in the medial amygdala causes anxiolysis in the social interaction test in the rat. *Neuropharmacology* 36: 601-608

- Eison AS, Temple DL (1989) Buspirone: review of its pharmacology and current perspectives on the mechanism of action. *Am J Med* 80: 1–9
- Fanselow MS, LeDoux JE (1999) Why we think plasticity underlying Pavlovian fear conditioning occurs in the basolateral amygdala. *Neuron* 23(2): 229–32
- Gargiulo PA, Viana MB, Graeff FG, de Souza Silva MA, Tomaz C (1996) Effects on anxiety and memory of systemic and intra-amygdala injection of 5-HT<sub>3</sub> receptor antagonist BRL 46470A. *Neuropsychobiology* 3: 189–195
- Geller I, Blum K. (1970) The effects of 5-HTP on para-Chlorophenylalanine (p-CPA) attenuation of "conflict" behavior. *Eur J Pharmacol* 9(3): 319–24
- Geller I (1970) Effect of punishment on lever pressing maintained by food reward or brain stimulation. *Physiol Behav* 5(2): 203–6
- Gonzalez LE, Andrews N, File SE (1996) 5-HT<sub>1A</sub> and benzodiazepine receptors in the basolateral amygdala modulate anxiety in the social interaction test, but not in the elevated plus-maze. *Brain Res* 732: 145–153
- Graeff FG (1981) Minor tranquilizers and brain defense systems. *Braz J Med Biol Res* 14: 239–265
- Graeff FG (1990) Brain defense systems and anxiety. In: Roth M, Burrows GD, Noyes R (eds) *Handbook of anxiety*, vol 3. The neurobiology of anxiety. Elsevier, Amsterdam, pp. 307–354
- Graeff FG (1991) Neurotransmitters in the dorsal periaqueductal gray and animal models of panic anxiety. In: Briley M, File SE (eds) *New concepts in anxiety*. MacMillan, London, pp 288–312
- Graeff FG (1994) Neuroanatomy and neurotransmitter regulation of defensive behaviors and related emotions in mammals. *Brazil J Med Biol Res* 27: 811–829
- Graeff FG, Viana MB, Mora PO (1996) Dual role of 5-HT in defense and anxiety. *Neurosci Biobehav Rev* 54: 129–141
- Graeff FG, Schoenfeld RI (1970) Tryptaminergic mechanisms in punished and nonpunished behavior. *J Pharmacol Exp Ther* 173: 277–283
- Graeff, FG (1993) Role of 5-HT in defensive behavior and anxiety. *Rev Neurosci* 4:181–211
- Graeff FG (2002) On serotonin and experimental anxiety. *Psychopharmacology* 163(3–4):467–76

- Graeff FG, Viana MB, Mora PO (1997) Dual role of 5-HT in defense and anxiety. *Neurosci Biobehav Rev* 21(6): 791-9
- Graeff FG, Netto CF, Zangrossi H Jr (1998) The elevated T-maze as an experimental model of anxiety. *Neurosci Biobehav Rev* 23(2): 237-46
- Graeff FG, Zangrossi H Jr (2002) Animal models of anxiety disorders. In: H. D'haenen, JA den Boer, P. Willner (eds). *Biological Psychiatry/Anxiety Disorders*. John Wiley & Sons Ltd.
- Gray JA, McNaughton N (2000) *The neuropsychology of anxiety*. Oxford University Press, Oxford
- Griebel G (1995) 5-Hydroxytryptamine-interacting drugs in animal models of anxiety disorders: more than 30 years of research. *Pharmacol Ther* 65: 319–395
- Guimarães FS, Hetem LAB (1997) Ansiedade induzida experimentalmente em humanos. In: Graeff FG, Hetem LAB (eds). *Ansiedade e transtornos de ansiedade*. Rio de Janeiro, Editora Científica Nacional, 1997. Cap. 5, pp.121-151
- Guimaraes FS, Mbaya PS, Deakin JF (1997) Ritanserin facilitates anxiety in a simulated public-speaking paradigm. *J Psychopharmacol* 11(3): 225-31
- Handley SL, McBlane JW (1991) 5-HT – the disengaging transmitters? *Psychopharmacol* 5: 322-326
- Handley SL, McBlane JW, Critchley MA, Njung'e K (1993) Multiple serotonin mechanisms in animal models of anxiety: environmental, emotional and cognitive factors. *Behav Brain Res* 58(1-2): 203-10
- Hensman R, Guimaraes FS, Wang M, Deakin JF (1991) Effects of ritanserin on aversive classical conditioning in humans *Psychopharmacology* 104(2): 220-4
- Higgins GA, Brian JJ, Oakley NR, Tyers MB (1991) Evidence that the amygdala is involved in the disinhibitory effects of 5-HT<sub>3</sub> receptor antagonists. *Psychopharmacology* 104: 545-551
- Hodges H, Green S, Glenn B (1987) Evidence that amygdala is involved in benzodiazepine and serotonergic effects on punished responding but not on discrimination. *Psychopharmacology* 92: 491-504
- Jenck F, Broekkamp CL, Van Delft AM (1990) The effect of antidepressants on aversive periaqueductal gray stimulation in rats. *Eur J Pharmacol* 177(3): 201-4

- Johnston JB (1923) Further contributions to the study of the evolution of the forebrain. *J Comp Neurol* 35: 337–481
- Kiser RS, Brown CA, Sanghera MK, German DC (1980) Dorsal raphe nucleus stimulation reduces centrally-elicited fearlike behavior. *Brain Res* 191(1): 265-72
- Krettek JE, Price JL (1978) A description of the amygdaloid complex in the rat and cat with observations on intra-amygdaloid axonal connections. *J Comp Neurol* 178: 255–280
- LeDoux JE, Cicchetti P, Xagoraris A, Romanski LM (1990) The lateral amygdaloid nucleus: sensory interface of the amygdala in fear conditioning. *J Neurosci* 10(4): 1062-9
- Maren S (2003) The amygdala, synaptic plasticity, and fear memory. *Ann N Y Acad Sci* 985: 106-13
- McDonald AJ (1998) Cortical pathways to the mammalian amygdala. *Prog Brain Res* 55: 257–332
- Morilak DA, Garlow SJ, Ciaranello RD (1993) Immunocytochemical localization and description of neurons expressing serotonin<sub>2</sub> receptors in the rat brain. *Neurosci* 54(3): 701-17
- Molewijk HE, van der Poel AM, Mos J, van der Heyden JA, Olivier B (1995) Conditioned ultrasonic distress vocalizations in adult male rats as a behavioural paradigm for screening anti-panic drugs. *Psychopharmacology* 117(1): 32-40
- Nogueira RL, Graeff FG (1995) Role of 5-HT receptor subtypes in the modulation of aversion generated in the dorsal periaqueductal gray. *Pharmacol Biochem Behav* 52: 1–6
- Pazos A, Cortes R, Palacios JM (1985) Quantitative autoradiographic mapping of serotonin receptors in the rat brain. II. Serotonin-2 receptors. *Brain Res* 346(2): 231-49
- Pazos A, Palacios JM (1985) Quantitative autoradiographic mapping of serotonin receptors in the rat brain. I. Serotonin-1 receptors. *Brain Res* 346:205–230
- Pesold C, Treit D (1995) The central and basolateral amygdala differentially mediate the anxiolytic effects of benzodiazepines. *Brain Res* 671:213–221
- Petersen EN, Scheel-Krüger J (1984) Anticonflict effects of 5-HT antagonists by intra-amygdaloid injection. Abstracts of the 14th CINP Congress, p 654
- Pitkänen A (2000) Connectivity of the rat amygdaloid complex. In: *The Amygdala: A Functional Analysis*, edited by Aggleton JP. Oxford, UK: Oxford Univ Press, pp. 31–115

- Price JL, Russchen FT, Amaral DG (1987) *The Limbic Region. II: The Amygdaloid Complex*. New York: Elsevier Science
- Robichaud RC, Sledge KL (1969) The effects of p-chlorophenylalanine on experimentally induced conflict in the rat. *Life Sci* 8: 965–969
- Sah P, Faber ES, Lopez De Armentia M, Power J (2003) The amygdaloid complex: anatomy and physiology. *Physiol Rev* 83(3): 803-34
- Sandner G, Oberling P, Silveira MC, Di Scala G, Rocha B, Bagri A, Depoortere R (1993) What brain structures are active during emotions? Effects of brain stimulation elicited aversion on c-fos immunoreactivity and behavior. *Behav Brain Res* 58(1-2): 9-18
- Savonenko A, Filipkowski RK, Werka T, Zielinski K, Kaczmarek L (1999) Defensive conditioning-related functional heterogeneity among nuclei of the rat amygdala revealed by c-Fos mapping. *Neurosci* 94(3): 723-33
- Schreiber R, De Vry J (1993) Neuronal circuits involved in the anxiolytic effects of the 5-HT<sub>1A</sub> receptor agonists 8-OH-DPAT, ipsapirone and buspirone in the rat. *Eur J Pharmacol* 249: 341-351
- Silveira MCL, Zangrossi H Jr, Viana MB, Silveira R, Graeff FG (2001) Differential expression of Fos protein in the rat brain induced by performance of avoidance or escape in the elevated T-maze. *Behav Brain Res* 126: 13–21
- Sugita S, Shen KZ, North RA (1992) 5-Hydroxytryptamine is a fast excitatory transmitter at 5-HT<sub>3</sub> receptors in rat amygdala. *Neuron* 8: 199–203
- Swanson LW, Petrovich GD (1998) What is the amygdala? *Trends Neurosci* 21: 323–331
- Tomkins DM, Costall B, Kelly ME (1990) Release of suppressed behaviour of rat on the elevated X-maze by 5-HT<sub>3</sub> receptor antagonists injected into the basolateral amygdala. *J Psychopharmacol* 4: 262P
- Treit D, Menard J (1996) The anxiolytic effects of R(1)-8-OH-DPAT differ in the septum and in the amygdala. *Neurosci Abst* 22:1136
- Tye NC, Everitt BJ, Iversen SD (1977) 5-Hydroxytryptamine and punishment. *Nature* 268: 741–742
- Viana M B, Tomaz C, Graeff F G (1994) The elevated T-maze: an animal model of anxiety and memory. *Pharmacol Biochem Behav* 49: 549-554
- Viana MB, Graeff FG, Loschmann PA (1997) Kainate microinjection into the dorsal raphe nucleus induces 5-HT release in the amygdala and periaqueductal gray *Pharmacol Biochem Behav* 58(1): 167-72

- Whiton P, Curson G (1990) Anxiogenic-like effect of infusing 1-(3-clorophenyl) piperazine (mCPP) into the hippocampus. *Psychopharmacology* 100: 138-140.
- Wise CD, Berger BD, Stein L (1972) Benzodiazepines: Anxietyreducing activity by reduction of serotonin turnover in the brain. *Science* 177: 180–183
- Zangrossi H, Graeff FG (1994) Behavioural effects of intra-amygdala injections of GABA and 5-HT acting drugas in the elevated plus-maze. *Brazilian J Med Biol Res* 27: 2453-2456
- Zangrossi H, Graeff FG (1997) Behavioral validation of the elevated T-maze, a new animal model of anxiety. *Brain Res Bull* 44: 1-5
- Zangrossi H, Viana MB, Graeff FG (1999) Anxiolytic effect of intra-amygdala injection of midazolam and 8-hidroxy-2-(di-n-propylamino)tetalin in the elevated T-maze. *Eur J Pharmacol* 369: 267-270
- Zangrossi H Jr, Viana MB, Zanoveli J, Bueno C, Nogueira RL, Graeff FG (2001) Serotonergic regulation of inhibitory avoidance and one-way escape in the elevated T-maze. *Neurosci Biobehav Rev* 25: 637–645