



Universidade de Brasília

Instituto de Psicologia

Departamento de Processos Psicológicos Básicos

Programa de Pós-Graduação em Ciências do Comportamento

**EFEITOS ANSIOGÊNICOS E ANTIDEPRESSIVOS DA ATIVAÇÃO
FARMACOLÓGICA AGUDA DE RECEPTORES 5-HT_{2C} EM MODELOS ANIMAIS
DE ANSIEDADE E DEPRESSÃO**

Flávia Martins da Silva

Brasília

2009



Universidade de Brasília

Instituto de Psicologia

Departamento de Processos Psicológicos Básicos

Programa de Pós-Graduação em Ciências do Comportamento

**EFEITOS ANSIOGÊNICOS E ANTIDEPRESSIVOS DA ATIVAÇÃO
FARMACOLÓGICA AGUDA DE RECEPTORES 5-HT_{2C} EM MODELOS ANIMAIS
DE ANSIEDADE E DEPRESSÃO**

Flávia Martins da Silva

Brasília, setembro de 2009

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA

INSTITUTO DE PSICOLOGIA



DEPARTAMENTO DE PROCESSOS PSICOLÓGICOS BÁSICOS

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DO COMPORTAMENTO

**EFEITOS ANSIOGÊNICOS E ANTIDEPRESSIVOS DA ATIVAÇÃO
FARMACOLÓGICA AGUDA DE RECEPTORES 5-HT_{2C} EM MODELOS ANIMAIS
DE ANSIEDADE E DEPRESSÃO**

FLÁVIA MARTINS DA SILVA

Orientador: Prof. Dr. Antonio Pedro de Mello Cruz

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências do Comportamento do Departamento de Processos Psicológicos Básicos do Instituto de Psicologia, Universidade de Brasília, como requisito parcial à obtenção do Título de Mestre em Ciências do Comportamento – Área de Concentração: Cognição e Neurociências do Comportamento.

Brasília, setembro de 2009.

Índice

Banca examinadora	iii
Dedicatória	iv
Agradecimentos	v
Índice de Figuras	vii
Índice de Abreviaturas	viii
Resumo	ix
Abstract	x
Introdução.....	11
Objetivo	20
Método	21
Resultados	24
Discussão	29
Referências	36

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
INSTITUTO DE PSICOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO
CIÊNCIAS DO COMPORTAMENTO

BANCA EXAMINADORA

Professor Dr. Antonio Pedro Mello Cruz - Presidente

Departamento de Processos Psicológicos Básicos

Universidade de Brasília

Professor Dr. Jesus Landeira Fernandez – Membro externo

Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro

Professor Dr. Sérgio Henrique Alves - Membro externo

Centro Universitário de Brasília - UniCEUB.

Professora Dra. Wânia Cristina de Souza – Suplente

Departamento de Processos Psicológicos Básicos

Universidade de Brasília.

*Dedico esta dissertação de mestrado à Deus,
à minha família, e aos meus amigos...
Vocês me deram força e motivação para
continuar a minha trajetória acadêmica nos
momentos mais difíceis e me impulsionaram
a buscar vida nova a cada dia!*

Agradecimentos

Agradeço primeiramente a DEUS pelo dom da vida, do amor, dos estudos e do privilégio em poder aprofundar meus conhecimentos na profissão por mim escolhida.

Agradeço ao meu orientador, Dr. ANTONIO PEDRO MELLO CRUZ, pela dedicação, confiança, simpatia, compreensão e incentivos oferecidos ao longo da orientação deste trabalho, enriquecendo, assim, a minha vida profissional.

Aos meus amados pais, HUMBERTO e MARTA, as chamas de luz incessantes de minha vida, que iluminam meu caminho rumo à sabedoria de vida.

Às minhas amadas irmãs, JULIANA e ANELISE, pelas quais nutro profunda admiração e que sempre me incentivaram e apoiaram em minhas decisões.

Agradeço aos queridos amigos e colaboradores da minha pesquisa: MARÍLIA CARVALHO, GRAZIELLA FURTADO, SERGIO HENRIQUE ALVES E KALLIU COUTO... Vocês foram fundamentais para que a coleta de dados fosse um sucesso!!

Aos queridos amigos com os quais estreitei meus laços de amor e amizade e que foram grandes colaboradores de vida, sabedoria, compreensão, fraternidade e incentivo: MARÍLIA, KÁTIA, ALEXANDRE, BRUNO, WÂNIA, GRAZIELLA, ANNA VITÓRIA, VIVIANE, FLÁVIA, BÁRBARA, ANA MARIA E RÚBIA.

Aos queridos colegas de doutorado e mestrado pela solidariedade e amizade ao longo dessa jornada: MARCELO, ROBERTA, LUCIANA, MAGNA, ISABELLE e CARLA.

Aos funcionários do Laboratório Dona NEUSA, ADEMAR e SALETE que ajudaram no funcionamento do laboratório e à querida JOYCE, que sempre foi carinhosa e um braço direito para resolver as questões burocráticas!

A CAPES pelo apoio financeiro sob a forma de bolsa.

Ao SAID BECKHAM, por sua companhia e amor incondicional. Sua presença em minha vida me fez valorizar ainda mais os animais não humanos!

Aos meus ANIMAIS de laboratório, aos quais tratei com muito respeito e carinho e que foram fundamentais para a realização desta pesquisa. Obrigada!

Índice de Figuras

Figura 1: Efeitos da injeção do WAY-161503 sobre as porcentagens de entradas nos braços abertos, avaliação de risco e número absoluto de entradas nos braços fechados.....	27
Figura 2: Efeitos da injeção do WAY-161503 sobre a latência para a primeira imobilidade na sessão de teste no TNF.....	28

Índice de Abreviaturas

5-HT: 5-hidroxitriptamina (serotonina)

5-HIAA: ácido 5-hidroxindolacético

AT: antidepressivos tricíclicos

DOI: [1-(2,5-dimethoxy-4-idophenny1)-2aminopropaene]

LCE: labirinto em cruz elevado

i.p: intraperitoneal

MAO: enzima monoaminaoxidase

MCP: matéria cinzenta periaqueductal

m-CPP: [1-(3-chlorophenyl)piperazina] - agonista 5-HT₂

NDR: núcleo dorsal da rafe

NMR: núcleo mediano da rafe

TFMPP: [trifluoro-(methyl)phenyl]piperazina] – agonista 5-HT₂

TNF: Teste do Nado Forçado

RO – 60175 [s0-2-96-chloro-5fluoroindol-1-yl)-1-methylethylamnina] - agonista 5-HT₂

R-96544: (2R,4R)-5[2-[2-93-methoxyphenyl]ethyl]-1-methyl-3-pyrrolidínol) – antagonista 5-HT₂

ISRSs: inibidores seletivos da recaptação de serotonina

ISRNs: inibidores seletivos da recaptação de noradrenalina

WAY-161503: hydrochloride (8,9-Dichloro-2,3,4,4a-tetrahydro-1H-pyrazino[1,2-a]quin oxalin-5(6H)-one hidroclorido)

Resumo

O papel da serotonina (5-hidroxitriptamina - 5-HT) na modulação de estados de ansiedade e depressão tem sido amplamente investigado. O presente estudo avaliou os efeitos comportamentais no labirinto em cruz elevado (LCE) e no teste do nado forçado (TNF) induzidos pelo agonista seletivo de receptores 5-HT_{2C} WAY-161503. Quinze minutos após injeções (1,0 ml/kg) intraperitoneais (i.p.) de WAY-161503 (1,0, 3,0 e 10,0 mg/kg) ou salina, ratos Wistar machos e experimentalmente ingênuos foram expostos por 5 minutos ao LCE. A porcentagem de entradas nos braços abertos e o tempo gasto em padrões de avaliação de risco foram registrados como medidas de ansiedade. O número absoluto de entradas nos braços fechados foi utilizado como índice de atividade locomotora. Imediatamente após a exposição ao LCE, cada animal foi exposto ao TNF por 15 minutos registrando-se a latência da primeira imobilidade (sessão de treino). Vinte e quatro horas após, cada animal foi submetido à mesma seqüência de exposição LCE-TNF (sessão de teste para o TNF) sob o efeito de uma segunda administração de salina ou WAY-161503 nas mesmas doses correspondentes. Uma latência reduzida para a primeira imobilidade na sessão de teste em comparação a latência para esta mesma medida na sessão de treino foi utilizada como parâmetro de comportamento depressivo no TNF. A droga reduziu de maneira dose-dependente a exploração nos braços abertos e aumentou o tempo gasto em avaliação de risco no LCE. Esse efeito ansiogênico foi observado na primeira exposição ao LCE, mas não na segunda. No TNF, a droga aumentou de maneira dose-dependente a latência para a primeira imobilidade na sessão de teste quando comparada aos animais tratados com salina, um perfil comportamental sugestivo de atividade antidepressiva. Esses resultados apontam para um importante papel dos receptores 5-HT_{2C} na modulação de comportamentos relacionados à ansiedade e depressão desencadeados por esses dois modelos animais.

Palavras-chave: ansiedade, depressão, agonista 5-HT_{2C}, WAY-161503, modelos animais.

Abstract

The role of serotonin (5-hydroxytryptamine – 5HT) in modulating anxiety and depression states has been widely investigated. The present study evaluated the behavioral effects in the elevated plus-maze (EPM) and forced swim test (FST) induced by the selective 5-HT_{2C} receptor agonist WAY-161503. Fifteen minutes after intraperitoneal (i.p.) injections (1.0 ml/kg) of either WAY-161503 (1.0, 3.0 and 10.0 mg/kg) or saline, experimentally naive male Wistar rats were exposed for 5 minutes to the EPM. The percentage of open-arm entries and the time spent in risk assessment patterns were registered as anxiety-like measures. The absolute number of closed arm entries was used as locomotor activity index. Immediately after EPM exposure, each animal was exposed to the FST for 15 minutes were registered the first immobility (trial session). Twenty-four hours later, each animal was re-exposed to the same exposure sequence (test session for FST) under the effect of a second administration of saline or WAY-161503 at the same correspondent doses. A reduced latency to the first immobility in the FST test session in comparison to this same measure during the trial session was used as a behavioral parameter of depression in the FST. The drug dose-dependently reduced open-arm exploration and increased risk-assessment in the EPM. This anxiogenic-like effect was observed in the first but not second EPM exposure. In the FST, the drug dose-dependently increased the latency to the first immobility in the test session as compared to saline-treated animals, a behavioral profile consistent with antidepressant-like action. These results point to an important role of 5-HT_{2C} receptors in modulating anxiety and depression-related triggered by these two animal models.

Keywords: anxiety, depression, 5-HT_{2C} agonist, WAY-161503, animal models.

A neuroquímica da depressão e da ansiedade tem sido amplamente investigada. Dentre os diversos neurotransmissores envolvidos nestes estados emocionais a serotonina (5-hidroxitriptamina – 5-HT) tem recebido grande atenção, sobretudo pelo fato de que muitos agentes antidepressivos e ansiolíticos atuam como agonistas ou antagonistas neste neurotransmissor.

A 5-HT é sintetizada a partir do aminoácido L-Triptofano. Sua degradação é feita pela enzima monoaminaoxidase (MAO) que a transforma no metabólito ácido 5-hidroxiindolacético – 5-HIAA (para revisões ver Griebel, 1995; Sanders-Bush & Mayer, 1996; Graeff, 2002).

A principal origem da via serotoninérgica no cérebro está no núcleo da rafe, especialmente no núcleo dorsal da rafe (NDR) e no núcleo mediano da rafe (NMR). Este núcleo localiza-se no tronco cerebral, na região mesencefálica, e sua formação dá-se por um denso aglomerado de corpos celulares (Graeff & Hetem, 2004). Deste núcleo partem projeções de fibras nervosas para outras estruturas mesencefálicas – matéria cinzenta periaquedutal (MCP) e substância negra – as quais atingem diversas áreas cerebrais prosencefálicas, especialmente o hipocampo, o septo, a amígdala, o hipotálamo e o córtex pré-frontal (para revisão ver Azmitia and Segal, 1978; Moore, Halaris & Jones, 1978; Kahn, van Praag, Wetzler, Asnis & Barr, 1988; LeDoux, Iwata, Cicchetti & Reis, 1988; Davis, 2002; Graeff & Hetem, 2004).

A 5-HT foi descrita pela primeira vez como enteramina. Esta substância foi isolada em 1930 por Ersparmer e colaboradores a partir do intestino e relacionada à contração uterina (Hannon & Hoyer, 2008). 5-HT foi redescoberta no ano 1940 em plaquetas sanguíneas e foi denominada, então, como serotonina, baseada em suas características vasoconstritoras, embora ela também relaxasse os vasos sanguíneos (Glennon, Dukat & Westkaemper, 2000; Hannon & Hoyer, 2008). Ainda na mesma década, foi identificada no cérebro o que

aumentou os indícios de que este neurotransmissor poderia participar dos mecanismos de neurotransmissão no sistema nervoso central de animais (Twarog & Page, 1953; Glennon et al., 2000). Rapport (1948) purificou, cristalizou e caracterizou esta substância em grandes amostras de sangue, verificando que a enteramina e a serotonina convergiam do mesmo substrato, conhecido como 5-Hidroxitriptamina. Assumiu-se, dessa forma, que elas eram a mesma substância. No final da década de 1950 algumas evidências apontaram para a existência de um sistema bastante heterogêneo de receptores serotoninérgicos e, em 1979, duas populações distintas desses receptores no cérebro de ratos foram identificadas, os assim denominados receptores 5-HT₁ e o 5-HT₂ (para revisão ver Kanh et al., 1988; Glennon et al., 2000).

Posteriormente, um terceiro receptor serotoninérgico, o receptor 5-HT₃, foi identificado (Peroutka, 1988; Schmidt & Peroutka, 1989; Zifa & Fillion, 1992), passando então a família a ser constituída por três receptores (5-HT₁₋₃). O receptor 5-HT₁ tinha a função de autoreceptor e os receptores 5-HT₂ e 5-HT₃ tinham a função de mediação da condução da despolarização dos neurônios no sistema nervoso central (Glennon et al., 2000). A partir da década de 1990, a implementação de técnicas de biologia molecular, análise funcional e uso de autorradioligantes e radioligantes de afinidade específica, outros receptores 5-HT foram identificados e classificados em 7 famílias, 5-HT₁₋₇, compreendendo um total de 14 subtipos de receptores 5-HT distintos estrutural e farmacologicamente, sejam eles: 5-HT_{1A}, 5-HT_{1B}, 5-HT_{1D}, 5-HT_{1E}, 5-HT_{1F}, 5-HT_{2A}, 5-HT_{2B}, 5-HT_{2C}, 5-HT₃, 5-HT₄, 5-HT_{5A}, 5-HT_{5B}, 5-HT₆ e 5-HT₇ (para revisões ver Hoyer et al., 1994; Martin et al., 1998; Barnes & Sharp, 1999; Glennon et al., 2000; Millan, 2003).

Estudos utilizando modelos animais de ansiedade após microinjeções de drogas, estimulação elétrica ou lesão cerebral (eletrolítica, neuroquímica ou cirúrgica) de sítios cerebrais específicos demonstram o envolvimento das principais estruturas cerebrais que

regulam a ansiedade, tais como núcleo mediano da rafe (Compan, Segu, Buhot & Daszuta, 1998; Cruz, Avanzi, Landeira-Fernandez & Brandão, 2002); amígdala (Pinheiro, Alves, Murce e Cruz, 2002; Overstreet, Knapp, Angel, Navarro & Breese, 2006), circuito córtex pré-frontal e amígdala (Akirav & Maroun, 2007); sistema septo-hipocampal (McNaughton & Gray, 2000), hipocampo ventral (Bannaerman, Grubb, Deacon, Yee, Feldon & Rawlins, 2002; Alves, Pinheiro, Motta, Landeira-Fernandez & Cruz, 2004); colículo inferior e superior (Pandossio, Molina & Brandão, 2000; Brandão, Troncoso, Silva & Huston, 2003) e matéria cinzenta periaquedutal dorsal (Nogueira & Graeff, 1995; Graeff, 2003, 2004). Alterar a neurotransmissão serotoninérgica através de procedimentos físicos ou químicos é um processo complexo que envolve autoreceptores pré-sinápticos, sítios de recaptação de serotonina e quatorze diferentes subtipos de receptores pós-sinápticos, os quais têm importante papel na regulação do humor e da ansiedade (Kent, Mathew & Gorman, 2002).

Entre os 14 subtipos de receptores conhecidos para a 5-HT, os receptores 5-HT_{1A}, 5-HT_{2A}, 5-HT_{2B}, 5-HT_{2C} e 5-HT₃ parecem estar mais diretamente associados à ansiedade e depressão (para revisões ver Barnes & Sharp, 1999; Millan, 2003). Dentre estes, o receptor 5-HT_{2C}, inicialmente classificado como 5-HT_{1C}, é um dos que tem recebido maior atenção nos últimos anos (Martin et al., 1998; Clemett, Punhani, Duxon, Blackburn & Fone, 2000). Em nível pós-sináptico, sua localização se dá principalmente no plexo coróide, em núcleos subtalâmicos, no hipotálamo, no hipocampo, na matéria cinzenta periaquedutal e na amígdala (Cryan & Lucki, 2000; Pinheiro et al., 2002). Não surpreende, portanto, seu potencial envolvimento em estados de ansiedade e depressão, pois a maioria destas estruturas tem sido apontada como integrantes dos principais circuitos neurais de comportamentos emocionais (Balaban & Thayer, 2001; Kim & Gorman, 2005; Millan, 2005).

De fato, alterações e disfunções na ativação central do receptor 5-HT_{2C} estão associadas não só a estados de depressão e ansiedade, mas também no comportamento

alimentar (Rosenzweig-Lipson, Coupet, Dunlop & McGonigle, 2000; Lam, Przydzial, Ridley, Yeo, Rochford, O'Rahilly & Heisler, 2008), comportamento sexual (Millan, Peglion, Lavielle & Perrin-Monneyron, 1997), esquizofrenia (Masellis et al., 1998; Antoniou, Bekris, Saranti, Stathis, Rimikis & Papadopoulou-Daifoti, 2000), transtorno obsessivo compulsivo (Bs et al., 1997), drogas de abuso (Higgins & Fletcher, 2003), epilepsia (Krishnakumar, Abraham, Paul & Paulose, 2009), regulação da temperatura corporal (Hayashi et al., 2004), bem como comportamento locomotor (Mosher, Smith & Greenshaw, 2006; Hayes, Mosher & Greenshaw, 2008).

Diversos agonistas e antagonistas 5-HT_{2C} já foram selecionados e vêm se constituindo em ferramentas farmacológicas valiosas na investigação do papel deste receptor em estados de ansiedade e depressão (Martin et al., 1995). Pequenas mudanças estruturais do agonista/antagonista podem influenciar na seletividade e afinidade do mesmo por um determinado receptor específico (Glennon et al., 2000). Dentre diversos agonistas não seletivos, preferenciais e seletivos estão TFMPP, MCPP (Kennett, Whitton, Shan & Curzon, 1989), MK212 (Walker, Kohut, Hass, Brown, Prabandham & Lefever, 2005), Org 37684 (Schreiber & De Vry, 2002), Ro 60-0175 (Martin et al., 1998; Kennett, Lightowler, Trail, Bright, & Bromidge, 2000), WAY-161503 (Cryan & Lucki, 2000; Rosenzweig-Lipson et al., 2000; Weknaker et al., 2000), YM348 (Kimura, Hatanaka, Naitou, Maeno, Shimada & Koakutsu, 2004; Hayashi et al., 2004) e WAY 163909 (Dunlop, Sabb, Mazandarani, Ahang, Kalgaonker & Shukhina, 2005).

Nos últimos 50 anos, a depressão tem sido quimicamente correlacionada com a hipótese monoaminérgica que postula que os sintomas crônicos freqüentes neste transtorno resultam principalmente de uma hipofunção de serotonina e/ou noradrenalina (e.g. Schechter et al., 2005; Krishnan & Nestler, 2008). Com isso, o tratamento da depressão geralmente é feito de forma a aumentar os níveis daquelas monoaminas seja pela prevenção de seu

metabolismo através de inibidores da monoamina oxidase (IMAOs) ou pelo bloqueio da recaptação de serotonina e/ou noradrenalina com antidepressivos tricíclicos (ADTs) e atualmente pelos inibidores seletivos da recaptação de serotonina (ISRSs) e inibidores seletivos da recaptação de noradrenalina (ISRNs), os quais se caracterizam por preferencialmente aumentar os níveis serotoninérgicos e noradrenérgicos, respectivamente (Schechter et al., 2005). O fato dos principais antidepressivos atuarem como agonistas indiretos de serotonina e/ou noradrenalina está de acordo com a previsão desta teoria.

Dessa forma, a serotonina também tem grande correlação com a depressão, apresentando um papel importante, ainda que não totalmente desvendado, neste transtorno (Borsini, 1995). A circuitaria serotoninérgica da depressão envolve estruturas cerebrais muito parecidas com as envolvidas na ansiedade (Ressler, & Mayberg, 2007), sejam elas: núcleo dorsal da rafe, núcleo medial da rafe, septo-hipocampo, amígdala, córtex cingulado, córtex pré-frontal, tálamo, além do estriado, substância negra e eixo hipotalâmico-hipófise-adrenal (Ordway, Klimek & Mann, 2002; Nestler, Barrot, DiLeone, Eisch, Gold & Monteggia, 2002, Krishnan & Nestler, 2008).

Uma série de evidências do efeito farmacológico e comportamental das drogas antidepressivas e ansiolíticas advém de laboratórios com animais, os quais utilizam modelos animais de depressão e ansiedade.

O labirinto em cruz elevado, por exemplo, é um modelo animal de ansiedade baseado em um conflito do tipo aproximação/evitação entre os braços fechados (seguros e protegidos) e os braços abertos (aversivos e não protegidos), os quais estão dispostos em uma configuração em cruz. Sob condições normais roedores passam mais tempo nos braços fechados do labirinto, pois naturalmente têm medo de lugares altos e de espaços abertos (Treit, Menard & Royan, 1993). Este teste é sensível tanto para a ação de agentes ansiolíticos quanto ansiogênicos, e é correntemente considerado como o teste de ouro no campo das

neurociências para avaliar comportamentos relacionados com a ansiedade em ratos e camundongos (Kliethermes, 2005; Roy, Chapillon, Jeljeli, Caston, & Belzung, 2009).

Montgomery, em 1955, foi um dos primeiros pesquisadores a trabalhar com este modelo relacionando o medo induzido pela novidade e comportamento exploratório. Ele foi desenvolvido por Handley e Mithani para ser um teste de estado de ansiedade em roedores no ano de 1984 e foi validado em 1985 por Pellow e colaboradores em ratos e por Lister em 1987 em camundongos (Handley & Mithani, 1984; Pellow, Chopin, File & Briley, 1985; Lister, 1990; Roy et al., 2009).

As medidas clássicas de ansiedades relacionadas a este modelo são número ou porcentagem de entradas nos braços abertos, tempo gasto nos braços abertos e número total ou entradas nos braços fechado (Pellow et al., 1985; Lister, 1987; Kliethermes, 2005). Dessas variáveis, o tempo nos braços abertos e o número de entradas nos braços abertos geralmente são considerados como sendo afetados pelas drogas que alteram a ansiedade (Lister, 1987; Cruz et al., 1994, Kliethermes, 2005) , enquanto o número de entradas total - somatório de entradas em ambos os braços - (Handley e Mithani, 1984; Pellow et al., 1985) e o número de entrada nos braços fechados é usado como medida de atividade locomotora (Cruz, Frei e Graeff, 1994; Dawson, Crawford, Collinson, Iversen, & Tricklebank, 1995; Weiss, S.M., Wadsworth, G., Fletcher, A. & Dourish, D.T., 1998; Kliethermes, 2005).

Recentemente, tem se mostrado que as medidas etofarmacológicas, como avaliação de risco, ou espreitar, são indicadores sensíveis para testar efeito de drogas agonistas e antagonistas 5-HT_{2C} no LCE (Cruz et al., 1994; Dawson et al., 1995; Griebel, Rodgers, Perrault & Sanger, 1997).

Assim, como no estudo da ansiedade os efeitos subjetivos deste estado não podem ser avaliados nos modelos animais de ansiedade (e.g., sensação de apreensão, tensão), na depressão muitos sintomas depressivos clínicos (e.g., humor depressivo, sentimento de

incapacidade e indício de potencial suicida) não podem ser facilmente medidos em testes de laboratório com animais, o que dificulta o conhecimento a respeito da sensibilidade destes testes em relação à mudança provocada no cérebro dos animais quando comparado aos humanos (Nestler et al., 2002). Alguns destes testes, em particular o teste de nado forçado (TNF), introduzido por Porsolt, Bertin e Jalfre em 1977, tem apresentado efetividade como preditores da eficácia de antidepressivos, ajudando a traçar os mecanismos neurobiológicos envolvidos na depressão (para revisão ver Borsini & Meli, 1988; Nestler et al., 2002).

Este modelo está baseado na avaliação visual do tempo de latência para imobilidade do rato num tanque preenchido com água na sessão de pré-teste e 24hs após, na sessão de teste, quando geralmente o animal diminui o tempo total de nado e aumenta o tempo de imobilidade (apenas com pequenos movimentos para manter a cabeça fora d'água) e entra no comportamento denominado desamparo aprendido (Porsolt et al., 1977). Este comportamento é eliciado pela situação inescapável que o tanque propicia e que foi aprendida na sessão de pré-teste. Drogas antidepressivas e agonistas 5-HT_{2C} aumentam o tempo de nado dos roedores neste modelo experimental (Cryan & Lucki, 2000; Hédou, Christopher, Di Iorio, Heidbreder & Feldon, 2001).

O modelo inicial proposto por Porsolt et al. (1977) sofreu alterações quanto as análises propostas para avaliar o efeito de drogas quando ratos são submetidos ao TNF (Cryan & Lucki, 2000; Ciulla et al., 2007), como, por exemplo, a quantidade de mergulhos, escaladas (tentativa de subir na lateral do balde) e latência para imobilidade (tempo decorrido entre o animal entrar em contato com o modelo na sessão teste e o início para a primeira parada do nado, ou, imobilidade).

Inicialmente, muitas pesquisas relacionavam a depressão à inibição de feedback de autoreceptores pré-sinápticos 5-HT₁, mas experimentos recentes apontam a grande complexidade envolvida no controle de neurônios 5-HT, especificamente sob a forma de

receptores pós-sinápticos (Sharp, Boothman, Raley & Quérée, 2007), dentre os quais o subtipo de receptores 5-HT_{2C} tem mostrado uma relação mais direta e tem sido um dos principais objetos de estudo envolvido neste transtorno (Pazos, Hoyer & Palacios, 1984; Jenck, Broekkamp & Van Delf, 1993; Bourin, Colombel, Redrobe, Nizard, Hascoët & Blaker, 1998; Clenet & Bourin, 2001; Millan, 2005).

O envolvimento do subtipo 5-HT_{2C} na depressão tem sido ainda aventado por resultados de estudos farmacológicos com drogas antagonistas de 5-HT_{2C} e com modelos animais, os quais sugerem que a inativação do receptor 5-HT_{2C} tem importante papel no aumento do efeito neuroquímico e comportamental dos antidepressivos (Schechter et al., 2005). Essa sugestão baseia-se principalmente na habilidade de alguns antagonistas não seletivos, preferenciais ou altamente seletivos do subtipo 5-HT_{2C} - SB 242084 e RS 102221 - potencializam os efeitos neuroquímicos de inibidores seletivos da recaptação de serotonina (ISRSs) e dessa forma, com o aumento dos níveis de serotonina, atenuam ou previnem comportamentos relacionados à depressão em modelos animais de depressão (Borsini, 1994; Clenet, & Bourin, 2001; Cremers et al., 2004).

Estudos com novos agonistas seletivos dos receptores 5-HT_{2C}, WAY 161503, (0.1-3.0mg/kg), RO 60-0175 (2-20mg/kg) e RO 60-0332 (20mg/kg) – em ratos submetidos ao testes de nado forçado, mostraram que estas drogas provocaram um decréscimo no tempo de imobilidade e um aumento do nado, os quais são padrões comportamentais sugestivos de atividade antidepressiva (Cryan & Lucki, 2000). Estes mesmos autores verificaram que o protótipo não seletivo de agonista do receptor 5-HT_{2C}, o m-CPP (1-10mg/kg), aumentou, paradoxalmente, o tempo de imobilidade no teste de nado forçado.

Similarmente, Rosenzweig-Lipson et al. (2007) avaliaram que a droga WAY- 163909 (10mg/kg, i.p), outro agonista seletivo do receptor 5-HT_{2C}, apresentou efeitos antidepressivos em múltiplos modelos animais de atividade antidepressiva, incluindo o teste do nado forçado,

o teste do intruso-residente e a seleção genética de roedores com traços de depressão – BULB. Além disso, verificaram que a utilização de antagonistas do tipo 5-HT_{2C/2B} (e.g., SB 206553) revertiam os efeitos da WAY-163909. Dessa forma, estes estudos demonstram fortes evidências de que os sítios de recepção 5-HT_{2C} podem realmente estar envolvidos na depressão.

Paralelamente aos estudos de potencial antidepressivo decorrentes da ativação do receptor 5-HT_{2C}, já está relativamente bem documentado que agonistas 5-HT_{2C} apresentam propriedades ansiogênicas em humanos (Charney, Woods, Goodman & Heninger, 1987; Lowy & Meltzer, 1988; Bastani, Nash & Meltzer, 1990; Bourin et al. 1998; Graeff, 2002) e em diferentes modelos animais de ansiedade, incluindo os testes de transição claro-escuro (Kshama, Hrishikeshava, Shandhoge & Munonyedi, 1990), interação social (Kennett et al. 1989; Bagdy, Graf, Anheuer, Modos & Kantor, 2001), bem como os labirintos elevados em forma de “T” (Mora, Netto & Graeff, 1997; Zangrossi, Viann, Zanoveli, Bueno, Nogueira & Graeff, 2001), “X” ou LCE (Benjamin, Lal & Meyerson, 1990; Kshama et al. 1990; Rodgers et al. 1992; Gibson, Barnfield & Curzon, 1994; Griebel, 1995; Fone, Shalders, Fox, Arthur & Marsden, 1996; Wallis & Lal, 1998; Setem, Pinheiro, Motta, Morato & Cruz, 1999; Jones, Duxon & King, 2002; Bull, Huston & Fone, 2003; Durand, Mormèd & Chaoulhoff, 2003). Além disso, efeito antipânico de alguns agonistas 5-HT_{2C} também têm sido aventados (Mora et al. 1997; Zangrossi-Jr et al., 2001; Graeff, 2003; Pinheiro, Zangrossi-Jr, Del-Bem & Graeff, 2007).

A despeito dessas evidências apontando o papel do receptor 5-HT_{2C} na ansiedade, diversos resultados contraditórios também têm sido relatados, o que demonstra que os dados ainda não são claros e muitas lacunas devem ser preenchidas. Uma das razões é a elevada complexidade da neurotransmissão serotoninérgica devido ao grande número de subtipos receptores serotoninérgicos existentes no cérebro, sua localização e a possível relação com

psicopatologias como a ansiedade (Barnes & Sharp, 1999). Outro fator envolve conhecer o modelo animal que mais se aproxima da realidade do fenômeno a ser estudado, pois os efeitos ansiolíticos e ansiogênicos podem variar em função do modelo animal utilizado ou gerarem resultados inconsistentes até mesmo dentro de um mesmo modelo (para revisões ver Griebel, 1995; Cruz et al., 1997; Rodgers, Johnson, Norton & Cole, 1995). Por exemplo, o agonista 5-HT_{2A/2B/2C} DOI [1-(2,5-dimethoxy-4-idophenny1)-2aminopropaene] apresenta efeito ansiolítico em camundongos expostos ao labirinto em cruz elevado (Dhonnchadha, Bourin & Hascoët, 2003) e mostra-se sem efeito em ratos tanto no modelo animal LCE (Chaouloff, Kulikov & Mormede, 1997) quanto no labirinto em T elevado (Mora et al., 1997). O agonista 5-HT_{2C} RO 60-0175 [s]-2-(6-chloro-5fluoroindol-1-yl)-1-methylethylamnina], também mostrou resultados comportamentais inconsistentes, uma vez que, camundongos expostos ao LCE tiveram comportamento tipo ansiolítico (Dhonnchadha et al., 2003) enquanto ratos no teste de interação social apresentaram comportamento tipo ansiogênico e nenhum efeito quando os ratos foram submetidos ao teste de conflito (Kennett et al., 2000). Além dos agonistas DOI e RO 60-0175, outras drogas como o m-CPP e o TFMPP promovem resultados contraditórios a respeito de seu efeito – ansiolítico e ansiogênico – e do modelo animal escolhido – LCE, Interação Social, ETM- esquivada e ETM- fuga (Mora et.al, 1997; Setem et. al, 1999; Badgy et al., 2001; Dhonnchadha et al., 2003; Carvalho-Neto & Nunes-de-Souza, 2004).

Objetivo

Parece, pois, que o receptor 5-HT_{2C} desempenha importante papel na modulação de estados de ansiedade e depressão. A fim de investigar mais detalhadamente esta participação, o presente estudo testou os efeitos comportamentais da ativação farmacológica do subtipo 5-HT_{2C} de receptor serotoninérgico. Isso foi feito através de injeção sistêmica do agonista 5-

HT_{2C} seletivo WAY-161503 em ratos expostos ao LCE e ao teste no nado forçado (TNF), dois dos modelos animais mais comumente utilizados para o teste de drogas ansiolíticas e antidepressivas, respectivamente. O LCE tem sido particularmente útil na detecção de efeitos de drogas serotoninérgicas (para revisão ver Cruz et al., 1997). Para a depressão, utilizou-se o TNF cujo uso tem sido muito importante na seleção de drogas antidepressivas. A escolha da droga se fez por se tratar de um novo agonista cujos estudos comportamentais ainda são incipientes.

Método

Sujeitos

Trinta e dois ratos Wistar machos e experimentalmente ingênuos, fornecidos pelo Biotério Bioagre (Brasília, DF), foram utilizados como sujeitos. Os animais pesaram entre 220 e 280g e foram mantidos no Biotério do Laboratório de Psicobiologia do Instituto de Psicologia da Universidade de Brasília, por um período de 7 dias antes de ser iniciado o experimento. Os animais foram alojados em grupos de 4 (quatro) em caixas de polietileno (30X 60 cm) forradas com serragem seca, tendo livre acesso à comida e água, sob um ciclo de claro-escuro de 12 horas. O experimento foi realizado na fase clara do ciclo, entre 8h:00 e 15h:00. Antes do início das sessões experimentais, cada animal foi manuseado (“handling”) pelo experimentador durante 3 minutos por três dias consecutivos. O manuseio consistiu da colocação do animal, com auxílio de uma flanela, em um antebraço do experimentador, seguida de movimentos suaves na cabeça e no dorso do animal com as palmas e pontas dos dedos. Este procedimento é utilizado como rotina em todos os lotes de animais alojados em nosso laboratório com a finalidade de reduzir diferenças individuais nos traços de ansiedade e habituá-los ao toque e contato com o experimentador.

Drogas

Foi utilizado o agonista seletivo de receptor 5-HT_{2C} WAY-161503 hydrochloride (8,9-Dichloro-2,3,4,4a-tetrahydro-1H-pyrazino[1,2-a]quin oxalin-5(6H)-one hidroclorido) [Tocris, Ballwin, MO, USA]. A droga foi solubilizada em salina estéril (0,9% NaCl), sendo injetada intraperitonealmente (i.p.) em um volume de 1,0 ml/kg 15 minutos antes da exposição ao LCE. Esta solução salina serviu de veículo-controle.

Equipamentos

O LCE seguiu as especificações de Pellow et al (1985), sendo constituído por quatro braços perpendiculares de madeira elevados a 50 cm em relação ao solo. Dois destes braços eram abertos (50X10cm) e os outros dois eram envolvidos por paredes laterais (50X10X40cm). Os braços abertos e fechados foram dispostos de forma perpendicular, cruzando-se entre si em formato de uma cruz, delimitada por uma arena central (10X10cm). A fim de minimizar o número de quedas dos animais do LCE, os braços abertos foram circundados por uma beirada de acrílico de 1cm de altura. O labirinto encontrava-se instalado no centro de em um cubículo experimental, com paredes revestidas por isolamento acústico parcial e iluminado por uma lâmpada de incandescente de 60W.

O TNF seguiu as especificações de Porsolt (1977) com algumas modificações. O aparato consistiu de um cilindro de acrílico transparente (60 cm de altura X 25 cm de diâmetro), fechado em uma de suas bases com o mesmo material. Para o experimento preencheu-se esse cilindro com água (26°C ± 1° C) até uma profundidade de 50 cm.

Os ratos foram colocados individualmente na água e forçados a nadar, devido a situação inescapável, até que apresentassem a primeira imobilidade, definida operacionalmente pela ausência de movimentos corporais, exceto movimentos mínimos de perna necessários para o animal se manter flutuando. A latência para esta resposta foi

registrada durante duas sessões (sessão de treino e sessão de teste) separadas por um intervalo de 24 horas. Toda água do recipiente foi trocada entre a exposição de cada animal. Imediatamente após a exposição à água, cada animal foi gentilmente secado com o auxílio de toalhas e de um secador de ar quente, retornando para suas gaiolas-viveiro.

As sessões do LCE e TNF foram monitoras e gravadas por um sistema de vídeo-câmera e as fitas correspondentes a cada animal foram posteriormente analisadas por um observador altamente treinado na análise das categorias comportamentais e alheio ao tratamento farmacológico recebido por cada animal.

Procedimento

Após o terceiro dia de manuseio, os animais foram aleatoriamente designados para quatro grupos e receberam uma injeção de salina ou de WAY-161503 nas doses de 1.0, 3.0 e 10.0 mg/kg.

Quinze minutos após a injeção da droga ou de seu veículo, cada animal foi colocado no centro do LCE, sempre com a cabeça voltada para um dos braços fechados. Durante cinco minutos cada animal pôde explorar livremente os braços abertos e fechados. O número de entradas e o tempo gasto tanto nos braços abertos quanto nos braços fechados, bem como o tempo de permanência no centro do labirinto, foram registrados. As porcentagens de entrada nos braços abertos $[(100 \times \text{entradas nos abertos} / (\text{entrada nos abertos} + \text{entrada nos fechados}))]$ e de tempo gastos nestes braços $[(100 \times \text{tempo nos abertos} / (\text{tempo nos abertos} + \text{tempo nos fechados}))]$ foram calculadas. O número absoluto de entradas nos braços fechados foi calculado como índice de atividade locomotora. Adicionalmente, o tempo gasto na categoria espreitar (*risk-assessment*) foi registrado. Este padrão comportamental, descrito por Cruz, Frei e Graeff (1994), vem se mostrando útil como índice de ansiedade para a detecção de efeitos de drogas serotoninérgicas e é

operacionalmente definido por: saída parcial do animal dos braços fechados, explorando com movimentos pendulares de cabeça e com as patas dianteiras a plataforma central ou as entradas dos braços abertos, freqüentemente acompanhada do estiramento completo do corpo do animal.

Imediatamente após a exposição no LCE, os animais foram transferidos para o TNF e forçados a nadar até que a latência para a primeira imobilidade fosse alcançada. Os animais foram então removidos do aparato, secados com auxílio de uma toalha e um secador de cabelo e recolocados na gaiola-viveiro. No outro dia, eles foram submetidos a uma segunda sequência LCE-TNF 15 minutos após terem recebido o mesmo tratamento farmacológico. Uma latência reduzida de imobilidade para a primeira sessão no teste, em comparação com esta mesma medida na sessão de treino, foi utilizada como indicativo de comportamento depressivo.

Análise Estatística

Os efeitos da manipulação farmacológica no LCE foram analisados com base em uma análise de variância (ANOVA) para medidas repetidas (sessão 1 e sessão 2). Na sessão de teste do TNF os resultados foram analisados por meio de uma ANOVA. No caso de efeitos significativos do tratamento, utilizou-se o teste de Duncan para comparações entre os grupos. O nível de significância adotado foi de $p < 0,05$.

Resultados

A Figura 1 ilustra os efeitos do WAY-161503 sobre a exploração dos ratos no LCE. A droga promoveu uma diminuição das porcentagens de entradas nos braços abertos tanto na primeira quanto na segunda exposição ao LCE (Figura 1A). A análise estatística com base em uma ANOVA para medidas repetidas confirmou esta impressão. O teste indicou efeito de

tratamento [$F(3,16) = 6,92, p < 0,05$], mas não uma interação entre a administração da droga e as exposições ao teste [$F(3, 16) = 0,873, p > 0,05$]. Análises *post hoc* com o teste de Duncan indicaram que as doses de 3,0 e 10,0 mg/kg diminuíram significativamente as porcentagens de entradas nos braços abertos do LCE, em ambas exposições, em relação ao grupo controle injetado com salina ($ps < 0,05$). O mesmo padrão de resultados com efeitos significantes nas mesmas doses foi observado para a porcentagem de tempo gasto nos braços abertos (dados não ilustrados).

Enquanto o WAY-161503 diminuiu a exploração dos ratos nos braços abertos do LCE, a droga promoveu uma curva do tipo “U” invertido sobre o tempo gasto na categoria espreitar (Figura 1B). Nas doses de 1,0 e 3,0 mg/kg houve um aumento do tempo gasto em espreitar, enquanto na dose de 10,0 mg/kg houve uma diminuição nesse índice. Novamente, a ANOVA para medidas repetidas confirmou esta impressão. O teste indicou efeito significativo do tratamento [$F(3, 16) = 11,763, p < 0,05$], mas não uma interação entre a primeira e a segunda exposição [$F(3, 16) = 1,131, p > 0,05$]. Análises *post hoc* com o teste de Duncan indicaram que as doses de 1,0 e 3,0 mg/kg aumentaram significativamente o tempo gasto em espreitar ($ps < 0,05$), enquanto a dose mais alta (10,0 mg/kg) promoveu uma diminuição no tempo gasto nesta categoria ($p < 0,05$).

Em relação ao número absoluto de entradas nos braços fechados (Figura 1C) as doses de 1,0 e 3,0 mg/kg da droga não alteraram essa medida, enquanto a dose mais alta (10,0 mg/kg) diminuiu o número de entradas nos braços fechados tanto na primeira quanto na segunda exposição ao LCE. Tal sugestão foi confirmada pela ANOVA para medidas repetidas. O teste indicou efeito de tratamento [$F(3, 16) = 8,532, p < 0,05$], mas ausência de interação entre tratamento farmacológico e as exposições seguidas ao LCE [$F(3, 16) = 1,23, p > 0,05$]. Análises *post hoc* revelaram uma diminuição significativa do número absoluto de

entradas nos braços fechados na dose de 10,0 mg/kg em relação ao grupo tratado com salina ($p < 0,05$).

Os efeitos do tratamento com WAY-161503 na latência para primeira imobilidade na sessão de teste no TNF são ilustrados na Figura 2. Conforme pode ser observado, a droga promoveu, de maneira semelhante à categoria espreitar no LCE, um aumento na latência para a primeira imobilidade nas doses de 1,0 e 3,0 mg/kg e uma diminuição nesta medida na dose de 10,0 mg/kg. ANOVA unifatorial indicou efeito significativo de tratamento [(F(3, 16) = 25,21, $p < 0,05$]. Análises *post hoc* indicaram um aumento significativo da latência para esta resposta nas doses de 1,0 e 3,0 mg/kg ($ps < 0,05$) e uma diminuição deste índice na dose mais alta ($p < 0,05$) quando comparadas ao grupo controle injetado com salina.

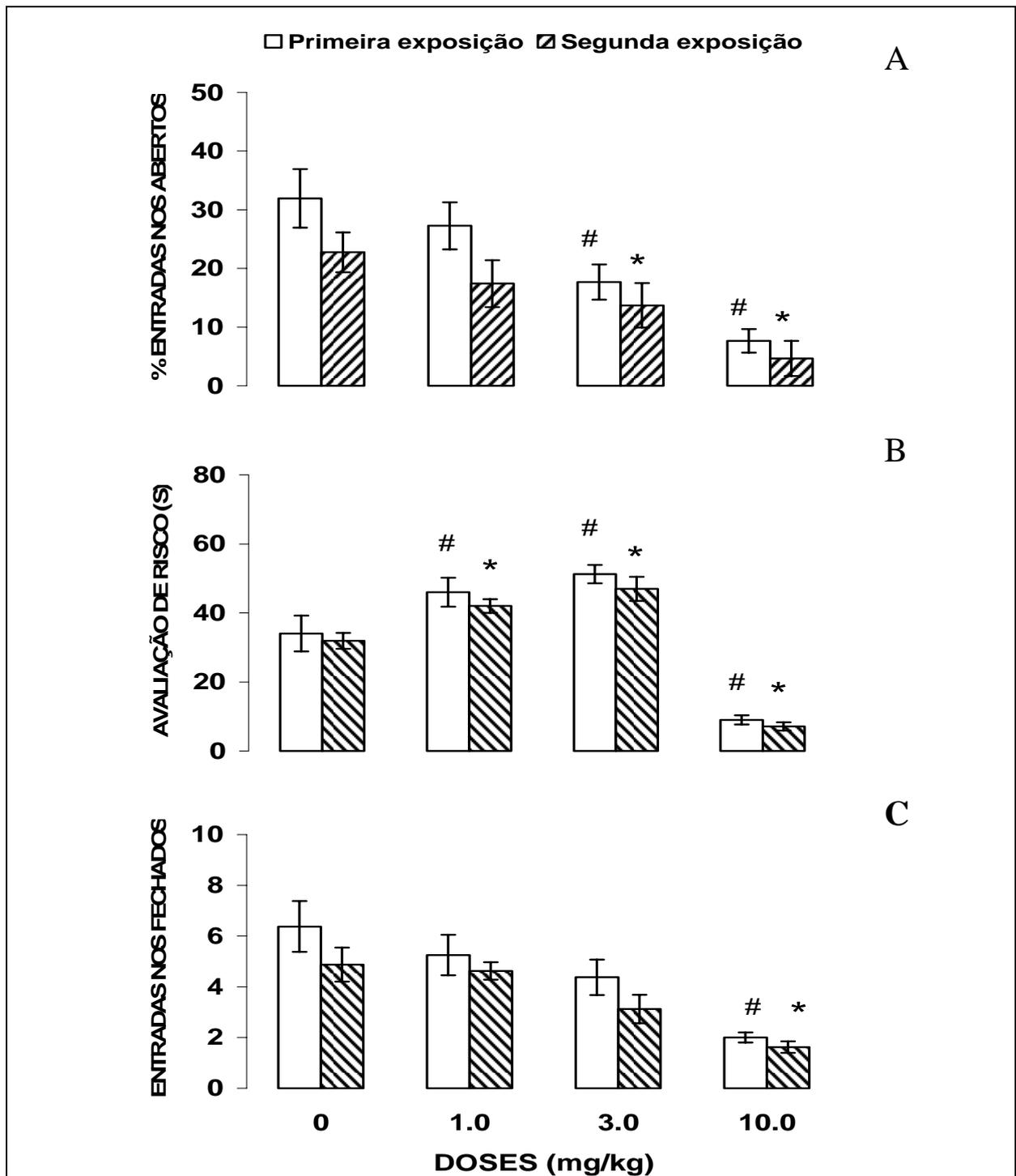


Figura 1. Efeitos da injeção do WAY-161503 sobre as porcentagens de entradas nos braços abertos (A), avaliação de risco (B) e número absoluto de entradas nos braços fechado (C). As barras representam as médias na primeira e segunda exposição ao LCE, respectivamente, enquanto as linhas verticais indicam o erro padrão da média (\pm EPM). *,# indicam diferença estatisticamente significativa (Duncan, $p < 0,05$) em relação ao grupo controle injetado com salina, $n=8$.

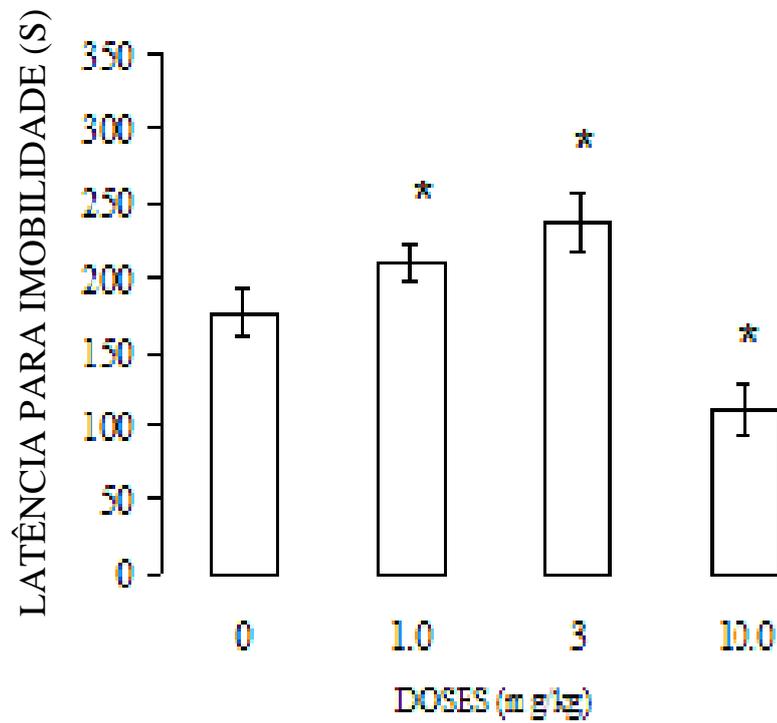


Figura 2. Efeitos da injeção do WAY-161503 sobre a latência para a primeira imobilidade na sessão de teste no TNF. As barras representam as médias e as linhas verticais o erro padrão da média (EPM). * indica diferença estatisticamente significativa (Duncan, $p < 0,05$) em relação ao grupo controle injetado com salina, $n = 8$.

Discussão

Diversos estudos procuram compreender a neurotransmissão serotoninérgica envolvida nos transtornos de ansiedade e depressão (Martin et al., 1998; Setem et al., 1999; Alves, et al., 2004; Ferreira, 2004; Santos, 2005). No entanto o perfil ansiogênico e antidepressivo relacionado à administração sistêmica de agonistas 5-HT permanece pouco esclarecido, com resultados pouco consistentes e até contraditórios. As principais razões são a elevada complexidade da neurotransmissão serotoninérgica (Barnes e Sharp, 1999), seletividade da droga (Glennon et al., 2000) e a sensibilidade do modelo animal utilizado na detecção dos efeitos comportamentais das drogas (Dhonnchadha et al., 2003; Rodgers et al., 1992).

A síntese de novas drogas agonistas e antagonistas serotoninérgicas têm privilegiado a especificidade das mesmas em relação aos subtipos de receptores de serotonina existentes no SNC (Martin et al., 1998). Estes receptores 5-HT formam uma grande família, compreendendo um total de 14 subtipos (para revisões ver Barnes & Sharp, 1999; Millan, 2003) que estão envolvidos em diversos transtornos psicológicos.

Os agonistas mCPP, TFMPP, MK-212, RO 60-0175 foram muito utilizados nas pesquisas em neurociências possibilitando demarcar a importância dos receptores 5-HT_{2C} na modulação de comportamentos ansiosos em modelos animais de ansiedade e estudos com humanos (Kennett et al., 1989; Kahn, Wetzler, Asnis, Papolos & van Praag, 1990; Murphy & Pigott, 1990; Rodgers et al., 1992; Gibson et al., 1994; Setem et al., 1999; Alves et al., 2004). Por outro lado, drogas antagonistas serotoninérgicas, que usualmente apresentam propriedades ansiolíticas, também demonstram a sua importância nos estudos neurocientíficos do papel do receptor 5-HT_{2C} na ansiedade, como por exemplo, FR260010 (Harada, Aota,

Inoue, et al., 2006), SB 242084 (Martin, Ballard & Higgins, 2002) e R-96544 (Santos, 2005).

A droga WAY 161503 [8,9-Dichloro-2,3,4,4a-tetrahydro-1H-pyrazino[1,2-a]quin oxalin-5(6H)-one hydrochloride] é um agonista 5-HT_{2C} considerado potente e seletivo, K_i = 4 nM; valor agonista, EC₅₀ = 12 nM (Welmaker et al., 2000). Apresenta efeitos antidepressivos e anoréxicos bem estabelecidos por outras pesquisas (Rosenzweig-Lipson et al., 2000; Welmaker et al., 2000). Esta droga foi escolhida neste estudo a fim de avaliar a sua atuação em sítios do subtipo 5-HT_{2C} em um modelo animal de ansiedade e outro de depressão devido a sua seletividade.

Os resultados deste experimento vêm ao encontro da teoria clássica do papel ansiogênico e antidepressivo da serotonina nos estados de ansiedade e depressão e a relação destes transtornos com os receptores serotoninérgicos do subtipo 5-HT_{2C} (Martin, 1998; Millan, 2005).

A partir do LCE pôde-se observar que as três doses (1.0, 3.0 e 10.0 mg/kg), injetadas intraperitonealmente nos grupos de ratos experimentais provocaram alteração comportamental significativa quando comparado com o grupo administrado com o veículo, seja na porcentagem de entrada nos braços abertos, seja na avaliação de risco. Dessa forma, verificou-se uma diminuição das porcentagens de entrada nos braços abertos do LCE, indicativo de perfil compatível com atividade ansiogênica do WAY 161503 nas doses de 3,0 e 10,0 mg/kg, tanto na primeira quanto na segunda exposição ao teste. Isto mostra que a segunda exposição ao LCE não alterou a resposta farmacológica da droga e que consequentemente não produziu o efeito conhecido como *one-trial tolerance* ou efeito de tolerância aguda no LCE. Este efeito consiste em um decréscimo da efetividade de algumas drogas ansiolíticas durante a re-exposição ao labirinto, curiosamente em sessões de 5 minutos, mas não de 10 minutos (Bertoglio & Carobrez, 2002; Calzavara et al., 2005; File, 1990, 1993;

Rodgers & Shepherd, 1993; Rodgers, Cole, Dewar, Kidd, & Kimpson, 1996; Holmes & Rodgers, 1999). Os roedores tendem de forma incondicionada evitar os braços abertos tanto na sessão treino quanto na sessão teste seguinte (Roy, Chapillon, Jeljeli, Caston, & Belzung, 2009). No momento inicial os animais sentem-se ameaçados tanto pelos braços fechados desconhecidos quanto pelos braços abertos aversivos. Após um momento de exploração eles aprendem que os braços fechados são seguros e que eles irão claramente reduzir a exploração dos braços abertos (Carobrez & Bertoglio, 2005; Rodgers et al., 1996). Assim, com a droga agonista de receptores 5-HT_{2C}, tida como ansiogênica, este padrão comportamental também foi reproduzido em ambas as sessões e o efeito farmacológico do agonista não foi alterado.

O efeito ansiogênico do WAY-161503 também foi detectado de forma mais sensível através do aumento no tempo gasto na categoria etológica espreitar (avaliação de risco), tanto na primeira quanto na segunda exposição ao teste. Porém, ao contrário do que foi observado nas porcentagens de entradas nos braços abertos, este efeito ansiogênico ocorreu na dose mais baixa (1,0 mg/kg) e na dose intermediária (3,0 mg/kg). A dose mais alta da droga (10,0 mg/kg) promoveu um efeito oposto, reduzindo o tempo gasto nesta categoria comportamental. Considerando que o espreitar correlaciona-se positivamente com ansiedade (Cruz et al., 1994), esta redução na dose mais alta poderia sugerir, paradoxalmente, um suposto efeito ansiolítico. No entanto, ao se avaliar o efeito desta droga sobre as entradas nos braços fechados, um índice padronizado de locomoção neste teste (File, 1992; Cruz et al., 1994), observou-se que as doses 1,0 e 3,0 mg/kg não provocaram uma alteração significativa no número absoluto neste índice, mas a dose de 10,0 mg/kg diminuiu significativamente o número absoluto de entradas nos braços fechados. Esses resultados sugerem que os efeitos observados no LCE para a dose mais alta não ocorreu de maneira independente de alterações sobre a atividade locomotora. Assim, ao invés de um efeito ansiolítico da dose 10,0 mg/kg, o efeito observado refere-se a hipolocomoção.

Estudos com o agonista mCPP, por exemplo, correlacionam efeitos de hipolocomoção com altas doses desta droga (Samanin, Mennini, Ferraris, Bendotti, Borsini & Garattini, 1979; Ortmann, 1984, Kennett & Curzon, 1988; Kennett, Whitton, Shah & Curzon, 1989) sugerindo que tal efeito deve-se a um perfil sedativo exibido pela droga em elevadas doses em humanos, aumento de bocejo, e em macacos, fechamento dos olhos (Aloi, Insel, Mueller & Murphy, 1984) . Embora esta possa ser uma resposta não específica à percepção dos efeitos droga, os efeitos do mCPP na locomoção poderia ser também causado pelos efeitos ansiogênicos clinicamente observados (Charne et al., 1987).

Na literatura existem evidências que mostram a relação funcional entre receptores 5-HT_{2C} e sistemas colinérgicos e dopaminérgicos em estudos envolvendo locomoção e administração de drogas (Batman, Munzar & Beardsley, 2005). Alguns estudos (e.g. Smith & Suckow, 1985) apontam que agonistas serotoninérgicos possam também ter afinidade por receptores de dopamina e α 2-adrenoreceptores.

Uma vez que, o sistema serotoninérgico da rafe mostra extensiva conectividade com áreas que contém dopamina, sugere-se que a serotonina desempenhe um papel no controle da neurotransmissão dopaminérgica (Van Bockstaele, Cestari & Pickel, 1994). Alguns estudos mostram que um aumento na liberação de serotonina pode ser seguido de estimulação de receptores nicotínicos e, em particular, ativação de receptores 5-HT_{2C}. Com isso, a serotonina nestes sítios pode atuar modulando a acetilcolina induzida pela liberação de dopamina mesolímbica (Di Giovanni, Di Matteo, Di Mascio & Esposito, 2000; Di Matteo, Pierucci & Esposito, 2004; Pierucci, Di Matteo & Esposito, 2004). De acordo com Hayes et al. (2008), o agonista 5-HT_{2C} WAY 161503 induz um decréscimo na linha de base nicotínica da ativação locomotora de ratos submetidos a elevadas doses desta droga, cujos efeitos podem ser atenuados por antagonistas do tipo SB 242084. Dessa forma, o agonista WAY 161503

bloqueia a atividade locomotora sugerindo-se que os receptores 5-HT_{2C} têm papel nesta inibição, juntamente com os sistemas dopaminérgicos e colinérgicos.

O efeito ansiogênico do WAY 161503 observado neste experimento está de acordo com os efeitos ansiogênicos de outros agonistas menos seletivos 5-HT_{2C} em medidas clássicas de ansiedade no LCE. O agonista 1-(3-chlorophenyl)piperazine (mCPP), por exemplo, quando administrado intraperitonealmente (0.125-1.0 mg/kg) também reduz a exploração dos braços abertos no LCE de forma dose dependente, o que indica o papel deste agonista 5-HT_{2C} na produção de comportamentos típicos de ansiedade em ratos submetidos a este modelo animal (Gibson et al., 1994). Dessa forma, com uma droga mais seletiva obteve-se resultado semelhante a drogas menos seletivas sobre a participação de receptores 5-HT_{2C} na ansiedade.

No entanto, há ainda uma grande inconsistência de resultados comportamentais sendo relatados frequentemente na literatura, onde além dos efeitos ansiogênicos clássicos de agonistas 5-HT_{2C}, observa-se também ausência de efeito e até mesmo efeito ansiolítico com drogas agonistas deste receptor. Por exemplo, o agonista 5-HT_{2C}, RO 60 0175, em testes de interação social nas doses de 1-3 mg/kg em ratos, exibiu efeito ansiogênico (Kennett et al., 2000), no entanto no LCE teve efeito ansiolítico na dose 4,0 mg/kg em camundongos (Dhonnchadha et al., 2003) e não apresentou efeito no teste de conflito em ratos sedados com dose de 0,5mg/kg (Kennett et al., 2000). Estes resultados demonstram que agonistas 5-HT_{2C} em modelos animais têm atuação controversa e esta inconsistência pode ser consequência dos diferentes protocolos utilizados em testes com modelos animais, seletividade das drogas e modelo animal utilizado.

Ao contrário do LCE, onde o braço aberto que é aversivo para o rato, mas pode ser evitado, no teste do nado forçado produz um ambiente estressor para o roedor do qual ele não pode escapar facilmente – tanque cilíndrico preenchido com água (Ho et al., 2005). Observa-se que o medo gerado pelo local inescapável faz com o animal após vigorosa atividade num

primeiro momento cesse o nado e mantenha apenas os movimentos necessários para manter a cabeça fora d'água. Este padrão comportamental é mais conhecido como imobilidade e indica o estado de desamparo aprendido (Porsolt et al., 1977). A depressão pode, então, ser interpretada como o desamparo aprendido, uma vez que, o estresse persistente e a ansiedade produzidos pelo modelo geram no animal desistência da situação experimental (Lucki, 1997).

A imobilidade no TNF pode ser reduzida por diferentes tratamentos terapêuticos para depressão, por exemplo, pelos ISRSs e agonistas de receptores 5-HT_{2C} (Redrobe & Bourin, 1997; Cryan e Lucki, 2000). O comportamento de escalada é alterado pela ação de antidepressivos tricíclicos e drogas que tenham efeito seletivo sob a transmissão de catecolaminas (Cryan e Lucki, 2000). Os agonistas 5-HT_{2C} podem em conjunto com ISRSs e ATs potencializar a ação destas classes de antidepressivos em estudos sobre depressão em modelos animais (Borsini, 1994; Borsini & Meli, 1988).

Neste estudo, foi utilizado apenas o agonista 5-HT_{2C}, a fim de se verificar o seu papel na neurotransmissão serotoninérgica em estados depressivos a partir do modelo animal TNF. Os resultados indicaram um aumento significativo na latência para a primeira imobilidade nas doses de 1,0 mg/kg e 3,0 mg/kg o que denotou o efeito antidepressivo da droga agonista 5-HT_{2C}, WAY-161503, como já havia sido verificado em um estudo anterior feito por Cryan e Lucki (2000).

O comportamento de desistir da situação experimental deve ser diferenciado do efeito que algumas doses da droga estudada podem gerar na locomoção do animal. Isso pôde ser observado neste experimento. Nas doses 1.0 e 3.0 mg/kg houve um padrão indicativo de que a medida que se aumentava a dose da droga proporcionalmente aumentava o tempo de latência para a imobilidade e, conseqüentemente, o tempo de nado do animal. Porém, na dose mais alta (10.0mg/kg) ocorreu uma inversão de padrão, onde o aumento da dose provocou um decréscimo no tempo para imobilidade, o que poderia sugerir um efeito depressor da droga

em doses elevadas. No entanto, através do índice padronizado de locomoção, evidenciado pelo número absoluto de entradas nos braços fechados no LCE, verificou-se que este resultado relacionava-se ao efeito hipolocomotor gerado pela dose mais alta nos ratos pertencentes a este grupo experimental. Este índice evidenciou que para a dose 10mg/kg os sujeitos diminuíram a entrada nos braços fechados quando comparados ao grupo controle.

Dessa forma, a análise global dos efeitos da droga WAY 161503 nos dois modelos animais do presente estudo, um de ansiedade e outro de depressão demonstrou que tanto a avaliação de risco no LCE quanto o tempo de latência para imobilidade no TNF apresentou um padrão do tipo curva em “U” dose dependente, mostrando que para as doses 1.0 e 3.0 (mg/kg) a ação da droga WAY 161503 alterou o padrão comportamental dos animais experimentais destes grupos quanto comparado ao grupo controle. Assim, ela desempenhou tanto papel ansiogênico, aumentando a avaliação de risco, quanto papel antidepressivo, aumentando o tempo para a imobilidade. Tais observações confirmam a participação da 5-HT e dos receptores do subtipo 5-HT_{2C} na modulação dos estados de ansiedade e depressão.

Embora o modelo TNF por si só aumente a ansiedade do animal e a droga utilizada tenha demonstrado efeitos ansiogênicos no LCE, sugerindo que o animal foi implicado em uma condição de estresse inescapável que também eleva os níveis de ansiedade, o agonista neste modelo mostrou efeito antidepressivo. Isto indica que embora, a patofisiologia de depressão e da ansiedade possua diversos pontos em comum, tais como estresse associados a estes transtornos, neurotransmissão serotoninérgica e receptores do subtipo 5-HT_{2C}, outros pontos são divergentes, entre eles os mecanismos de ação, o engatilhamento das projeções serotoninérgicas a partir de diferentes porções do núcleo da rafe, as vias percorridas e as estruturas cerebrais do sistema límbico e do córtex envolvidos nestes transtornos.

Dessa forma, pode-se perceber que a serotonina nos sítios de ação 5-HT_{2C} gera tanto comportamentos ansiosos quanto antidepressivos, mas, como a injeção foi sistêmica e não

central não foi possível verificar a sua atuação em regiões cerebrais específicas relacionadas a estes subtipos de receptores serotoninérgicos. O que necessita de muitos estudos ainda para diferenciar bem a rota neuroquímica da depressão e da ansiedade.

Estudos futuros investigando os efeitos comportamentais do agonista 5-HT_{2C}, WAY 161503, sob a forma de administração central em estruturas encefálicas envolvidas na depressão e na ansiedade a partir dos modelos animais TNF e LCE, respectivamente, poderão avaliar de forma mais evidente o papel dos receptores 5-HT_{2C} de áreas cerebrais específicas com o propósito de diferenciar local versus comportamento desencadeado (se ansiogênico ou antidepressivo). E, neste caminho, a utilização de manipulações farmacológicas experimentais será útil na determinação dos mecanismos neurobiológicos da 5-HT envolvidos na ansiedade e na depressão.

Referências

- Akirav, I., & Maroun, M. (2007). The role of the medial prefrontal cortex-amygdala circuit in stress effects on the extinction of fear, *NeuralPlasticity*, 1-11.
- Aloi, J.A., Insel, T.R., Mueller, E.A., & Murphy, D.L.(1984). Neuroendocrine and behavioural effects of mchlorophenylpiperazine administration in rhesus monkeys. *Life Science*, 34,1325-1331.
- Alves, S.H., Pinheiro, G., Motta, V., Landeira-Fernandez, J., & Cruz, A. P. M. (2004). Ansiogenic effects in the rat elevated plus-maze of 5-HT_{2C} agonists into ventral but not dorsal hippocampus. *Behavioural Pharmacology*, 15, 37-43.

- Antoniou, K., Bekris, S., Saranti, M., Stathis, P., Rimikis, M., & Papadopoulou-Daifoti, Z. (2000). The effects of antipsychotic drugs, on serotonergic activity in the rat hippocampus. *European Neuropsychopharmacology*, *10*, 315-324.
- Azmitia, E.C., & Segal, M. (1978). Na autoradiographic analysis of the differential ascending projections of the dorsal and median raphe nuclei in the rat. *Journal of Comparative Neurology*, *179* (3), 641-667.
- Bagdy, G., Graf, M., Anheuer, Z.E., Modos, E.A., & Kantor, S. (2001). Anxiety-like effects induced by acute fluoxetine, sertraline or m-CPP treatment are reversed by pretreatment with the 5-HT-sub(2C) receptor antagonist SB-242084 but not the 5-HT-sub(1A) receptor antagonist WAY-100635. *International Neuropsychopharmacology*, *4*(4), 399-408.
- Balaban, C.D., & Thayer, J.F. (2001). Neurological bases for balance-anxiety links. *Anxiety Disorders*, *15*, 53-79.
- Bannerman, D.M., Grubb, M., Deacon, R.M.J., Yee, B.K., Feldon, J., & Rawlins, J.N.P. (2002). Ventral hippocampal lesions affect anxiety but not spatial learning. *Behavioural Brain Research*, 1-17.
- Barnes, N.M., & Sharp, T. (1999). A review of central 5-HT receptors and their function. *Neuropharmacology*, *38*, 1083-1152.
- Bastani, B., Nash, J.F., & Meltzer, H.Y. (1990). Prolactin and cortisol responses to MK-212, a serotonin agonist, in obsessive-compulsive disorder. *Archives Genetic Psychiatry*, *47*, 833-839.
- Batman, A.M., Munzar, P., & Beardsley, P.M. (2005). Attenuation of nicotine's discriminative stimulus effects in rats and its locomotor activity effects in mice by serotonergic 5-HT_{2A/2C} receptor agonists. *Psychopharmacology*, *179*, 393-401.

- Benjamin, D., Lal, H., & Meyerson, L.R. (1990). The effects of 5-HT_{1B} characterizing in the mouse elevated plus-maze. *Life Sciences*, *47*, 195-203.
- Berendsen, H.H. (1995) Interactions between 5-hydroxytryptamine receptor subtypes: Is a disturbed receptor balance contributing to the symptomatology of depression in humans? *Pharmacol Ther.*, *66*, 17–37.
- Bertoglio, L.J., & Carobrez, A.P. (2002). Prior maze experience required to alter midazolam effects in rats submitted to the elevated plus-maze. *Pharmacol Biochem Behav*, *72*, 449–55.
- Borsini, F. (1994). Balance between cortical 5-HT_{1A} and 5-HT₂ receptor function: hypothesis for a faster antidepressant action. *Pharmacol. Res.*, *30*, 1.
- Borsini, F. (1995). Role of the serotonergic system in the forced swim test. *Neuroscience Biobehavioral Reviews*, *19* (3), 377–395.
- Borsini, F., & Meli, S. (1988). Is the forced swimming test a suitable model for revealing antidepressant activity? *Psychopharmacology*, *94*, 147-160.
- Bös, M., Jenck, F., Martin, J.R., Moreau, J.L., Sleight, A.J., Wichmann, J., & Widmer, U. (1997) Novel agonists of 5-HT_{2C} receptors. Synthesis and biological evaluation of substituted 2-(indol-1-yl)-1-methylethylamines and 2-(indeno[1,2-b]pyrrol-1-yl)-1-methylethylamines. Improved therapeutics for obsessive compulsive disorder. *Journal Med. Chem.*, *40*, 2762–2769.
- Bourin, M., Colombel, M.C., Redrobe, J.P., Nizard, J., Hascoët, M., & Baker, G.B. (1998). Evaluation of efficacies of different classes of antidepressants in the forced swimming test in mice at different ages. *Prog. Neuro-Psychopharmacology & Biology Psychiat.*, *22*, 343-351.

- Brandão, M.L., Troncoso, A.C., Silva, M.A.S., & Huston, J.P. (2003). The relevance of neuronal substrates of defense in the midbrain tectum to anxiety and stress: empirical and conceptual considerations. *European Journal of Pharmacology*, 463, 225-233.
- BS, M., Jenck, F., Martin, J.R., Moreau, J-L., Sleight, A.J., Wichmann, J., & Widmer, U. (1997). Novel Agonists of 5-HT Receptors. Synthesis and Biological evaluation of substituted 2-(indol-1-yl)-1-methylethylamines and 2-(indeno[1,2-b]pyrrol-1-yl)-1-methylethylamines. Improved therapeutics for obsessive compulsive disorder. *Medicinal Chemistry*, 40(17), 2762-2769.
- Bull, E.J., Huston, P.H., & Fone, K.C. (2003). Reduced social interaction following 3,4-methylenedioxymethamphetamine is not associated with enhanced 5-HT_{2C} receptor responsivity. *Neuropharmacology*, 44, 439-448.
- Calvazara, M.B., Patti, C.L., Lopez, G.B., Abílio, V.C., Silva, R.H., & Frussa-Filho, R. (2005). Role of learning of open arm avoidance in the phenomenon of one-trial tolerance to the anxiolytic effect of chlordiazepoxide in mice. *Life Sci*, 76, 2235–2246.
- Carloez, A.P., & Bertoglio, L.J. (2005). Ethological and temporal analyses of anxiety-like behavior: The elevated plus-maze model 20 years on. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 29, 1193-1205.
- Carvalho-Neto, E.F., & Nunes-de-Souza, R.L. (2004). Use of the elevated T-maze to study anxiety in mice. *Behavioral Brain Research*, 148, 119-132.
- Chaouloff, F., Kulikov, A., & Morméde, P. (1997). Repeated DOI and SR 4649B treatments do not affect elevated plus-maze anxiety despite opposite effects on cortical 5-HT_{2A} receptors. *European Journal of Pharmacology*, 334(1), 25-29.

- Charney, D.S., Woods, S.W., Goodman, W.R., & Heninger, G.R. (1987). Serotonin function in anxiety. Effects of the serotonin agonist mCPP on panic disorder patients and healthy subjects. *Psychopharmacology*, *92*, 14-21.
- Ciulla, L., Menezes, H.S., Bueno, B.B.M., Schuh, A., Alves, R.J.V., & Abegg, M. P. (2007). Antidepressant behavioral effects of duloxetine and fluoxetine in the rat forced swimming test. *Acta Cirúrgica Brasileira*, *22*(5), 351-354.
- Clemett, D.A., Punhani, T., Duxon, M.S., Blackburn, T.P., & Fone, K.C. (2000). Immunohistochemical localization of the 5-HT_{2C} receptor protein in the rat CNS. *Neuropharmacology*, *39*, 123-132.
- Clenet, F., De Vos, A., & Bourin, M. (2001). Involvement of 5-HT_{2C} receptors in the anti-immobility effects of antidepressants in the forced swimming test in mice. *European Neuropsychopharmacology* *11*, 145-152.
- Compan, V., Segu, L., Buhot, M.C., & Daszuta, A. (1998). Selective increases in serotonin 5-HT_{1B/1D} and 5-HT_{2A/2C} binding sites in adult rat basal ganglia following lesions of serotonergic neurons. *Brain Research*, *793*, 103-111.
- Cremers, T.I., Giorgetti, M., Bosker, F.J., Hogg, S., Arnt, J., Mork, A., Honig, G., Borges, K-P., Westerink, B.H.C., den Boer, H., Wikstrom, H.V., & Tecott, L.H. (2004). Inactivation of 5-HT(2C) receptors potentiates consequences of serotonin reuptake blockade. *Neuropsychopharmacology*, *29*, 1782–1789
- 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*, 171-176.

- Cruz, A.P.M., Avanzi, V., Landeira-Fernandez, J., & Brandão, M.L. (2002). Distinct contributions of median raphe nucleus to contextual fear conditioning and fear-potentiated startle. *Neuroplasticity*, 9 (4), 233-247.
- Cryan, J.F., & Lucki, I. (2000). Antidepressant-like behavioral effects mediated by 5-hydroxytryptamine 2C receptors. *Pharmacology and experimental therapeutics*, 295(3) 1120-1126.
- Davis, M. (2002). Neural circuitry of anxiety and stress disorders. Em: Davis, K.L., Charney, D., Coyle, J.T., & Nemeroff, C. (Eds.) *Neuropsychopharmacology: the fifth generation of progress*, (pp. 931-950). Lippincott Williams & Wilkins. Acessado em 08/03/09, disponível em: <http://www.acnp.org/publications/neuro5thgeneration.aspx>.
- Dawson, G.R., Crawford, S.P., Collinson, N., Iversen, S.D., & Tricklebank, M.D. (1995). Evidence that the anxiolytic-like effects of chlordiazepoxide on the elevated plus maze are confounded by increases in locomotor activity. *Psychopharmacology (Berl)*, 118, 316-23.
- Di Giovanni, G., Di Matteo, V., Di Mascio, M., & Esposito, E. (2000). Preferential modulation of mesolimbic vs. nigrostriatal dopaminergic function by serotonin(2C/2B) receptor agonists: a combined in vivo electrophysiological and microdialysis study. *Synapse*, 35, 53–61.
- Di Matteo, V., Pierucci, M., & Esposito, E. (2004). Selective stimulation of serotonin2creceptors blocks the enhancement of striatal and accumbal dopamine release induced by nicotine administration. *Journal of Neurochemistry*, 89, 418–29.
- Dhonnchadha, B.A., Bourin, N., & Hascoët, M. (2003). Anxiolytic-like effects of 5-HT₂ ligands on three mouse models of anxiety. *Behavioral Brain Research*, 140, 203-214.
- Dunlop, J., Sabb, A.L., Mazandarani, H., Zhang, J., Kalgaonker, S., Shukhina, E., Vogel, R.L., Stack, G., Schechter, L., Harrison, B.L. e Rosenzweig-Lipson (2005). WAY-163909

- [(7*bR*, 10*aR*)-1,2,3,4,8,9,10,10*a*-Octahydro-7*bH*-cyclopenta- [b][1,4]diazepino[6,7,1*hi*] indole], a Novel 5-Hydroxytryptamine 2C Receptor-Selective Agonist with Anorectic Activity. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 313, 862.
- Durand, M., Mormèd, P., & Chaouloff, F. (2003). Wistar-Kyoto rats are sensitive to the hypolocomotor and anxiogenic effects of mCPP. *Behavioural Pharmacology*, 14, 173-177.
- Ferreira, G.F.S. (2005). *Atenuação dos estados de ansiedade em ratos expostos ao labirinto em cruz elevado como efeitos de infusões de um antagonista serotoninérgico no hipocampo ventral*. Tese de Mestrado, Universidade de Brasília, Brasília.
- File, S.E. (1990). One-trial tolerance to the anxiolytic actions of benzodiazepines in the elevated plus-maze. *Psychopharmacology*, 100, 281-291.
- File, S.E. (1992). Behavioural detection of anxiolytic actions. In: Elliot, JM, Heal, D.J, Marsden, C.A *Experimental approaches to anxiety and depression*. London: John Wiley, 25-44.
- File, S.E. (1993). The interplay of learning and anxiety in the elevated plus-maze. *Behavioural Brain Research*, 58, 199-202.
- Fone, K.C.F., Shalders, K., Fox, Z.D., Arthur, R., & Marsden, C.A. (1996). Increased 5-HT_{2C} receptor responsiveness occurs on rearing rats in social isolation. *Psychopharmacology*, 123, 346-352.
- Fozard, R.J.R., & Gray, J.A. (1989) 5-HT_{1C} receptor activation: a key step in the initiation of migraine? *Trends Pharmacol Sci*, 10, 307-309.
- Gibson, E.L., Barnfield, A.M., & Curzon, G. (1994). Evidence that mCPP-induced anxiety in the plus-maze is mediated by postsynaptic 5-HT_{2C} receptors but not by sympathomimetic effects. *Neuropharmacology*, 33, 457-465.

- Glennon, R.A., Dukat, M., & Westkaemper, R.B. (2000). Serotonin receptor subtypes and ligands. Em: Bloom, F.E., & Kupfer, D. J. (Eds.), *Psychopharmacology: the Fourth Generation of Progress American College of Neuropsychopharmacology*. New York: Raven Press. Acessado em 08/03/09, disponível em: <http://www.acnp.org/g4/GN401000039/Ch039.html>.
- Graeff, F.G. (2002). On serotonin and experimental anxiety. *Psychopharmacology*, 163, 467-476.
- Graeff, F.G. (2003). Serotonina, matéria cinzenta periaquedutal e transtorno do pânico. *Revista Brasileira de Psiquiatria*, 25 (Supl. II), 42-45.
- Graeff, F.G. (2004). Serotonin, the periaquedutal Gray and panic. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 28, 239-259.
- Graeff, F. G., & Hetem, L. A. B. (2004). Neurobiologia. Em Hetem, L. A. B., & Graeff, F. G. (Eds.). *Transtornos de ansiedade* (pp. 107-132). São Paulo: Atheneu.
- Griebel, G. (1995). 5-Hydroxytryptamine-interaction drugs in animal models of anxiety disorders: more than 30 years of research. *Pharmacology Ther*, 65, 319-395.
- Griebel, G., Rodgers, R.J., Perrault, G., & Sanger, D.J. (1997). Risk assessment behavior: evolution of utility in the study of 5-HT- related drugs in the rat elevated plus maze test. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 57(4), 817-827.
- Handley, S.L., & Mithani, S. (1984). Effects of alpha-adrenoreceptor agonist in a maze-exploration model of "fear"-motivated behavior. *Nauyn Schmiedeberg's Archives Pharmacology*, 327, 1-5.
- Hannon, J., & Hoyer, D. (2008). Molecular biology of 5-HT receptors. *Behavioural Brain Research*, 195, 198-213.

- Harada, K., Aota, M., Inoue, T., et al. (2006). Anxiolytic activity of a novel potent serotonin 5-HT_{2C} FR260010: A comparison with diazepam and buspirone. *European Journal of Pharmacology*, 553 (1-3), 171-184.
- Hayashi, A., Sonoda, R., Kimura, Y., Takasu, T., Suzuki, M., Sasamata, M., & Miyata, K. (2004). Antiobesity effect of YM348, a novel 5-HT_{2C} receptor agonist, in Zucker rats. *Brain Research*, 1011, 221– 227
- Hayes, D.J., Mosher, T.M., & Greenshaw, A.J. (2008). Differential effects of 5-HT_{2C} receptor activation by WAY-161503 on nicotine-induced place conditioning and locomotor activity in rats. *Behavioural Brain Research*, 1-8.
- Hédou, G., Pryce, C., Di Iorio, L., Heidbreder, C.A., & Feldon, J. (2001). *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 70, 65-76.
- Heisler, L.K., Chu, H.M., & Tecott, L.H. (1998) Epilepsy and obesity in serotonin 5-HT_{2C} receptor mutant mice. *Ann NY Acad Sci*, 861,74–78.
- Higgins, G. & Fletcher, P.J. (2003). Serotonin and drug reward: focus on 5-HT_{2C} receptors. *European Journal of Pharmacology*, 480, 151-162.
- Ho, Y-J., Hsu, L-S., Wang, C-F., Hsu, W-Y., Lai, T-J., Hsu, C-C., & Tsai, Y-F., (2005). Behavioral effects of D-cycloserine in rats: The role of anxiety level. *Brain Research*, 1043, 179-185.
- Holmes,A. & Rodgers, R.J. (1999). Influence of spatial and temporal manipulations on the anxiolytic efficacy of chlordiazepoxide in mice previously exposed to the elevated plus-maze. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 23, 971-980.
- Hoyer, D., Clarke, D.E., Fozard, J.R., Hatin, P.R., Martin, G.R., Mylercharane, E.J., et al., (1994). VII. International Union of Pharmacology classification of receptors for 5-hydroxytryptamine (serotonin). *Pharmacology Reviews*, 46, 157-203.

- Jenck, F., Broekkamp, C.L., & Van Delf, A.M. (1989). Opposite control mediated by central 5-HT_{1A} (5-HT_{1B} or 5-HT_{1C}) receptors on periaqueductal gray aversion. *European Journal of Pharmacology*, 161(2-3), 219-221.
- Jones, N., Duxon, M.S., & King, S.M. (2002). 5-HT_{2C} receptor mediation of unconditioned escape behavior in the unstable elevated exposed plus maze. *Psychopharmacology*, 164, 214-220.
- Kahn, R.S., van Praag, H.M., Wetzler, S., Asnis, G.M., & Barr, G. (1988). Serotonin and anxiety revisited. *Biological Psychiatry*, 23, 189-208.
- Kahn, R.S., Wetzler, S., Asnis, G.M., Papolos, D., & van Praag, H.M. (1990). Serotonin receptor sensitivity in major depression. *Biological Psychiatry*, 28 (4), 358-362.
- Kennett, G.A., & Curzon, G.(1988). Evidence that mCPP may have behavioural effects mediated by central 5-HT_{1C} receptors. *Br. J. Pharmacol.* 94, 137–147.
- Kennett, G. A., Whitton, P., Shah, K., & Curzon, G. (1989) Anxiogenic-like effects of mCPP and TFMPP in animal models are opposed by 5-HT_{1C} receptor antagonists. *European journal of pharmacology*, 164(3):445-454.
- Kennett, G.A., Lightowler, S., Trail, B., Bright, F., & Bromidge, S. (2000). Effects of RO 60 0175, a 5-HT_{2C} receptor agonist, in three animal models of anxiety. *European Journal of Pharmacology*, 397, 197-204.
- Kent, J.M., Mathew, S.J., & Gorman, J.M. (2002). Molecular targets in the treatment of anxiety. *Biological Psychiatry*, 52, 1008-1030.
- Kim, J. & Gorman, J. (2005). The psychobiology of anxiety. *Clinical Neuroscience Research*. 4, 335-347.

- Kimura, Y., Hatanaka, K., Naitou, Y., Maeno, K., Shimada, I., Koakutsu, A., Wanibuchi, F., & Yamaguchi, T. (2004). Pharmacological profile of YM348, a novel, potent and orally active 5-HT_{2C} receptor agonist. *European journal of pharmacology*, 483(1), 37-43.
- Kliethermes, C.L. (2005). Anxiety-like behaviors following chronic ethanol exposure. *Neuroscience and biobehavioral reviews*, 28, 837-850.
- Krishnan, V., & Nestler, E.J. (2008). The molecular neurobiology of depression. *Nature*, 455, 894-902.
- Krishnakumar, A., Abraham, P.M., Paul, J., & Paulose, C.S. (2009). Down-regulation of Down-regulation of cerebellar 5-HT_{2C} receptors in pilocarpine-induced epilepsy in rats: Therapeutic role of Bacopa monnieri extract. *Journal of the Neurological Sciences*, 284, 124–128.
- Kshama, D., Hrishikeshava, K., Shandhoge, R., & Munonyedi, U.S. (1990). Modulation of baseline behavior in rats by putative serotonergic agents in three ethoexperimental paradigms. *Behavioral and Neural Biology*, 54, 234-253.
- Lam, D.D., Przydzial, M.J., Ridley, S.H., Yeo, G.S.H., Rochford, J.J., O’Rahilly, S., & Heisler, L.K. (2008). Serotonin 5-HT_{2C} receptor agonist promotes hypophagia via downstream activation of melanocortin 4 receptors. *Endocrinology*, 149(3),1323–1328.
- LeDoux, J., Iwata, J., Cicchetti, P., & Reis, D. (1988). Different projections of the central amygdaloid nucleus mediate autonomic and behavioral correlates of conditioned fear. *Journal of Neuroscience*, 8(7), 2517-2529.
- Lister, R.G. (1990). Ethologically based animal models of anxiety disorders. *Pharmacology Therapy*, 46, 321-340.

- Lowy, M.T., & Meltzer, H.Y. (1988). Stimulation of cortisol and prolactin secretion in humans by MK-212, a centrally active serotonin agonist. *Biological Psychiatry*, 23, 818-828.
- Lucki, I. (1997). The forced swimming test as a model for core and component behavioral effects of antidepressant drugs. *Behav Pharmacol*, 8,523-532
- Martin, J.R., Bös, M., Jenck, F., Köhler, C., Moreau, J-L., Sleight, A.J., Stacler, H., Wichmann, J. (1995). 5-HT_{2C} receptor agonists and antagonists in animal models of anxiety. *European Neuropsychopharmacology*, 5(3), 209, S-17-5.
- Martin, J.R., Bös, M., Jenck, F., Moreau, J.L., Mutel, V., Sleight, A.J., Wichmann, J., Andrews, J.S., Berendsen, H.H.G., Broekkamp, C.L.E, Ruigt, G.S.F., Köhler, C., & van Delft, A.M.L.(1998). 5-HT_{2C} Receptor Agonists: Pharmacological Characteristics and Therapeutic Potential. *Pharmacology*, 286(2), 913-924.
- Martin, J.R., Ballard, T.M., & Higgins, G.A. (2002). Influence of the 5-HT_{2C} receptor antagonist, SB-242084, in tests of anxiety. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 71, 615–625.
- Masellis, M., Basile,V., Meltzer,H.Y., Lieberman,J.A., Sevy, S., Macciardi,F.M., Cola,P., Howard,A., Badri,F., Nothen, M.M., Kalow, W., & Kennedy, J.L. (1998) Serotonin subtype 2 receptor genes and clinical response to clozapine in schizophrenia patients. *Neuropsychopharmacology*, 19, 123–132.
- McNaughton, N., & Gray, J.A. (2000). Anxiolytic action on the behavioural inhibition system implies multiple types of arousal contribute to anxiety. *Journal of affective disorders*, 61, 161-176.

- Millan, M.J., Peglioni, J-L., Lavielle, G., & Perrin-Monneyron, S. (1997). 5-HT_{2C} receptors mediate penile erections in rats: actions of novel and selective agonists and antagonists. *European Journal of Pharmacology*, *325*, 9-12.
- Millan, M.J. (2003). The neurobiology and control of anxious states. *Progress in Neurobiology*, *70*, 83-244.
- Millan, M.J. (2005). Serotonin 5-HT_{2C} receptors as a target for the treatment of depressive and anxious states: focus on novel therapeutic strategies. *Thérapie*. *60*(5): 441-460.
- Montgomery, K.C. (1955). The relation between fear induced by novel stimulation and exploratory drive. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, *48*(4), 254-260.
- Mora, P.O., Netto, C.F., & Graeff, F.G. (1997). Role of 5-HT_{2A} and 5-HT_{2C} receptor subtypes in the two types of fear generated by the elevated T-Maze. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, *58*, 1051-1057.
- Moore, R.Y., Halaris, A.E., & Jones, B.E. (1978). Serotonin neurons of the midbrain raphe: ascending projections. *Journal of Comparative Neurology*, *180*, 417-438.
- Mosher, T.M., Smith, J.G., & Greenshaw, A.J. (2006). Aversive stimulus properties of the 5-HT_{2C} receptor agonist WAY 161503 in rats. *Neuropharmacology*, *51*, 641-650.
- Murphy, D.L., & Pigott, T.A. (1990). A comparative examination of a role for serotonin in obsessive compulsive disorder, panic disorder, and anxiety. *The Journal of Clinical Psychiatry*, *51*, 53-58 (Suppl. discussion 59-60).
- Nestler, E., Barrot, M., DiLeone, R., Eisch, A., Gold, S., & Monteggia, L. (2002). Neurobiology of Depression. *Neuron*, *34*, 13-25.

- Nogueira, R.L., & Graeff, F.G. (1995). Role of 5-HT receptor subtypes in the modulation of dorsal periaqueductal Gray generated aversion. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 52(1), 1-6.
- Ordway, G.A., Klimek, V., & Mann, J.J. (2002). Neurocircuitry of mood disorders. Em: Davis, K.L., Charney, D., Coyle, J.T., & Nemeroff, C. (Eds.) *Neuropsychopharmacology: the fifth generation of progress*, (pp. 1051-1064). Lippincott Williams & Wilkins.
- Acessado em 08/03/09, disponível em: <http://www.acnp.org/publications/neuro5thgeneration.aspx>
- Ortmann, R. (1984). The 5-HT syndrome in rats as tool for the screening of psychoactive drugs. *Drug Development Research*, 4(6), 593-606.
- Overstreet, D.H., Knapp, D.J., Angel, R.A., Navarro, M., & Breese, G.R. (2006). Reduction in repeated ethanol-withdrawal-induced anxiety-like behavior by site-selective injections of 5-HT_{1A} and 5-HT_{2C} ligands. *Psychopharmacology*, 187, 1-12.
- Pandossio, J.E., Molina, V., & Brandão, M.L. (2000). Prior electrical stimulation of the inferior colliculus sensitizes rats to stress of the elevated plus-maze test. *Behavioural Brain Research*, 109, 19-25.
- Pazos, A., Hoyer, D., & Palacios, J.M. (1984). The binding of serotonergic ligands to the porcine chorioid plexus: characterization of a new type of serotonin recognition site. *Eur. J. Pharmacol*, 106, 539-546.
- 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.
- Peroutka, S.J. (1988). 5-Hidroxytryptamine receptor subtypes. *Annual Reviews Neuroscience*, 11, 45-60.

- Pierucci M, Di Matteo, V., & Esposito, E. (2004). Stimulation of serotonin_{2C} receptors blocks the hyperactivation of midbrain dopamine neurons induced by nicotine administration. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 309, 109–118.
- Pinheiro, G.A., Alves, S.H.S., Murce, P.P., & Cruz, A.P.M. (2002). Envolvimento dos receptores 5-HT da amígdala nos níveis de ansiedade induzidos pela exposição de ratos ao labirinto em cruz elevado. *Psicologia Teoria e Pesquisa*, 18(3), 329-335.
- Pinheiro,S.N., Zangrossi-Jr,H., Del-Bem, H., & Graeff, F.G. (2007). Elevated mazes as animal models of anxiety: Effects of serotonergic agents. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 79, 71-85.
- Phelps. E.A., & LeDoux, J.E. (2005). Contributions of the amygdale to emotion processing: from animal models to human behavior. *Neuron*, 48, 175-187.
- Porsolt, R.D., Pichon, M.Le., & Jalfre, M. (1977). Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments. *Nature*, 266, 730-732.
- Rapport, M.M., Green, A.A., & Page, I.H. (1948). Crystalline serotonin. *Science* 24, 108 (2804), 329-330.
- Redrobe & Bourin (1997). Partial role of 5-HT and 5-HT receptors in the activity of 2 3 antidepressants in the mouse forced swimming test. *European Journal of Pharmacology* 325, 129–135.
- Ressler, K.J., & Mayberg, H.S. (2007). Targeting abnormal neural circuits in mood and anxiety disorders: from the laboratory to the clinic. *Nature Neuroscience*, 10(9), 1116-1124.

- Rodgers, R.J., Cole, J.C., Cobain, M.R., Daly, P., Doran, P.J., Ells, J.R., & Wallis, P. (1992). Anxiogenic-like effects of fluprazine and eltoprazine in the mouse elevated plus-maze: profile comparisons with 8-OH-DPAT, CGS 12066B, TFMPP and mCPP. *Behavioural Pharmacology*, 3, 621-634.
- Rodgers, R.J., & Shepherd, J.K. (1993). Influence of prior maze experience on behavior and response to diazepam in the elevated plus-maze and light/dark tests of anxiety in mice. *Psychopharmacology*, 113,237-242.
- Rodgers, R.J., Johnson, N.J.T., Norton, S.J., & Cole, J.C. (1995). Effects of ritanserin and 1-(2,5-dimethoxy-4-iodophenyl)-2-aminopropane (DOI) in the murine elevated plus-maze test of anxiety: an ethopharmacological study. *Journal of Psychopharmacology*, 9, 38-42.
- Rodgers, R.J., Johnson, N.J., Cole, J.C., Dewar, C.V.; Kidd, G.R., & Kimpson, P.H. (1996). Plus-maze retest profile in mice: importance of initial stages of trail 1 and response to post-trail cholinergic receptor blockade. *Pharmacology, biochemistry, and behavior*, 54(1), 41-50.
- Rosenzweig-Lipson, S., Coupet, J., Dunlop, J. & McGonigle, P. (2000) Antiobesity-like effects of the selective 5-HT_{2C} agonist WAY-161503. *FASEB Journal*, 14, A132.
- Rosenzweig-Lipson,S., Zhang, J., Mazandarani, H., Harrison, B.L., Sabb, A., Sabalski, J., Stack, G., Welmaker, G., Barrett, J.E., & Dunlop, J. (2006). Antiobesity-like effects of the selective 5-HT_{2C} agonist WAY 161503. *Brain Research*, 240-251.
- Rosenzweig-Lipson, S., Sabb, A., Stack, G., Mitchell, P., Lucki, I., Malberg, J.E., Grauer, S., Brennan, J., Cryan, J.F., Rizzo, S.J.S., Dunlop, J., Barret., J.E., & Marquis, K.L. (2007). Antidepressant-like effects of the novel, selective, 5-HT_{2C} receptor agonist WAY-163909 in rodents. *Psychopharmacology*, 192, 159-170.

- Roy, V., Chapillon, P., Jeljeli, M., Caston, J., & Belzung, C. (2009). Free versus forced exposure to an elevated plus-maze: evidence for new behavioral interpretations during test and retest. *Psychopharmacology*, *203*, 131-141.
- Samanin, R., Mennini, T., Ferraris, A., Bendotti, C., Borsini, F., & Garattini, S. (1979). *M*-Chlorophenylpiperazine: A central serotonin agonist causing powerful anorexia in rats. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol*, *308*, 159–163.
- Sanders-Bush, E., & Mayer, S. E. (1996). Agonistas e antagonistas dos receptores da 5-Hidroxitriptamina (serotonina). Em Goodman e Gilman, *As bases farmacológicas da terapêutica*. Ed. McGraw Hill, 6^a ed., pp. 183-194. São Paulo: Lemos Editorial.
- Santos, L.F (2005). *Efeitos ansiogênicos de um novo antagonista serotoninérgico avaliados em dois modelos animais de ansiedade*. Tese de Mestrado, Universidade de Brasília, Brasília.
- Schechter, L.E., Ring, R.H., Beyer, C.E., Hughes, Z.A., Khawaja, X., Malberg, J.E., & Rosenzweig-Lipson, S. (2005). Innovative approaches for the development of antidepressant drugs: current and future strategies. *NeuroRx: The Journal of the American Society for experimental neurotherapeutics*, *2*, 590-611.
- Schimdt, A.W., & Peroutka, S.J.(1989). 5-Hydroxytryptamine receptor "families". *FASEB Journal*, *3*(11), 2242-2249.
- Schreiber, R., & De Vry, J. (2002). Role of 5-HT₂ receptors in the hypophagic effect of m-CPP, ORG 37684 and CP-94,253 in the rat. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*, *26*, 441– 449.
- 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.

- Sharp, T., Boothman, L. Raley, J., & Quéree, P. (2007). Important messages in the 'post': recente discoveries in 5-HT neurone feedback control. *TRENDS in Pharmacological Sciences*, 28(12), 629-636.
- Smith, T., & Suckow, R. (1985). Trazadone and m-chlorophenylpiperazine Concentration in brain and receptor activity in regions in the brain associated with anxiety. *Neuropharmacology*, 24, 1067-1071.
- Treit, D., Menard, J., & Royan, C. (1993). Anxiogenic stimuli in the elevated plus-maze. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 44, 463-469.
- Twarog, B.M., & Page, I.H. (1953). Serotonin content of some mammalian tissues and urine and a method for its determination. *American Journal Physiological*, 175, 157-161.
- Van Bockstaele, E.J., Cestari, D.M., & Pickel V.M. (1994). Synaptic structure and connectivity of serotonin terminals in the ventral tegmental area: potential sites for modulation of mesolimbic dopamine neurons. *Brain Research*, 647, 307-22.
- Walker, E.A., Kohut, S.J., Hass, R.W., Brown Jr., E.K., Prabandham, A., & Lefever, T. (2005). Selective and nonselective serotonin antagonists block the aversive stimulus properties of MK212 and m-chlorophenylpiperazine (mCPP) in mice. *Neuropharmacology*, 49, 1210-1219.
- Wallis, C.J., & Lal, H. (1998). A discriminative stimulus produced by 1-(3-chlorophenyl)-piperazine (mCPP) as a putative animal model of anxiety. *Progress in Neuro-psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 22, 547-565.
- Weiss, S.M., Wadsworth, G., Fletcher, A., & Dourish, D.T. (1998) Utility of ethological analysis to overcome locomotor confounds in elevated maze of anxiety. *Neuroscience Biobehaviour Rev.*, 23, 265-71.

- Welmaker, G., Nelson, J.A., Sabalski, J.e., Sabb, A.L., Potoski, J.R., Graziano, D., Kagan, M., Coupet, J., Dunlop, J., Mazandarani, H., Rosenzweig-Lipson, S., Sukoff, S., & Zhang, Y. (2000). Synthesis and 5-Hydroxytryptamine (5-HT) Activity of 2,3,4,4a-Tetrahydro-1H-pyrazino[1,2-a]quinoxalin-5-(6H)ones and 2, 3, 4, 4a, 5,6- Hexahydro - 1H-pyrazino[1,2a]quinoxalines. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, *10*, 1991-1994.
- Zangrossi-Jr., H., Viann, M.B., Zanoveli, J., Bueno, C., Nogueira, R., & Graeff, F.G. (2001). Serotonergic regulation of inhibitory avoidance and one-way scape in the rat elevated T-maze. *Neuroscience Biobehavior Review*, *25*, 637-645.
- Zifa, E., & Fillion, G. (1992). 5-Hydroxytryptamine receptors. *Pharmacological Reviews*, *44*, 401-458.