

## Envolvimento dos Receptores 5-HT<sub>2</sub> da Amígdala nos Níveis de Ansiedade Induzidos pela Exposição de Ratos ao Labirinto em Cruz Elevado<sup>1</sup>

Gilson de Assis Pinheiro<sup>2</sup>

Universidade Católica de Brasília e Universidade de Brasília

Sérgio Henrique de Souza Alves

Centro Universitário de Brasília e Universidade de Brasília

Pedro Paulo Murce e Antonio Pedro de Mello Cruz

Universidade de Brasília

**RESUMO** - O efeito de microinjeções intra-amigdalóides do antagonista 5-HT<sub>2A/2C</sub> de receptores serotoninérgicos RP 62203 (1,0; 2,5; 5,0 µg) foi investigado em medidas tradicionais e etológicas (*esquadrinhar, espreitar e explorações da extremidade*) de ansiedade de ratos no labirinto em cruz elevado. A dose de 5,0 µg aumentou as porcentagens de entrada e de tempo nos braços abertos, sem alterar no número de entradas nos braços fechados. As categorias esquadrinhar, espreitar e explorações da extremidade também foram alteradas pela droga. As doses de 2,5 e 5,0 µg aumentaram o tempo gasto em esquadrinhar e diminuíram o tempo gasto em espreitar. O número de explorações da extremidade também foi aumentado pela injeção da droga na dose de 5,0 µg. Este padrão comportamental sugere um efeito ansiolítico do RP 62203. A participação dos receptores 5-HT<sub>2A/2C</sub> da amígdala na regulação desse efeito é discutida.

**Palavras-chave:** ansiedade; labirinto em cruz elevado; 5-HT.

## Involvement of 5-HT<sub>2</sub> Receptors of the Amygdala in Anxiety Levels Induced by Exposure of Rats to the Elevated Plus-maze

**ABSTRACT** - The effect of microinjections of the 5-HT<sub>2A/2C</sub> receptor antagonist RP62203 (1,0; 2,5; 5,0 µg) in the amygdala was investigated on traditional and ethological (*scanning, risk-assessment, explorations of extremities*) anxiety measures of rats in the elevated plus-maze test. The dose of 5,0 µg increased the percentages of entries and time spent in the open arms, without altering the number of closed arm entries. Scanning, risk-assessment and end exploration were also changed by the treatment, there being an increase of time spent in scanning (2,5 and 5,0 µg) and a reduction of time in risk-assessment (2,5 and 5,0 µg). The number of explorations of extremities was increased by the dose of 5,0 µg. This behavioral profile suggests an anxiolytic effect of the RP 62203. The participation of the 5-HT<sub>2A/2C</sub> receptors of the amygdala in the regulation of those effects is discussed.

**Key words:** anxiety; elevated plus-maze; 5-HT.

Desde as primeiras demonstrações de que antagonistas da neurotransmissão serotoninérgica promoviam efeitos ansiolíticos comparáveis aos dos benzodiazepínicos em testes de conflito (Graeff & Schoenfeld, 1970), o papel da serotonina (5-HT) na ansiedade vem sendo amplamente investigado. Estes resultados, em conjunto com as observações de que os ansiolíticos benzodiazepínicos diminuíam a atividade dos neurônios serotoninérgicos, favoreceram a proposição da teoria serotoninérgica clássica da ansiedade, a qual atribui um papel ansiogênico para a 5-HT (Stein, Wise & Berger, 1973).

Mais recentemente, a própria utilização de drogas serotoninérgicas com potencial ansiolítico parece fortalecer

esta hipótese. Por exemplo, antagonistas dos subtipos 5-HT<sub>2</sub> (como a ritanserina e a ketanserina) e 5-HT<sub>3</sub> (como o ondansetrom, o zacopride e o BRL 46470) promovem efeitos ansiolíticos em vários modelos animais (para revisões, ver Cruz & cols., 1995, 1997; Handley & McBlane, 1993) e em ensaios clínicos com humanos (para revisões, ver Graeff & cols., 1996; McNair & cols., 1982). Estudos neuroquímicos também indicam que a buspirona, primeiro ansiolítico seletivo de ação serotoninérgica introduzido na clínica médica (Ninan & cols., 1998), atua preferencialmente em nível dos auto-receptores 5-HT<sub>1A</sub> nos núcleos da rafe (Hoyer & Martin, 1997). A ativação desses auto-receptores pré-sinápticos diminui a quantidade de 5-HT em nível pós-sináptico (provavelmente na amígdala e hipocampo). Desta forma, a ação ansiogênica da 5-HT parece ser minimizada sob o efeito dessas drogas.

A despeito dessas evidências, a hipótese serotoninérgica clássica da ansiedade vem sendo revisada, sobretudo em função de resultados provenientes de modelos animais envolvendo microinjeções de drogas diretamente em sítios cerebrais. Assim, tem sido demonstrado que enquanto microinjeções de

- 1 Este estudo contou com o apoio do CNPq (Proc.350214/1998-0) e foi parte integrante da dissertação de mestrado de Gilson de Assis Pinheiro, realizada e defendida no Instituto de Psicologia da UnB – 2001. Pedro Paulo Murce foi bolsista do I.C. do CNPq. Os autores agradecem as valiosas sugestões e críticas do Dr. Vitor Motta, do Dr. Jesus Landeira Fernandes e da Dra. Maria Ângela Guimarães Feitosa.
- 2 Endereço: Universidade Católica de Brasília. Departamento de Psicologia. QS 7, lote 1, EPCT, Águas Claras, Taguatinga, DF, 72.030.170.

5-HT diretamente na amígdala promovem efeitos ansiogênicos (Hodges & cols., 1987; Menard & Treit, 1999; Pesold & Treit, 1995), microinjeções de 5-HT na matéria cinzenta periaquedutal promovem, ao contrário, efeitos ansiolíticos (Deakin & Graeff, 1991; Gonzalez & cols., 1996; Graeff & cols., 1993; Graeff, 1994;). Além disso, muitos resultados inconsistentes têm sido obtidos em diferentes modelos animais desenvolvidos para o teste destas drogas, dificultando uma análise conclusiva do real papel da 5-HT em relação às estruturas cerebrais que regulam a ansiedade (para revisões, ver Bourin, 1997; Cruz & cols. 1997; Griebel, 1995, 1996; Handley & McBlane, 1993; McCreary & cols., 1996).

De fato, a neurotransmissão serotoninérgica é muito complexa. Sete classes de receptores para a 5-HT já foram descritas, incluindo os receptores 5-HT<sub>1</sub>, 5-HT<sub>2</sub>, 5-HT<sub>3</sub>, 5-HT<sub>4</sub>, 5-HT<sub>5</sub>, 5-HT<sub>6</sub> e 5-HT<sub>7</sub>. O receptor 5-HT<sub>1</sub> é ainda subdividido nos subtipos 5-HT<sub>1A</sub>, 5-HT<sub>1B</sub>, 5-HT<sub>1D</sub>, 5-HT<sub>1E</sub> e 5-HT<sub>1F</sub>. O subtipo C passou a fazer parte da família 5-HT<sub>2</sub> de receptores, subdividida em 5-HT<sub>2A</sub>, 5-HT<sub>2B</sub> e 5-HT<sub>2C</sub>. Finalmente, o receptor 5-HT<sub>5</sub> é subdividido nos subtipos 5-HT<sub>5A</sub> e 5-HT<sub>5B</sub> (Hoyer & cols., 1994; Zifa & Fillion, 1992).

Dentre esses tipos, os receptores 5-HT<sub>1</sub>, 5-HT<sub>2</sub> e 5-HT<sub>3</sub> são os que estão mais diretamente envolvidos na ansiedade (Barnes & Sharp, 1999; Hoyer & Martin, 1997). Estudos envolvendo manipulações farmacológicas e neuroanômicas desses receptores têm recebido, portanto, atenção especial nas investigações sobre o papel da 5-HT na ansiedade. Paralelamente, evidências clínicas e experimentais indicam um papel central da amígdala na modulação de estados de ansiedade (Cruz & Landeira-Fernandez, 2001; Davis, 1986, 1998; Doron & LeDoux, 1999; File, Gonzalez & Gallant, 1998; Gallager & Chiba, 1996; LeDoux, 1998; Menard & Treit, 1999).

A amígdala é apresenta comunicações com diversas estruturas do sistema límbico e, de acordo com muitos pesquisadores (p.ex. Davis, 1998; Gallagher & Chiba, 1996; LeDoux, 1998), atua fazendo uma interface entre aspectos cognitivos e afetivos da ansiedade. Não surpreende, portanto, que a esta estrutura também esteja envolvida nos principais circuitos serotoninérgicos que regulam as emoções. Por exemplo, ela é um dos principais sítios pós-sinápticos que recebe projeções serotoninérgicas provenientes do núcleo dorsal da rafe (Deakin & Graeff, 1991; Hoyer & Martin, 1997; Zifa & Fillion, 1992). Além disso, apresenta receptores 5-HT<sub>1A</sub>, 5-HT<sub>2</sub> e 5-HT<sub>3</sub>, onde os do tipo 5-HT<sub>1A</sub> localizam-se principalmente na porção central, enquanto que os receptores 5-HT<sub>2</sub> e 5-HT<sub>3</sub> estão predominantemente localizados na porção basolateral desta estrutura (Rainnie, 1999).

Investigando algumas das principais drogas de ação serotoninérgica que supostamente alteram estados de ansiedade, Setem e cols. (1999) testaram os efeitos injeções intraperitoniais de agonistas e antagonistas dos receptores 5-HT<sub>1A</sub>, 5-HT<sub>2</sub> e 5-HT<sub>3</sub> em um protocolo de medidas de ansiedade padronizado por Cruz e cols. (1994) para ratos expostos a um dos modelos animais de ansiedade mais utilizados nos últimos anos – o labirinto em cruz elevado. Os resultados mostraram uma enorme sensibilidade do modelo

na detecção de efeitos ansiolíticos e ansiogênicos de compostos serotoninérgicos, especialmente aqueles atuando nos receptores 5-HT<sub>2</sub>. Procurando dar seqüência a estes estudos, porém investigando agora um possível sítio cerebral responsável pelo efeito ansiolítico de uma droga seletiva dos receptores 5-HT<sub>2</sub>, o presente trabalho testou os efeitos de injeções intra-amigdalóides do antagonista 5HT<sub>2A/2C</sub>, o RP 62203. Para tanto, foram utilizadas as mesmas medidas de ansiedade utilizadas por Cruz e cols. e Setem e cols. para o teste de drogas ansiolíticas e ansiogênicas de ratos no labirinto em cruz elevado. A droga foi microinjetada na porção basolateral da amígdala, considerando que neste sítio predominam os receptores 5-HT<sub>2</sub> (Rainnie, 1999).

## Método

### Sujeitos

Foram utilizados ratos Wistar machos, experimentalmente ingênuos, pesando entre 200 e 280g, provenientes do Biotério Central da Universidade de Brasília. Os animais foram alojados, em grupos de cinco, em gaiolas-viveiro (45 x 28 x 13 cm) de polietileno. Todos os animais foram mantidos em um ciclo claro-escuro de 12 horas (com a fase clara de 7:00 às 19:00h), com livre acesso a comida e água. Os experimentos foram realizados na fase clara do ciclo, entre 8:00 e 13:00.

### Equipamentos

O labirinto em cruz elevado seguiu as especificações de Pellow e cols. (1985), consistindo de dois braços abertos e opostos (50 x 10 cm cada um), e outros dois braços opostos do mesmo tamanho fechados com paredes laterais de 50 cm de altura. Os braços abertos e fechados, elevados 50 cm do solo, cruzavam-se perpendicularmente formando uma cruz, delimitada por uma área central de 10 x 10 cm. Nas beiradas dos braços abertos foi fixada uma pequena borda de acrílico transparente (0.5 cm de altura) a fim de diminuir o número de quedas dos animais. O labirinto encontrava-se em cubículo com isolamento acústico parcial, iluminado por uma lâmpada vermelha (60-W), situada 150 cm acima do aparato.

As sessões experimentais foram monitoradas e gravadas através de uma vídeo-câmara montada verticalmente acima do labirinto e conectada a um aparelho de TV e a um videocassete, instalados em uma sala adjacente ao cubículo experimental. A fita com a sessão experimental de cada animal era analisada posteriormente por um observador que desconhecia o tratamento farmacológico que o animal recebera. Essa análise foi feita com o auxílio de um programa computacional de registro de categorias, desenvolvido especificamente para esta situação experimental.

### Cirurgia

Após anestésias com thionembutal (50 mg/kg), os animais foram colocados no aparelho estereotáxico, recebendo

uma injeção subcutânea de cloridrato de lidocaína na região cirúrgica. Em seguida, um pedaço oval da pele circunscrita à região cirúrgica era retirado a fim de se ter acesso à calota craniana. Após limpeza do campo e visualização dos pontos de referência no crânio, cânulas (Plastics-One, modelo C315G) foram unilateralmente implantadas (hemisfério direito) 0,5 mm acima da porção basolateral da amígdala (AP = -2,8; LM = 5,0; DV 6,3). Um período de sete dias de recuperação pós-cirúrgica foi dado aos animais, no qual os mandris que vedavam a cânula-guia eram diariamente retirados e novamente colocados a fim de evitar que secreções entupissem a cânula.

### Drogas

Utilizou-se o antagonista 5-HT<sub>2A/2C</sub> RP 62203 (Rhône-Poulenc, França). A droga foi solubilizada em uma solução contendo 10% de etanol, 40% de propileno glicol e 50% de água destilada, submetida a ultra-som por 10 minutos.

### Microinjeção

Após a retirada do mandril, uma microagulha (Plastics-One, modelo C315I) foi gentilmente conectada à cânula-guia, ultrapassando 0,5 mm esta última. A microinjeção foi feita utilizando-se um sistema composto por uma microseringa (Hamilton de 10 µl) e um tubo de polietileno transparente (PE-50), com uma extremidade conectada na microseringa e a outra conectada na microagulha. As microinjeções foram feitas em um volume de 0,5 ml, observando-se o deslocamento de uma bolha que percorria o tubo de polietileno. A fim de evitar refluxo e favorecer a absorção da droga, um período de 2 minutos foi dado antes da agulha ser retirada da cânula-guia.

### Histologia

Ao término dos testes comportamentais, os animais foram sacrificados com uma sobredose de éter etílico e perfundidos intracardialmente com salina e logo em seguida com uma solução de formol a 10%. Os cérebros foram removidos e mantidos em formol a 10% por no mínimo 7 dias. Posteriormente, os cérebros foram cortados em seções coronais de 30 µm a fim de serem avaliados os sítios de injeção de acordo com as coordenadas do atlas de Paxinos e Watson (1998).

### Procedimento

#### Exposição ao LCE

Quinze minutos após a microinjeção da droga nas doses de 1,0, 2,5, 5,0 µg, ou do veículo, cada animal foi exposto durante cinco minutos ao labirinto em cruz elevado. Neste período, foram observados o número de entradas e o tempo gasto em ambos os braços, bem como o tempo de permanência no centro do labirinto. A partir destas medidas foram

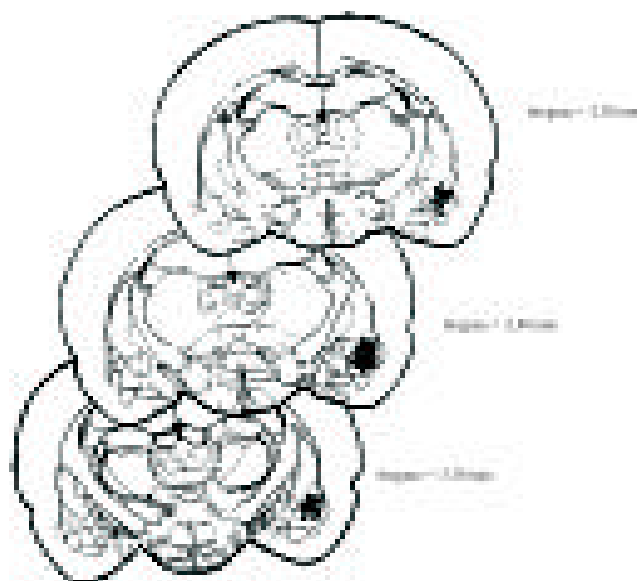
calculadas as porcentagens de entrada e de tempo gasto nos braços abertos. Além destas medidas tradicionais, foram registradas as seguintes categorias: *esquadrinhar*: colocação da cabeça sobre a beirada de um braço aberto, esquadriando em qualquer direção (incluindo a colocação da cabeça em direção ao precipício do braço aberto); *espreitar*: saída parcial de um braço fechado, espreitando com as patas dianteiras e focinho a plataforma central e as entradas dos braços; *exploração da extremidade*: número de vezes que o animal alcançava a extremidade final de um braço aberto.

### Análise estatística

Os dados foram submetidos a uma análise de variância paramétrica (*One-way* ANOVA). No caso de um efeitos significantes dos tratamentos, utilizou-se subsequentemente o teste de Newman-Keuls, com um grau de significância de  $p < 0,05$ .

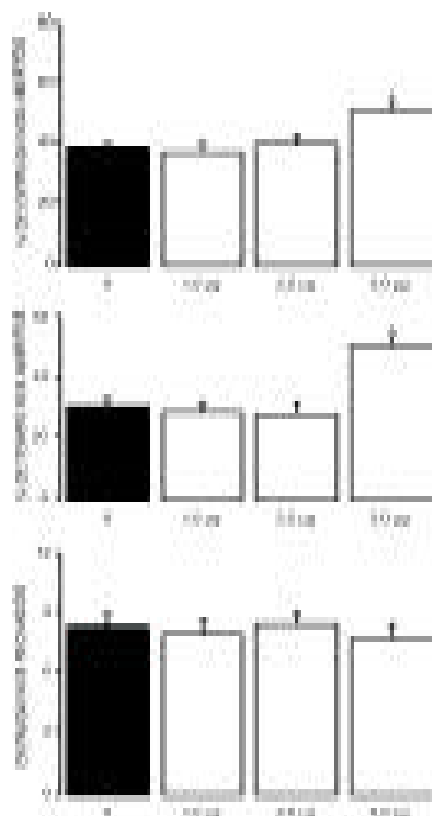
### Resultados

Conforme ilustrado na figura 1, a maior parte das microinjeções concentraram-se logo acima da porção basolateral da amígdala. Não foram incluídos para as análises estatísticas aqueles animais cuja histologia revelou outros sítios de microinjeção.



**Figura 1.** Cortes histológicas representando a localização dos sítios de microinjeção, de acordo com o Atlas de Coordenadas Estereotáxicas de Paxinos e Watson (1986). Círculos escuros ilustram os animais que foram incluídos nesse estudo, em coordenadas posteriores ao bregma.

A figura 2 ilustra o efeito da microinjeção do RP 62203, na amígdala, sobre as medidas tradicionais de exploração dos ratos no labirinto em cruz elevado. ANOVA indicou efeito significativo da droga nas porcentagens de entrada [ $F(3, 35) = 3,47, p < 0,05$ ] e de tempo gasto [ $F(3, 35) = 7,01, p < 0,05$ ] nos braços abertos. Comparações *post hoc* mostraram que a



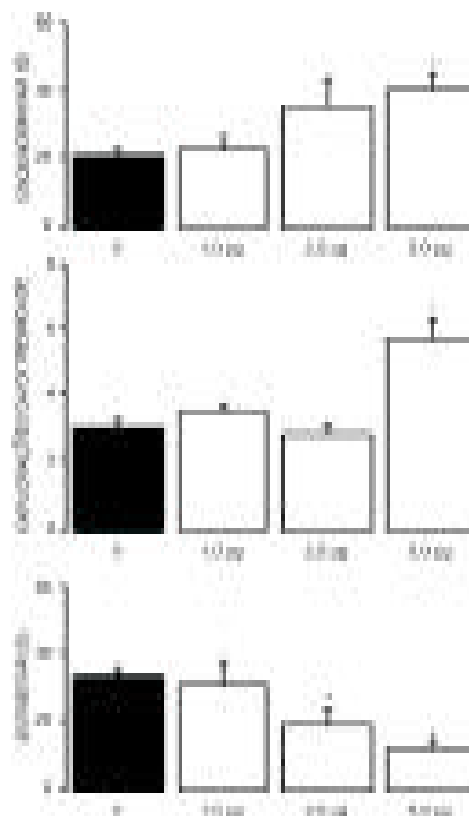
**Figura 2.** Efeitos de injeções intra-amigdalóides do RP 62203 nas porcentagens de entrada (topo) e de tempo (centro) nos braços abertos, bem como no número de entradas nos braços fechados (abaixo) do labirinto em cruz elevado. Barras representam a média ( $n = 8-12$ ) e as linhas verticais o erro padrão da média. Asterisco indica diferença estatisticamente significativa (Newman-Keuls: doses x veículo-controle) ao nível de  $p < 0.05$ .

dose mais alta aumentou significativamente as porcentagens de entrada e de tempo em relação ao grupo microinjetado com o veículo ( $ps < 0,05$ ). O número de entradas nos braços fechados não foi alterado pelo tratamento [ $F(3, 35) = 0,28, p > 0,05$ ].

O efeito da microinjeção do RP 62203 sobre as categorias etológicas de exploração é ilustrado na figura 3. ANOVA indicou efeito significativo do tratamento nas categorias esquadrinhar [ $F(3, 35) = 6,05, p < 0,05$ ], exploração da extremidade [ $F(3, 35) = 2,98, p < 0,05$ ] e espreitar [ $F(3, 35) = 4,73, p < 0,05$ ]. As doses de 2,5 e 5,0  $\mu\text{g}$  aumentaram significativamente o tempo gasto na categoria esquadrinhar ( $ps < 0,05$ ), enquanto diminuíram o tempo gasto na categoria espreitar ( $ps < 0,05$ ). A dose mais alta aumentou também o número de explorações da extremidade dos braços abertos do labirinto ( $p < 0,05$ ).

### Discussão

Os aumentos observados nas porcentagens de entrada e de tempo gasto nos braços abertos indicam efeito ansiolítico do RP 62203 microinjetado na porção basolateral da amígdala. O fato de a droga não ter alterado significativamente o



**Figura 3.** Efeitos de injeções intra-amigdalóides do RP 62203 sobre as medidas etológicas esquadrinhar (topo), número de explorações da extremidade (centro) e espreitar (abaixo). Demais informações na legenda da figura 2.

número de entradas nos braços fechados sugere que este efeito ocorreu na ausência de alterações na atividade locomotora.

Conforme previsto, as categorias etológicas não apenas reproduziram o efeito ansiolítico do RP 62203, mas foram mais sensíveis nesta detecção. Assim, as doses mais altas da droga aumentaram o tempo gasto na categoria esquadrinhar e reduziram o tempo gasto na categoria espreitar. Além disso, a dose mais alta aumentou o número de explorações da extremidade dos braços abertos. Em conjunto, esses resultados apontam para um perfil típico de atividade ansiolítica deste antagonista 5-HT<sub>2</sub>.

Efeitos ansiolíticos de injeções sistêmicas do RP 62203 têm sido descritos em alguns modelos animais, incluindo no labirinto em cruz elevado (Stutzmann & cols., 1991). Setem e cols. (1999) mostraram que injeções intraperitoniais de RP 62203 (0,25 mg/kg) aumentaram o número de explorações da extremidade dos braços abertos do labirinto em cruz elevado. Outros antagonistas 5-HT<sub>2</sub>, incluindo a ritanserina (Almeida & cols., 1991; Wright, Heaton, Upton & Marsden, 1992), seganserina (Critchley & Handley, 1987), ketanserina (Critchley & Handley, 1987; Motta & cols., 1992) e mianserina (Benjamin, Saiff, Nevins & Lal, 1992; Rocha & cols., 1994) também apresentam perfil ansiolítico neste teste. Tais efeitos, contudo, têm sido mais frequentemente observados após tratamentos crônicos com estes compostos.

O papel da amígdala nos efeitos de drogas ansiolíticas e ansiogênicas agindo nos receptores 5-HT<sub>2</sub>, porém, não foi ainda claramente estabelecido. Por exemplo, ao contrário de nosso estudo no qual utilizamos um antagonista 5-HT<sub>2</sub>, efeitos ansiolíticos têm sido observados com injeções intra-amigdalóides de agonistas 5-HT<sub>2</sub> nos testes de interação social (Duxon, Kennett, Lightowler, Blackburn & Fone, 1997), conflito (Hodges & cols., 1987), bem como no labirinto em cruz elevado (Duxon, Beckett, Baxter, Blackburn & Fone, 1995). Além disso, Zangrossi e Graeff (1994) demonstraram efeitos ansiogênicos com injeções intra-amigdalóides de ritanserina (outro antagonista 5-HT<sub>2</sub>) em ratos expostos ao labirinto em cruz elevado.

Sobre os efeitos ansiolíticos descritos por Duxon e cols. (1995, 1997), dois aspectos merecem ser discutidos. O agonista 5-HT<sub>2</sub> BW723C86 utilizado por estes autores possui maior afinidade pelo subtipo 5-HT<sub>2B</sub>, ao contrário do antagonista 5-HT<sub>2</sub> RP 62203, utilizado no presente estudo, que possui maior afinidade pelos subtipos 5-HT<sub>2A/2C</sub>. Além disso, tais autores injetaram a droga na porção medial da amígdala, enquanto no presente estudo a droga foi injetada na porção basolateral desta estrutura. A possibilidade de porções distintas da amígdala, como seus respectivos tipos e subtipos de receptores serotoninérgicos, terem participado de maneira distinta nos efeitos observados deve, portanto, ser considerada.

O fato do RP 62203 ser um antagonista da neurotransmissão mediada pela 5-HT corrobora a hipótese serotoninérgica clássica da ansiedade (Stein & cols., 1973; para revisões ver também Handley & McBlane, 1993; McCreary & cols., 1996). De fato, diversos trabalhos, incluindo modelos animais e estudos com humanos, vêm mostrando que antagonistas serotoninérgicos usualmente apresentam propriedades ansiolíticas (Costall & cols., 1989; Critchley & Handley, 1987; Griebel, 1996; Kennett, Bailey, Piper & Blackburn, 1995; Motta & cols., 1992), enquanto que a própria 5-HT e alguns agonistas serotoninérgicos, tais como TFMPP, agonista 5-HT<sub>2</sub>, apresentam efeitos ansiogênicos (Setem & cols., 1999). Neste sentido, poderíamos supor, com base em nossos resultados, que a exposição dos ratos ao labirinto em cruz elevado ativaría o sistema serotoninérgico, provavelmente aquele proveniente do núcleo dorsal da rafe em direção a amígdala, aumentando o estado de ansiedade. No grupo microinjetado com a droga, o bloqueio promovido pelo RP 62203 nos receptores pós-sinápticos do tipo 5-HT<sub>2A/2C</sub> da amígdala bloquearia esse efeito ansiogênico.

De qualquer forma, merece destaque a observação de que, dependendo do sítio cerebral, a 5-HT pode desempenhar perfil ansiolítico. Assim, tem sido mostrado que na matéria cinzenta periaquedutal, ao contrário do que ocorre na amígdala, a 5-HT exerce efeito ansiolítico (Deakin & Graeff, 1991). A ativação de mecanismos serotoninérgicos no colículo inferior também está associada a efeitos ansiolíticos. Por exemplo, Mello e Brandão (1995) mostraram que a microinjeção de  $\mu$ -metil-5-hidroxitriptamina (um agonista 5-HT<sub>2</sub> altamente seletivo) no colículo inferior apre-

senta efeitos ansiolíticos em ratos testados no labirinto em cruz elevado.

Finalmente, outro fator relevante é que os efeitos ansiolíticos de drogas serotoninérgicas mostram-se mais variáveis do que aqueles obtidos com drogas atuando no complexo de receptores GABA-benzodiazepínicos (Cruz & cols., 1997; Griebel, 1995, 1996; Handley & McBlane, 1993). O fato de as medidas tradicionais de exploração no labirinto (número de entradas e tempo de permanência nos braços abertos e fechados) serem especialmente sensíveis a tais variações deve ser explorado, sobretudo no que diz respeito a diferenças metodológicas como iluminação, condições de alojamento e manuseio dos animais, a presença ou não de bordas nos braços abertos, experiência prévia do rato com o labirinto, entre outros fatores que podem interferir na taxa de exploração de ratos neste teste (Jonhston & File, 1991; Andrews & File, 1993; File, 1993; File, Trullas & Skolnick, 1993; Bertoglio & Carobrez, 2000; Cruz & cols., 1997; Gonzalez, File & Overstreet, 1998; Griebel, 1995; Griebel, Belzung, Perrault & Sanger, 2000; Hoog, 1996; Morato & Brandão, 1996, 1997; Rodgers & cols., 1997; Schmitt & Hiemke, 1998; Treit, Menard & Royan, 1993). A análise conjunta de medidas tradicionais e etológicas no labirinto em cruz elevado, a exemplo das que foram aqui utilizadas, pode oferecer uma alternativa para tornar os estudos envolvendo manipulações serotoninérgicas neste teste mais consistentes.

## Referências

- Almeida, S.S., de Oliveira, L.M. & Graeff, F.G. (1991). Early life protein malnutrition changes exploration of the elevated plus-maze and reactivity to anxiolytics. *Psychopharmacology*, 103: 513-518.
- Andrews, N. & File, S.E. (1993). Handling history of rats modifies behavioural effects of drugs in the elevated plus-maze test of anxiety. *European Journal of Pharmacology*, 235: 109-112.
- Barnes, N.M. & Sharp, T. (1999). A review of central 5-HT receptors and their function. *Neuropharmacology*, 38: 1083-1152.
- Benjamin, D., Saiff, E.I., Nevins, T. & Lal, H. (1992). Mianserin-induced 5-HT<sub>2</sub> receptors downregulation results in anxiolytic effects in the plus-maze test. *Drug development Research*, 26: 287-297.
- Bertoglio, L.J. & Carobrez, A.P. (2000). Previous maze experience required to increase open arms avoidance in rats submitted to the elevated plus-maze model of anxiety. *Behavioural Brain research*, 108: 197-203.
- Bourin, M. (1997). Animals models of anxiety: are they suitable for predicting drug action in humans? *Polish Journal of Pharmacology*, 49: 79-84.
- Costall, B., Kelly, M.E., Naylor, R.J., Onaivi, E.S. & Tyers, M.B. (1989). Neuroanatomical sites of action of 5-HT<sub>3</sub> receptor agonists and antagonists for alteration of aversive behaviour in the mouse. *British Journal of Pharmacology*, 96: 325-332.
- Critchley, M.A.E. & Handley, S.L. (1987). Effects in the x-maze anxiety model of agents acting at 5-HT<sub>1</sub> and 5-HT<sub>2</sub> receptors. *Psychopharmacology*, 93: 502-506.

- Cruz, A.P.M. & Landeira-Fernandez, J (2001). A ciência do medo e da dor. *Ciência Hoje*, 29 (174): 16-23.
- Cruz, A. P.M., Frei, F & Graeff, F.G. (1994). Ethopharmacological analysis of the rat behavior on the elevated plus-maze. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 49: 171-179.
- Cruz, A. P.M., Zangrossi, H. & Graeff, F.G. (1995). Psicobiologia da ansiedade. Em: Rangé, B.P. (org) *Psicoterapia comportamental e cognitiva: pesquisa, prática, aplicações e problemas*. Campinas: Editorial Psy, pag 301-312.
- Cruz, A.P.M., Zangrossi, H., Graeff, F.G. & Landeira-Fernandez, J. (1997). Modelos animais de ansiedade: implicações para a seleção de drogas ansiolíticas. *Psicologia: Teoria e Pesquisa*, 13 (3): 269-278.
- Davis, M. (1986). Pharmacological and anatomical analysis of fear conditioning using the fear-potentiated startle paradigm. *Behavioral Neuroscience*, 100: 814-824.
- Davis, M. (1998). Anatomic and physiologic substrates of emotion in a animal model. *Journal of Clinical Neurophysiology*, 15(5): 378-387.
- Deakin, J.F.W. & Graeff, F.G. (1991). 5-HT and mechanisms of defense. *Journal of Psychopharmacology*, 5(4): 305-315.
- Doron, N.N. & LeDoux, J. (1999). Organization of projections to the lateral amygdala from auditory and visual areas of the thalamus in the rat. *Journal of Comparative Neurology*, 412: 383-409.
- Duxon, M.S., Beckett, G., Baxter, G.S., Blackburn, T.P. & Fone, K.C. (1995). Intra-amygdala injection of the 5-HT<sub>2B</sub> receptor agonist BW 723C86 produces anxiolysis on the elevated plus-maze in the rat. *British Journal of Pharmacology*, 116: 331P.
- Duxon, M.S., Kennett, G.A, Lightowler, S., Blackburn, T.P. & Fone, K.C. (1997). Activation of 5-HT<sub>2B</sub> receptors in the medial amygdala causes anxiolysis in the social interaction test in the rat. *Neuropharmacology*, 36: 601-608.
- File, S.E. (1993). The interplay of learning and anxiety in the elevated plus-maze. *Behavioural Brain Research*, 58: 199-202.
- File, S., Gonzalez, L.E. & Gallant, R. (1998). Role of the basolateral nucleus of the amygdala in the formation of a phobia. *Neuropsychopharmacology*, 19 (5): 397-405.
- Gallagher, M & Chiba, A. (1996). The amygdala and emotion. *Current Opinion in Neurobiology*, 6: 221-227.
- Gonzalez, L.E., Andrews, N. & File, S.E. (1996). 5-HT<sub>1A</sub> and benzodiazepine receptors in the basolateral modulate anxiety in the social interaction test, but not in the elevated plus-maze test. *Brain Research*, 732: 145-153.
- Gonzalez, L.E., File, S.E. & Overstreet, D.H. (1998). Selectively bred lines of rats differ in social interaction and hippocampal 5-HT<sub>1A</sub> receptor function: a link between anxiety and depression?. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 59: 787-792.
- Graeff, F.G. (1994). Role of 5-HT in defensive behaviour and anxiety. *Journal of Neuroscience*, 4: 181-211.
- Graeff, F.G., Guimarães, F.S., de Andrade, T.G. & Deakin, J. F. (1996). Role of 5-HT in stress, anxiety and depression. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 54 (1): 129-141.
- Graeff, F.G., Silveira, M.C.L., Nogueira, R.L., Audi, E.A. & Oliveira, R.M.W. (1993). Role of the amygdala and periaqueductal gray in anxiety and panic. *Behavioral Brain Research*, 58: 123-131.
- Graeff, F.G. & Shoenfeld, R.I. (1970). Tryptamine mechanisms in punished and non punished behavior. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutic*, 173: 277-283.
- Griebel, G. (1995). 5-Hydroxytryptamine-interacting drugs in animal models of anxiety disorders: more than 30 years of research. *Psychopharmacology Therapeutics*, 65 (3): 319-395.
- Griebel, G. (1996). Variability in the effects of 5-HT-related compounds in experimental models of anxiety: evidence for multiple mechanisms of 5-HT in anxiety or never ending story?. *Polish Journal of Pharmacology*, 48: 129-136.
- Griebel, G., Belzung, C., Perrault, G & Sanger, D. J. (2000). Differences in anxiety-related behaviours and in sensitivity to diazepam in inbred and outbred strains of mice. *Psychopharmacology*, 148: 164-170.
- Handley, S. & McBlane, J.W. (1993). 5-HT drugs in animal models of anxiety. *Psychopharmacology*, 112: 13-20.
- Hodges, H., Green, S. & Glenn, B. (1987). Evidence that the amygdala is involved in benzodiazepine and serotonergic effects on punished responding but not on discrimination. *Psychopharmacology*, 92: 491-504.
- Hoog, S. (1996). A review of the variability of the elevated plus-maze as an animal model of anxiety. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 54 (1): 21-30.
- Hoyer, D. & Martin, G. (1997). 5-HT receptor classification and nomenclature towards a harmonization with the human genome. *Neuropharmacology*, 36 (4-5): 419-428.
- Kennet, G.A., Bailey, F. , Piper, D.C. & Blackburn, T.C. (1995). Effect of SB 200646A, a 5-HT<sub>2C/5-HT<sub>2B</sub></sub> receptor antagonist, in two conflict models of anxiety. *Psychopharmacology*, 118: 178-182.
- LeDoux, J.E. (1998). Fear and the brain: Where have we been, and where are we going? *Biological Psychiatry*, 44 (12): 1229-1238.
- McCreary, A.C., McBlane, J.W., Spooner, H.A & Handley, S.L. (1996). 5-HT systems and anxiety: multiple mechanisms in the elevated x-maze. *Polish Journal of Pharmacology*, 48: 1-12.
- McNair, D.M., Frankenthaler, I.M., Czerlinsky, T., Whiten, T.W., Sasson, S. & Fisher, S. (1982). Simulated public speaking as a model of clinical anxiety. *Psychopharmacology*, 77: 7-10.
- Melo, L. L. & Brandão, M. L. (1995). Involvement of 5-HT<sub>1A</sub> and 5-HT<sub>2</sub> receptors of the inferior colliculus in aversive states induced by exposure of rats to the elevated plus-maze test. *Behavioural Pharmacology*, 6: 413-417.
- Menard, J & Treit, D. (1999). Effects of centrally administered anxiolytic compounds in animal models of anxiety. *Neuroscience Biobehavioral Reviews*, 23: 591-613.
- Morato, S. & Brandão, M.L. (1996). Transporting rats to the test situation on a cart can modify rat exploratory behavior in the elevated plus-maze. *Psychobiology*, 24: 247-252.
- Morato, S. & Brandão, M.L. (1997). Paradoxical increase of exploratory behavior in the elevated plus-maze by rats exposed to two kinds of aversive stimuli. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 30: 1113-1120.
- Motta, V., Maisonnette, S., Morato, S., Castrechini, P. & Brandão, M.L. (1992). Effects of 5-HT<sub>2</sub> receptors and activation of 5-HT<sub>1A</sub> receptors on the exploratory of rats in the elevated plus-maze. *Psychopharmacology*, 107: 135-139.

- Ninan, P.T., Cole, J.O. & Yonkers, K.A. (1998). Nonbenzodiazepine anxiolytics. In: A. F. Schatzberg & C.B. Nemeroff (orgs.) "Psychopharmacology". Washington: American Psychiatry Press, pp 287-300.
- Paxinos, G. & Watson, C. (1986). *The rat brain in stereotaxic coordinates 2ª ed.* New York: Academic Press.
- Pellow, S., Chopin, P., File, S.E. & Briley, M. (1985). Validation of open: closed arm entries in the elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 24: 525-529.
- Pesold, C. & Treit, D. (1995). The central and basolateral amygdala differentially mediate the anxiolytic effects of benzodiazepines. *Brain Research*, 671: 213-221.
- Rainnie, D.G. (1999). Serotonergic modulation of neurotransmission in the rat basolateral amygdala. *Journal of neurophysiology*, 82: 69-85.
- Rocha, B., Rigo, M., Di Scala, G., Sandner, G & Hoyer, D. (1994). Chronic mianserin or eltopazine treatment in rats: effects on the elevated plus-maze test and on limbic 5-HT<sub>2C</sub> receptor levels. *European Journal of Pharmacology*, 262: 125-131.
- Rodgers, R.J., Cao, B.J., Dalvi, A. & Holmes, A. (1997). Animal models of anxiety: An ethological perspective *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 30 (3): 289-304.
- Schmitt, U. & Hiemke, C. (1998). Strain differences in open-field and elevated plus-maze behavior of rats without and with pre-test handling. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 59: 807-811.
- Setem, J., Pinheiro, A.P., Motta, V.A., Morato, S. & Cruz, A.P.M. (1999). Ethopharmacological analysis of 5-HT ligands on the rat elevated plus-maze. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 62 (3): 515-521.
- Stein, L., Wise, C. D. & Berger, B. D. (1973). Antianxiety actions of benzodiazepines: Decrease in activity of serotonin neurones in the punishment systems. In: S. Gratini, E. Mussini & L.O. Randell (eds) *Benzodiazepines*. New York: Raven Press, pp 299-326.
- Stutzman, J.M., Eon, B., Darche, F., Lucas, M, Rataud, J., Piot, A, Blanchard, J.C. & Laduron, P.M. (1991). Are 5-HT<sub>2</sub> antagonists endowed with anxiolytic properties in rodents?. *Neuroscience Letters*, 128: 4-8.
- Treit, D., Menard, J & Royan, C. (1993). Anxiogenic stimuli in the elevated plus-maze. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 44: 463-469.
- Wright, I.K., Heaton, M., Upton, N. & Marsden, C. A. (1992). Comparison of acute and chronic treatment of various serotonergic agents with those of diazepam and idoxoxam in the rat elevated X-maze. *Psychopharmacology*, 107: 405-414.
- Zangrossi, H & Graeff, F.G. (1994). Behavioral 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.
- Zifa, E. & Fillion, G. (1992). 5-Hydroxytryptamine receptors. *Pharmacological Reviews*, 44: 401-458.

Recebido em 17/06/2002  
Primeira decisão editorial em 12/09/2002  
Aceito em 03/10/2002 ■