

INTRODUÇÃO

Cada um tem sua história, mas todas as pessoas já se depararam com alguma situação de perigo real, como um cachorro feroz em sua direção, um ladrão que colocou o indivíduo sob a mira de uma arma em um beco escuro, um carro que quase nos atropelou ou um avião que deu claros sinais de pane durante uma viagem de férias.

A sensação de medo invade o indivíduo ao mesmo tempo em que o corpo é tomado imediatamente por uma série de reações fisiológicas e comportamentais. O coração dispara, a respiração fica ofegante, as mãos transpiram, as pupilas dilatam-se e a boca seca. Sem que se tenha consciência, o sangue é redistribuído da pele e das vísceras para os músculos e o cérebro, bem como a capacidade de perceber dor diminui. Tudo isso tem apenas uma finalidade: preparação para fuga ou luta. Dependendo da situação, pode-se, ainda, ficar totalmente paralisado.

Essa experiência pode ser tão marcante que a simples ideia de passar novamente por aquele beco, cruzar com um cachorro ou entrar em um avião para uma nova viagem seja motivo de grande apreensão, mesmo sem um perigo real que justifique esse sentimento. Algumas pessoas chegam até mesmo a evitar qualquer contato com situação semelhante.

Enquanto o medo é a emoção que se dá na presença de um perigo real, a sensação subjetiva de inquietude e apreensão, vivenciada em situações onde o perigo é apenas vago e potencial, é chamada de ansiedade. Sua finalidade também é preparar o organismo para uma possível situação de enfrentamento. No entanto, dependendo da intensidade, da frequência e do contexto no qual é apresentada, pode adquirir papel desajustador.

Ao longo das décadas, diversos modelos animais foram desenvolvidos e padronizados para o estudo experimental da ansiedade em humanos. Ainda que não seja possível assegu-

rar que animais não humanos compartilhem das mesmas sensações subjetivas de ansiedade que os seres humanos, parece existir uma correspondência muito grande entre as espécies em relação aos mecanismos neurais e funções comportamentais subjacentes a essa emoção, desde a percepção de situações sinalizadoras de um perigo em potencial até a organização das reações de defesa. Entre os mamíferos, essa correspondência é ainda maior.

Como comparação, existem mais modelos animais de ansiedade do que para qualquer outra função psicológica estudada experimentalmente em humanos. Eles são amplamente utilizados na investigação pré-clínica de novas drogas ansiolíticas, na avaliação fisiológica do mecanismo de ação dessas drogas, no teste empírico de hipóteses comportamentais e fisiopatológicas relacionadas aos transtornos de ansiedade em humanos, bem como no mapeamento da circuitaria neural que regula as reações de defesa frente a situações de perigo em potencial.¹

A antecipação de uma situação de perigo no ambiente tem início com processos perceptuais mediados por duas classes de estímulos. A primeira sinaliza de forma inata para todos os membros de determinada espécie animal algum grau de ameaça no ambiente. É o que permite que ratos de laboratório, por exemplo, sejam capazes de reconhecer perigo potencial ao detectarem o odor de um gato, mesmo sem nunca terem tido nenhuma experiência anterior com o felino. São, pois, estímulos que sinalizam perigo e deflagram reações de defesa, independentemente de qualquer aprendizagem prévia.

A segunda classe compreende estímulos que passam a sinalizar perigo em potencial como efeito de processos de aprendizagem. Decorrem, pois, da interação do organismo com o meio ambiente. Por exemplo, estímulos inócuos para ratos, como sons ou luzes de baixa intensidade, podem se tornar estímulos sinalizadores de perigo para determinado rato caso esses estímulos sejam associados à presença de um gato ou outras formas de estímulo aversivo. Após a aquisição dessa forma de aprendizagem, denominada condicionamento clássico,² o animal passa então a reagir defensivamente na presença do novo estímulo.

Essas duas classes de estímulos, as que sinalizam perigo em potencial de maneira inata, independente de aprendizagem, e as que o fazem por meio de processos de aprendizagem, mediada pelo condicionamento clássico, compartilham as mesmas finalidades: sinalizar e antecipar para o organismo alguma situação de perigo potencial no ambiente e deflagrar reações de defesa compatíveis. Os modelos animais de ansiedade fundamentam-se justamente na manipulação experimental desses estímulos e na observação consecutiva das reações comportamentais e fisiológicas decorrentes.

MODELOS ANIMAIS DE ANSIEDADE

Na ciência experimental, modelo é qualquer representação de um fenômeno complexo em uma forma mais simples. A partir dessa perspectiva, é possível simular um fenômeno ainda desconhecido por meio de sistemas conhecidos. Como todo modelo é uma simplificação da realidade, sabe-se que apresenta limitações. Entretanto, possuem grande valor

heurístico, uma vez que permitem testar hipóteses a partir de um conjunto de conhecimentos produzido acerca dessa realidade. Ou seja, o avanço na compressão de um fenômeno complexo se dá por meio de pequenos passos, tendo sempre em suas primeiras etapas a simulação do fenômeno em condições mais simples.

Nas ciências biológicas, Claude Bernard foi o primeiro, ainda em meados do século XIX, a empregar modelos animais com a finalidade de estudar experimentalmente reações fisiológicas humanas. Desde então os modelos animais jamais deixaram de ser empregados nos mais variados ramos da ciência. Na psicologia, o interesse pelo estudo do comportamento animal surgiu com o behaviorismo. Mais tarde, esses modelos foram incorporados a diversas áreas do conhecimento com objetivo de investigar diferentes aspectos do comportamento humano.

Os modelos animais de ansiedade procuram reproduzir uma situação ambiental de provável ocorrência de diferentes formas de aversão ou desconforto. Geralmente isso é feito expondo-se animais a:

- Ambientes novos ou potencialmente perigosos.
- Estímulos ou contextos associados a estímulos nociceptivos moderados.
- Situações sinalizadoras da presença de um predador natural.
- Confrontos iminentes com animais da mesma espécie.

Os padrões comportamentais e as reações fisiológicas ativadas em decorrência do contato com essas fontes sinalizadoras de perigo em potencial são utilizados como medidas de ansiedade e geralmente apresentam grande correspondência com as medidas de ansiedade em humanos.³

Em uma perspectiva experimental, a situação ambiental aversiva representa a variável independente, uma vez que essas situações são manipuladas pelo experimentador. Já as reações comportamentais e fisiológicas decorrentes representam a variável dependente, pois são registradas e analisadas de forma adequada com objetivo de investigar a existência ou não de uma relação de causa e efeito entre as duas variáveis.¹

Os primeiros modelos animais de ansiedade surgiram a partir de pequenos ajustes de procedimentos de aprendizagem associativa consagrados pelo behaviorismo para avaliar o potencial terapêutico de drogas ansiolíticas. Sob a influência da etologia,^{4,5} modelos animais de ansiedade fundamentados em reações de defesa frente a estímulos ou situações naturalmente aversivas passaram também a ocupar um lugar de destaque no estudo experimental da ansiedade. Incorporando esse princípio às vantagens oferecidas pelo método experimental, essa abordagem passou a ser chamada análise etoexperimental e, posteriormente, análise etofarmacológica da ansiedade, uma vez que envolvia a manipulação de fármacos.^{6,7} Entre alguns dos modelos mais importantes balizados nessa abordagem estão:

- Campo aberto.
- Interação social em ratos.

- Vocalização ultrassônica.
- Transição claro-escuro.
- Interação presa-predador.
- Ocultação defensiva condicionada.
- Labirinto em cruz elevado.
- Labirinto em “T” elevado.

Como a manipulação experimental desses modelos não envolve treinos associativos, o efeito de drogas ou variáveis neurobiológicas sobre a ansiedade não se sobrepõe a outras funções psicológicas, como aprendizagem e memória, por exemplo.

Com base no tipo de variável independente manipulada experimentalmente para induzir ansiedade, os modelos animais de ansiedade podem ser classificados em duas grandes categorias: modelos de aprendizagem associativa e modelos etologicamente fundamentados. Não se enquadram nessas duas categorias alguns modelos que induzem reações de defesa diretamente por meio da estimulação, elétrica ou química, de estruturas encefálicas que integram a circuitaria neural subjacente à ansiedade.

Todos esses modelos sempre estiveram *pari passu* com o processo de avaliação de drogas psicotrópicas com propriedades ansiolíticas. Este é um dos principais critérios usados na validação dos modelos animais de ansiedade. Assim, antes de apresentar cada modelo e suas características metodológicas, faz-se necessário entender como os modelos são validados.

CRITÉRIOS DE VALIDAÇÃO

Um modelo animal de ansiedade deve atender satisfatoriamente a pelo menos um de três critérios de validação: previsibilidade, semelhança e homologia.³

A previsibilidade da resposta farmacológica é avaliada a partir da correspondência entre os efeitos clínicos de uma droga em seres humanos e o modelo animal. Se uma droga apresenta comprovado efeito ansiolítico na clínica, ela deve produzir o mesmo efeito no comportamento definido operacionalmente como ansiedade no modelo animal. De forma complementar, se uma droga eleva os níveis de ansiedade em humanos, também deve fazer o mesmo no modelo animal. A partir desse referencial, espera-se que uma nova droga selecionada com potencial ansiolítico no modelo animal apresente também propriedades ansiolíticas quando testada clinicamente. Em todos os casos, a potência relativa dos efeitos em humanos e no modelo animal deve ser correspondente.

O critério de semelhança de um modelo animal de ansiedade considera o grau de similaridade fenomenológica entre a ansiedade humana e o comportamento definido operacionalmente como ansiedade no modelo. Nem sempre é um critério atendido de forma plena, fato que não inviabiliza necessariamente um modelo, que pode apresentar pouca ou nenhuma semelhança, mas apresentar alta previsibilidade da resposta farmacológica. Nas pesquisas para seleção de novos compostos ansiolíticos, por exemplo, o alvo acaba sendo a

previsibilidade da resposta farmacológica, de maneira que pouca atenção é dada ao grau de semelhança do modelo.

Os critérios de previsibilidade da resposta farmacológica e semelhança comunicam-se reciprocamente com o critério de homologia ou validade teórica. Este pressupõe que os mesmos processos psicobiológicos relacionados à etiologia e à fisiopatologia dos sintomas clínicos, em humanos, atuam também no modelo animal.

Mas são realmente os modelos animais de ansiedade bons modelos de transtornos de ansiedade? De fato, analogias entre transtornos de ansiedade e modelos animais têm sido aventadas, mas devem ser transpostas com extrema cautela. Primeiramente porque os transtornos de ansiedade – fobia simples, fobia social, transtorno de pânico com ou sem agorafobia, ansiedade generalizada, transtorno de estresse pós-traumático e transtorno obsessivo compulsivo⁸ – são psicopatologias marcadas por reações desproporcionalmente elevadas, descontextualizadas e/ou desajustadas, enquanto os comportamentos observados nos modelos animais refletem, enquanto variáveis dependentes, reações adaptativas de defesa frente aos estímulos sinalizadores de perigo em potencial. Além disso, um modelo pode, eventualmente, ser capaz até mesmo de simular determinado sintoma de ansiedade, mas não necessariamente outros sintomas que compõem o quadro clínico.

MODELOS ASSOCIATIVOS DE ANSIEDADE

Teste de conflito

Este modelo foi um dos mais utilizados para o teste de drogas ansiolíticas. No procedimento típico,⁹ uma resposta operante, como a de pressionar a barra para os ratos, ou a de bicar um disco para os pombos, é ao mesmo tempo reforçada e punida. Os animais são inicialmente expostos a uma contingência de reforçamento positivo sob esquema de intervalo variável. Essa fase é seguida por curto período de *time-out*, durante o qual nenhuma resposta é contingenciada por reforço. Já com uma resposta operante estabelecida, essa passa a ser simultaneamente seguida de um reforço positivo (água ou alimento) e punida pela liberação contingente de choques elétricos no assoalho da caixa experimental onde ocorre o processo de aprendizagem. Esse período de conflito é sinalizado por um estímulo luminoso ou sonoro. Essa situação gera um conflito do tipo aproximação-esquiva (evitação), resultando na redução da frequência do comportamento que antes era somente reforçado positivamente.

Desde a demonstração de que ansiolíticos benzodiazepínicos aumentavam a taxa de resposta no componente punido, esse efeito anticonflito passou a ser entendido como um efeito ansiolítico. Drogas não ansiolíticas, incluindo antipsicóticos, analgésicos, antidepressivos e psicoestimulantes, não interferem na taxa de resposta no componente punido.

Foi exatamente nesse modelo animal que as primeiras evidências do papel da serotonina na ansiedade foram coletadas. No final da década de 1960, já se sabia que os benzo-

diazepínicos liberavam o comportamento suprimido pelo conflito, em ratos e pombos, em doses correspondentes às utilizadas clinicamente. Em seguida, demonstrou-se que drogas que diminuía a ação da serotonina (5-HT) no cérebro apresentavam efeito anticonflito semelhante aos benzodiazepínicos.^{10,11}

Um aspecto curioso é que pombos, justamente a espécie utilizada em um desses estudos¹¹ são mais sensíveis do que ratos aos efeitos de manipulações serotoninérgicas nesse modelo. Se ratos tivessem sido empregados no lugar de pombos nesses estudos, talvez as primeiras evidências comportamentais do papel da serotonina na ansiedade não tivessem sido obtidas. Cabe ainda ressaltar a dificuldade de se demonstrar efeitos ansiogênicos nesse modelo.

O modelo apresenta certo grau de semelhança com situações encontradas na vida cotidiana de seres humanos, pois representa uma situação de conflito, um dos principais aspectos envolvidos na ansiedade em humanos. No entanto, mesmo apresentando alta previsibilidade da resposta farmacológica para drogas benzodiazepínicas e previsibilidade intermediária para agonistas e antagonistas 5-HT₂, o fato de a buspirona e outros agentes serotoninérgicos não apresentarem resultados consistentes nesse modelo prejudica sua previsibilidade farmacológica. Soma-se a isso o fato desse modelo exigir dias de treino para a execução. Por essa razão, seu emprego para a seleção de drogas decaiu nos últimos anos.

Supressão condicionada

Também denominada resposta emocional condicionada, o teste de supressão condicionada foi inicialmente desenvolvido por Estes e Skinner.¹² Neste procedimento, ratos privados de água ou alimento são inicialmente treinados em uma tarefa operante, como pressionar uma barra para obter um estímulo reforçador de forma intermitente. Após a estabilização da resposta operante é iniciada a segunda fase, na qual ocorre uma aprendizagem associativa. Um estímulo neutro, como luz ou o som, indica a ocorrência futura de um choque elétrico. Após a fase de treino associativo, o animal retorna à condição operante e o estímulo neutro, agora associado ao choque elétrico. Uma variação desse procedimento consiste em medir o efeito do estímulo frente a uma resposta consumatória, por exemplo, a resposta de lambe um tubo com água que um rato com sede pode apresentar.

A aprendizagem aversiva é avaliada por meio de um índice de supressão de acordo com a seguinte fórmula: $[a / (a + b)]$, em que “a” representa o número de respostas na presença do estímulo associado ao choque elétrico e “b” indica o número de respostas no período precedente ao início desse estímulo. Um índice de supressão igual a 0,5 indica que o estímulo neutro ainda não adquiriu qualquer propriedade aversiva; ou seja, a quantidade de respostas durante os períodos “a” e “b” é igual e, portanto, não houve nenhuma supressão da resposta durante a presença do estímulo condicionado. Quanto maior a propriedade aversiva desse estímulo menor é o índice de supressão. Um índice igual a zero indica supressão máxima (ausência de respostas) durante a presença do estímulo associado ao choque elétrico.

Embora vários relatos indiquem que drogas ansiolíticas em geral tenham a capacidade de aliviar o efeito supressor do estímulo condicionado, o modelo não se mostra seletivo para esses compostos.¹³

Respostas de esquiwa

A resposta de esquiwa envolve a aquisição de um comportamento que adia a ocorrência de um evento aversivo futuro. Existem duas formas desse tipo de aprendizagem: esquiwa ativa e passiva ou inibitória. Em ambas as situações, o animal necessita executar (esquiwa ativa) ou suprimir (esquiwa passiva) uma resposta para evitar um evento aversivo que estava programado para ocorrer.

Esquiwa ativa

O procedimento da esquiwa ativa possui inúmeras variações. Em um dos primeiros estudos, Mowrer e Lamoreaux¹⁴ empregaram uma *shuttle-box*, também conhecida por caixa de alternância ou caixa de vai-e-vem. Esta é dividida em dois compartimentos iguais, separados por uma barreira na qual o animal deve saltar para atravessar de um compartimento para o outro. Variações nesse tipo de caixa utilizam uma porta em vez de uma barreira.¹⁵⁻¹⁶ Choques nas patas podem ser acontecer no assoalho da caixa, enquanto uma luz ou um som podem servir como estímulos de alerta. Nesse procedimento, o animal é colocado em um dos compartimentos da caixa e depois de determinado período o estímulo de alerta é apresentado. Quando isso ocorre, o animal deve ir para o outro compartimento antes da ocorrência de um choque elétrico nas patas. Após curto período, o sinal de alerta é apresentado novamente, e o animal deve retornar ao compartimento original para evitar o evento aversivo. Por esse motivo, essa resposta é também denominada esquiwa de duas vias.

Se o animal não passar de um dos compartimentos para o outro, continuará tomando o choque elétrico até que vá para o outro compartimento, fugindo assim da estimulação aversiva. Portanto, em cada tentativa, o início do estímulo de alerta precede o choque elétrico. Uma resposta de esquiwa durante o estímulo de alerta cessa imediatamente esse estímulo e adia o choque. Via de regra, nas primeiras tentativas, o animal tenta cruzar apenas com o choque, caracterizando um comportamento de fuga. Após diversas tentativas, ele passa a emitir a resposta de cruzar de um compartimento para o outro na presença do estímulo que antecede o choque elétrico, caracterizando uma resposta de esquiwa de duas vias.

A aquisição da resposta de esquiwa de duas vias exige longo treinamento (geralmente mais de 100 tentativas) graças à complexidade desse tipo de aprendizagem. O procedimento envolve uma situação de conflito, dado que ambos os compartimentos adquirem propriedades aversivas por causa dos choques.

Essa característica da esquiwa ativa de duas vias pode ser solucionada utilizando-se outro modelo de esquiwa, denominado esquiwa ativa de uma via. Nesse paradigma, o animal

é sempre colocado no mesmo compartimento onde acontecem o estímulo de alerta e o choque elétrico. No outro compartimento, nenhum desses estímulos ocorre. Uma resposta de esquiva é definida quando o animal se desloca do compartimento de perigo para o compartimento seguro na presença do estímulo de alerta. Uma resposta de fuga, por sua vez, é definida quando a resposta de cruzar de um lado para o outro da caixa de vai-e-vem ocorre na presença do choque elétrico. Embora a aquisição da resposta de esquiva de uma via seja bem mais rápida, esse paradigma envolve variáveis estranhas, uma vez que é necessário manipular o animal do compartimento seguro para o compartimento de perigo.

Apesar do grau de semelhança e do poder de homologia relativamente altos desses modelos, especialmente quando se refere a transtornos fóbicos, os efeitos de ansiolíticos, incluindo benzodiazepínicos e agentes serotoninérgicos, são altamente contraditórios. De fato, mais do que modelos animais de ansiedade, os paradigmas de esquiva ativa de duas vias, ou mesmo o de uma via, têm sido mais frequentemente utilizados para estudo de processos de aprendizagem e memória.

Esquiva passiva

A resposta de esquiva passiva é um processo de aprendizagem rápido que envolve uma sessão de treino e outra de teste.^{17,18} Como envolve um processo de aprendizagem em que uma resposta deve ser inibida, esse tipo de esquiva também é chamada esquiva inibitória. Esse paradigma apresenta duas variações: inibição do comportamento de descida de uma plataforma (*step-down avoidance*) e inibição do comportamento de cruzar dois compartimentos (*step-trough*). No caso da esquiva inibitória da descida da plataforma, o animal é colocado em uma pequena plataforma localizada cerca de 4 a 8 cm acima de um assoalho que pode ser eletrificado. Quando o animal coloca as quatro patas no assoalho, um pequeno choque elétrico é liberado. Na sessão de teste, o animal é recolocado na plataforma e a latência para descer é registrada e comparada com a latência de descida durante o treino.

No caso da esquiva inibitória da resposta de cruzamento, o animal é colocado em um compartimento muito iluminado e a latência da resposta de sair deste compartimento em direção a outro, adjacente escuro, uma tendência natural de roedores, é registrada. Depois de entrar no compartimento escuro, o animal recebe um choque elétrico. Durante a sessão de teste, em geral, 24 horas após a sessão de treinamento, o animal é recolocado no compartimento iluminado e a latência para entrar no compartimento escuro é novamente registrada.

A aprendizagem aversiva em ambos os paradigmas é avaliada comparando-se as latências do treino e do teste. Animais com mais ansiedade apresentam maior latência durante o teste em relação ao treino, premissa corroborada por resultados farmacológicos. Benzodiazepínicos e vários compostos serotoninérgicos com propriedades ansiolíticas prejudicam o desempenho de esquiva passiva.¹⁸

Sobressalto intensificado pelo medo

A resposta de sobressalto (*startle*) intensificada pelo medo envolve uma fase de treino e outra de teste.¹⁹ Durante o treino, metade dos animais é submetida a apresentações contingentes de dois estímulos, uma luz seguida de um choque elétrico, enquanto a outra metade é submetida a apresentações não contingentes dos mesmos estímulos. Durante o teste, os grupos são então expostos a som com alta intensidade (por exemplo, 110 dB), o que produz uma resposta reflexa de sobressalto, cuja magnitude é medida por meio de um aparelho denominado estabilímetro. Apenas metade da apresentação dos estímulos sonoros é precedida por um estímulo luminoso. Os animais do grupo experimental que aprenderam a associação entre a luz e o choque elétrico apresentam a resposta de sobressalto induzida pelo som intensificada pela luz. A amplificação da resposta de sobressalto na presença da luz é interpretada como o efeito ansiogênico desse modelo.

Diversos ansiolíticos, incluindo benzodiazepínicos e compostos serotoninérgicos, atenuam a magnitude da resposta de sobressalto ao som intensificado pela luz, sem provocar alteração no padrão da resposta de sobressalto produzido pela apresentação do estímulo sonoro sozinho. O modelo também tem se mostrado relativamente útil na detecção de efeitos ansiogênicos.^{20,21}

O modelo apresenta alta previsibilidade de resposta farmacológica para ansiolíticos benzodiazepínicos e serotoninérgicos, porém pouca semelhança e moderado grau de homologia com as teorias de ansiedade. Como desvantagens, além do estabilímetro ser altamente sensível e sujeito a variações, o procedimento demanda grandes sessões de treino e teste.

Resposta condicionada de congelamento

Define-se congelamento (*freezing*) como a postura de agachamento²⁰ quando há ausência total de movimentos aparentes, exceto os responsáveis pela respiração.^{21,22} Essa resposta é uma reação de defesa eficiente, uma vez que predadores têm dificuldade em detectar uma presa imóvel, e o movimento representa um estímulo que desencadeia a resposta de ataque do predador.²³ O congelamento é considerado uma resposta incondicionada quando provocado por uma situação ameaçadora inata. Por exemplo, ratos congelam quando expostos a predadores naturais, como gatos.²⁴ Congelamento também é considerado uma resposta condicionada quando produzido por uma situação de perigo aprendida. O condicionamento contextual aversivo representa uma das formas mais simples e rápidas de produzir esse tipo de aprendizagem. Nesse procedimento, um rato é exposto a um novo contexto e, depois de alguns minutos, um choque elétrico nas patas é apresentado. Quando o animal retorna ao mesmo contexto, na ausência do choque elétrico, ele apresenta uma resposta de congelamento, geralmente próximo a um objeto, como na esquina da caixa ou em contato com uma das paredes (tigmotaxia, ou tendência para fazer contato com objetos).

Vários estudos mostram que a resposta de congelamento representa uma das principais medidas de condicionamento contextual aversivo. Existe uma relação direta entre a intensidade do choque elétrico e a quantidade de resposta de congelamento do animal frente a estímulos associados ao choque elétrico.²⁵ É necessário também que exista uma associação entre os estímulos contextuais e o choque elétrico.²⁶ Por exemplo, quando o choque elétrico é apresentado simultaneamente com a colocação do animal na caixa experimental, não se observa nenhum condicionamento contextual aversivo. O que torna a resposta de congelamento um índice muito atraente é o fato de que o estado emocional do animal pode ser avaliado diretamente, sem nenhuma forma de privação de alimento, água ou qualquer outra forma de aquisição de resposta operante.

Ansiolíticos benzodiazepínicos, tais como midazolam e diazepam,²⁷ assim como agonistas do receptor 5-HT_{1A}, como a ipsapirona,²⁸ ou inibidores da recaptção da serotonina, incluindo citalopram e fluoxetina,²⁹ reduzem o congelamento condicionado frente a estímulos contextuais previamente associados a choques elétricos. Por outro lado, compostos ansiogênicos, tais como o agonista benzodiazepínico inverso dimetoxi-beta-carbolina, produzem comportamento semelhante ao congelamento provocado pelo condicionamento contextual aversivo.³⁰

A resposta de congelamento também pode ser empregada para avaliar o condicionamento aversivo a um estímulo discreto, por exemplo, uma luz ou um som.²⁵ Nesse caso, a associação entre o estímulo discreto e o choque elétrico ocorre em determinado contexto. Consequentemente, tanto o estímulo discreto quanto os estímulos contextuais ficam associados ao choque elétrico. Por essa razão, o condicionamento aversivo ao estímulo discreto deve ser avaliado em contexto diferente, e deve-se verificar antes do teste se o novo contexto apresenta alguma característica aversiva.³¹

Finalmente, conforme ilustrado mais adiante, a resposta de congelamento também pode ser provocada pela estimulação elétrica da matéria cinzenta periaquedutal.

MODELOS ETOLÓGICOS DE ANSIEDADE

Campo aberto

O teste do campo aberto é realizado em uma arena circular ou quadrada cercada por paredes de forma que o animal não possa fugir. O assoalho é marcado com pequenos quadrados, o que permite a quantificação da atividade locomotora do animal. Esse teste foi desenvolvido por Hall,⁴ sugerindo que a defecação é a atividade motora do animal no campo aberto como indicadora de seu estado emocional. Alta defecação e baixa atividade locomotora indicariam a ansiedade do animal. Pode-se também utilizar a atividade locomotora do animal no centro do campo aberto como medida da mais seletiva de ansiedade, enquanto a atividade locomotora na periferia do aparato como um indicador da atividade locomotora do animal. O efeito de drogas ansiolíticas tem sido amplamente demonstrado nesse modelo.

Interação social

Inicialmente desenvolvido por File e Hyde,³² o teste de interação social baseia-se nos diferentes comportamentos que pares de ratos machos realizam em uma arena iluminada. A frequência e o tempo gasto pelo par de machos em diferentes tipos de interação social pode ser classificada em duas categorias: comportamentos agressivos (por exemplo, agarrar, chutar, boxear ou morder) e comportamentos não agressivos (por exemplo, cheirar e comportamentos de limpeza da face). Durante o teste, observa-se apenas o comportamento de um dos animais. Nesse teste, ambos os animais são colocados em uma arena com o assoalho marcado em quadrados de forma que se possa quantificar a atividade motora do animal. Ambos os animais são individualmente aclimatados à arena, pelo menos um dia antes do teste. O aumento na interação social sem o aumento concomitante na atividade motora é um indicador de efeito ansiolítico. Ansiolíticos benzodiazepínicos e serotoninérgicos aumentam a interação social, enquanto drogas ansiogênicas promovem efeito oposto. O modelo também possui boa seletividade, uma vez que agentes não ansiolíticos não alteram a interação social.

Vocalização ultrassônica em roedores

Filhotes de ratos produzem vocalizações ultrassônicas quando separados de suas mães e irmãos.³³ Essa vocalização, que tem a capacidade de desencadear um comportamento de busca da mãe, caracteriza-se por frequências que variam entre 30 e 90 kHz, com uma duração de 1 a 20 ms e intensidade de 60 a 100 dB. Nesse paradigma, quando um rato filhote entre 4 a 16 dias de idade é separado de sua mãe e irmãos por um breve período, costuma emitir uma vocalização de 40 kHz. O teste pode ser realizado em duas condições distintas. Os filhotes são colocados em isolamento em ambiente quente (37°C) ou frio (18°C) por cinco minutos. O número total e a duração das vocalizações ultrassônicas emitidas pelos filhotes durante este período são utilizados como índice de ansiedade. Compostos ansiolíticos benzodiazepínicos diminuem a frequência de emissões dessas vocalizações, porém, os resultados com drogas serotoninérgicas e agentes ansiogênicos são contraditórios e comprometem a previsibilidade da resposta farmacológica do modelo.

Transição claro-escuro

O modelo de transição claro-escuro foi inicialmente descrito por Crawley e Goodwin³⁴ para investigar as propriedades ansiolíticas de determinadas drogas. O modelo baseia-se na aversão inata que os roedores têm por áreas iluminadas. O instrumento consiste em uma caixa com dois compartimentos iguais, conectados por uma pequena porta. Um compartimento é iluminado e o outro escuro. Coloca-se o animal no compartimento escuro e vários parâmetros, tais como a distância percorrida em cada compartimento da caixa, o número

total de transições entre o compartimento claro e escuro, a latência para entrar em cada um dos compartimentos e o tempo gasto em cada compartimento, podem ser medidos. O número total de transições parece ser um índice de atividade locomotora, ao passo que o aumento seletivo no número de transições do ambiente escuro para o claro, bem como o maior tempo de permanência nesse último, é tido como índice de atividade ansiolítica. Os efeitos ansiolíticos dos benzodiazepínicos e de agonistas dos receptores 5-HT_{1A} já foram detectadas nesse modelo animal.³⁵

Interação presa-predador

Animais, em seu ambiente natural, coabitam com predadores. Graças ao processo de seleção natural, estímulos olfativos, sonoros ou visuais de predadores evocam na presa, de forma inata, comportamentos de defesa. Um dos modelos mais conhecidos que utiliza a interação presa-predador foi desenvolvido pelo casal Blanchard.⁶ Nesse modelo, existem três testes bem definidos. Em um deles, ratos selvagens são expostos a estímulos inatos sinalizadores de ameaça em potencial, como o odor de um gato ou exploração de um ambiente previamente frequentado por um gato. Nos outros dois testes, esses animais são expostos a diferentes tipos de estímulos de perigo real ou potencial, variando-se à proximidade do predador em condição distante (estímulo distal) ou muito próximo à presa (estímulo proximal).

Enquanto o teste que avalia o perigo em potencial está associado à ansiedade, os outros dois estão relacionados ao medo e ao pânico, respectivamente. A partir desse modelo, formulou-se um conceito de três níveis de defesa.

- Primeiro nível: quando a ameaça é apenas potencial, os ratos tendem a apresentar um padrão de avaliação de risco, predominando comportamentos de hesitação e exploração cautelosa.
- Segundo nível: a ameaça é real, porém suficientemente distante para não permitir um ataque, o animal tende, quando não há uma rota de fuga, a restringir seu comportamento e permanecer imóvel, adotando uma postura de congelamento.
- Terceiro nível: em que a ameaça é real e proximal, predominando ações direcionadas à fuga ou à luta.

De acordo com a previsão farmacológica que valida o modelo, ansiolíticos benzodiazepínicos diminuem os comportamentos relacionados à ansiedade, mas não alteram as reações associadas ao medo (estímulos de perigo distal) e ao pânico (estímulo de perigo proximal). Os resultados com drogas potencialmente ansiolíticas que atuam como antagonistas 5-HT₂, têm sido, contudo, contraditórios. Outro problema associado ao uso desse modelo é que poucos laboratórios possuem condições de replicar o procedimento experimental nas condições em que foram padronizados.

Ocultação defensiva condicionada

Desenvolvido por Pinel e Treit,³⁶ este modelo manipula a tendência natural que ratos apresentam para enterrar em suas gaiolas um objeto que adquiriram por aprendizagem associativas, propriedades aversivas. Este comportamento de ocultação é tido como uma resposta defensiva de roedores e pode ocorrer em situações nas quais exista longo intervalo entre o momento da aprendizagem associativa, quando o objeto adquire propriedades aversivas, e a condição de teste em que o animal é exposto a esse objeto. Objetos pontiagudos associados a choques elétricos têm sido utilizados.

A redução da frequência do comportamento de ocultação é interpretada como um efeito ansiolítico. Ansiolíticos benzodiazepínicos, mas não serotoninérgicos, atenuam esse comportamento, enquanto drogas não ansiolíticas não produzem efeito algum. O modelo não apresenta medida satisfatória de atividade locomotora do animal e seu grau de semelhança a situações clínicas é bastante limitado.

Labirinto em cruz elevado

Atualmente, o labirinto em cruz elevado figura entre os modelos animais de ansiedade mais utilizados para o estudo experimental de drogas ansiolíticas. Desenvolvido por Handley e Mithani³⁷ e posteriormente validado farmacológica, fisiológica e comportamentalmente por Pellow et al.,³⁸ o modelo explora o conflito entre a tendência natural de roedores de explorar ambientes novos e a aversão o medo natural que ratos apresentam a altura e espaços abertos.

O instrumento consiste em quatro braços, sendo dois abertos e dois outros envolvidos por paredes laterais. Os braços são dispostos perpendicularmente uns aos outros, formando uma cruz, e são elevados alguns centímetros (geralmente 40 ou 50 cm) do solo. O arranjo dos braços permite que os animais percebam simultaneamente o precipício e o espaço aberto. Nessa situação, os animais exploram mais os braços fechados que os abertos. A tendência de evitar os braços abertos se deve mais ao espaço aberto do que à altura.

O procedimento-padrão consiste em expor livremente os animais por 5 minutos ao labirinto. As porcentagens de entrada e tempo gasto nos braços abertos representam indicadores de ansiedade. Já o total de entradas nos braços fechados, ou o número absoluto de entradas nos braços fechados,^{37,39} são empregados como índice de atividade locomotora. Ansiolíticos benzodiazepínicos aumentam as porcentagens de entrada e tempo gasto nos braços abertos, enquanto drogas ansiogênicas promovem efeito oposto. Esses índices clássicos de ansiedade no modelo são, contudo, sensíveis a drogas serotoninérgicas. Por exemplo, a buspirona não apresenta nenhum efeito ansiolítico nesse modelo ou, paradoxalmente, apresenta efeitos ansiogênicos sobre os índices de exploração nos braços abertos. O mesmo padrão de resultados inconsistentes tem sido observado com agonistas e antagonistas 5-HT₂.

Mais recentemente, outras medidas de ansiedade foram incorporadas às medidas clássicas de locomoção e ansiedade no modelo.³⁹ Esses indicadores se mostram mais sensíveis

para detectar tanto efeito ansiolítico quanto ansiogênico de drogas serotoninérgicas. Ainda assim, comparativamente aos benzodiazepínicos, os resultados são bastante contraditórios para esses compostos.³⁹⁻⁴¹

Labirinto em "T" elevado

Baseado em um princípio semelhante ao do labirinto em cruz elevado, este modelo explora a aversão inata que ratos e camundongos apresentam a espaços abertos e altos.⁴² Ao contrário do labirinto em cruz elevado, o labirinto em "T" avalia dois comportamentos de defesa distintos: fuga e esquiva. O instrumento apresenta três braços de dimensões iguais, suspensos a 50 cm do chão. Um dos braços é fechado por paredes laterais e os outros dois são abertos, os braços são dispostos de maneira a formar um "T". O procedimento envolve duas etapas. Inicialmente, o rato é exposto ao braço fechado do labirinto e recebe treinos em tarefa de esquiva inibitória, na qual passa a evitar os braços abertos. Esse comportamento está relacionado à ansiedade diante de um perigo em potencial e é medido pelo aumento da latência que o animal leva para sair do braço fechado ao longo de três tentativas. Na segunda etapa, o mesmo animal é colocado na extremidade de um dos braços abertos, registrando-se a latência da resposta de sair desses braços. Essa última resposta é definida como fuga.

Tem sido sugerido que a resposta de esquiva inibitória está associada ao transtorno de ansiedade generalizada e à resposta de fuga com o pânico. Essa ideia tem sido corroborada pela validação farmacológica do modelo. Os principais resultados indicam que ansiolíticos benzodiazepínicos e a buspirona prejudicam o comportamento de esquiva dos braços abertos, sugerindo um efeito ansiolítico. O comportamento de fuga, entretanto, é inibido por antidepressivos e outras drogas utilizadas no tratamento farmacológico do transtorno do pânico.

ESTIMULAÇÃO DA MATÉRIA CINZENTA PERIAQUEDUTAL COMO MODELO DE PÂNICO

Desde as observações originais no transcorrer de procedimentos neurocirúrgicos com humanos constatou-se que a estimulação elétrica da matéria cinzenta periaquedutal na sua porção dorsal (MCPD) causava um quadro muito semelhante ao ataque de pânico, incluindo dor no peito, dificuldade para respirar, náuseas e intensas sensações subjetivas de pavor e morte iminentes.^{43,44} Por essa razão, a estimulação da MCPD em ratos passou a ser adotada como um possível modelo de ataque de pânico.

A estimulação elétrica da MCPD de forma gradual produz em ratos, inicialmente, uma resposta de congelamento. A partir de determinada intensidade, a resposta de congelamento desaparece e tem início uma resposta de fuga muito intensa, caracterizada por corridas e saltos.⁴⁵ Essas respostas de defesa induzidas pela estimulação elétrica da MCPD são utilizadas como diferentes modelos animais de pânico. Por exemplo, antidepressivos capazes de

reduzir a ocorrência de ataques de pânico em humanos, como a clomipramina e a fluoxetina, aumentam a intensidade da estimulação elétrica da MCPD suficiente para produzir as respostas de fuga em ratos. Por outro lado, drogas que agravam ou precipitam a incidência de ataques de pânico em humanos, como o pentilenotetrazol, reduzem a intensidade da corrente elétrica aplicada na MCPD necessária para induzir a resposta de fuga.^{46,47} A Tabela 1 apresenta um paralelo entre os sintomas observados durante um ataque de pânico com a estimulação da MCPD em seres humanos e em ratos de laboratório. Como se pode observar, é surpreendente o isomorfismo entre a estimulação da MCPD e a ocorrência do ataque de pânico com relação às reações emocionais controladas pelo sistema nervoso central e as reações periféricas, controladas pelo sistema nervoso autônomo.

Tabela 1 Similaridades entre os sintomas observados durante um ataque de pânico e a estimulação da MCPD em seres humanos e em ratos de laboratório

	Natureza dos sintomas	
	Sistema nervoso central	Sistema nervoso periférico
Ataque de pânico	Terror ou medo intenso, sentimento de morte iminente e medo de estar ficando louco	Taquicardia, hipertensão arterial, asfixia, hiperventilação, sudorese e <i>flushing</i>
Estimulação da SCPD em humanos	Abrupto sentimento de ansiedade e medo de morrer. O sujeito recusa-se a ser estimulado novamente	Taquicardia, hipertensão arterial, hiperventilação, sudorese, <i>blushing</i> e piloereção
Estimulação da SCPD em ratos	Respostas de alerta e fuga. Aquisição de comportamentos para terminar a estimulação	Taquicardia, hipertensão arterial, hiperventilação e piloereção

Fonte: adaptada de Landeira-Fernandez e Cruz.⁴⁸

Um aspecto interessante da estimulação elétrica da MCPD é que, após a estimulação no limiar que produz as respostas de correr ou saltar, essas respostas de fuga desaparecem assim que a estimulação elétrica termina. Nesse momento, é iniciada uma nova resposta de congelamento. Sabe-se, hoje, que esse congelamento pós-estimulação se diferencia bastante não só daquele induzido nos momentos iniciais da estimulação direta da MCPD, mas também daquele induzido por estímulos contextuais aversivos. Tem sido sugerido que o congelamento pós-estimulação sirva de modelo para o transtorno do pânico, mas não para o ataque de pânico, ideia corroborada farmacologicamente. Assim, agonistas serotoninérgicos utilizados no tratamento do pânico aumentam, paradoxalmente, os sintomas de ansiedade. De forma análoga, a microinjeção de um agonista serotoninérgico no complexo amigdaloide foi capaz de reduzir a expressão da resposta de congelamento após a estimulação da MCPD, mas aumentou a expressão do congelamento por estímulos contextuais associados a choques elétricos.⁴⁹

Deve-se ainda destacar que, embora a resposta de congelamento que tem início após a estimulação elétrica da MCPD não dependa de nenhum processo de aprendizagem associativa,

é possível utilizar a estimulação elétrica dessa área como estímulo incondicionado com o objetivo de produzir um condicionamento contextual aversivo. Neste caso, são necessárias várias estimulações elétricas da MCPD para que este tipo de aprendizagem associativa possa ocorrer. Por exemplo, estímulos contextuais associados à estimulação elétrica da MCPD foram capazes de produzir respostas de congelamento quando apresentados sozinhos um dia depois.⁵⁰

Ainda não existem informações conclusivas sobre a natureza dessa resposta defensiva de congelamento, a não ser o fato de ela estar sob o controle de algum tipo de aprendizagem associativa. Entretanto, deve-se destacar que essa forma de aprendizagem associativa ocorre de forma relativamente lenta e alguns animais sequer a desenvolvem.⁵⁰ Esse é exatamente o mesmo padrão observado em pacientes com transtornos do pânico. Enquanto alguns desenvolvem formas graves de ansiedade, chegando mesmo a se sentirem impossibilitados de sair de casa, caracterizando assim o transtorno de pânico com agorafobia, em outros a aprendizagem associativa é tão fraca que esses pacientes com transtorno de pânico jamais desenvolvem nenhum tipo de agorafobia. Assim, pode-se especular que a resposta de congelamento associada a estímulos contextuais previamente associados a estimulações elétricas da MCPD pode servir de modelo animal para o transtorno de pânico com agorafobia.

○ ESTUDO EXPERIMENTAL DE DROGAS SEROTONÉRGICAS

Drogas ansiolíticas representam a intervenção psicofarmacológica mais empregada para lidar com os sintomas da ansiedade. Os primeiros agentes ansiolíticos utilizados no controle da ansiedade foram os barbitúricos, como fenobarbital (usado no tratamento da epilepsia), amobarbital, pentobarbital e secobarbital, que no início do século XX começaram a ser empregados no controle da ansiedade. Entre os efeitos colaterais produzidos por essas substâncias estão sonolência e sedação. Em altas doses, podem provocar intoxicações graves e depressão de certos centros nervosos, levando à morte. Os efeitos colaterais produzidos pelos barbitúricos motivaram as buscas por ansiolíticos novos e mais eficazes. No início dos anos 1960, foram introduzidos no mercado os benzodiazepínicos, que ainda são os medicamentos mais prescritos para o tratamento farmacológico da ansiedade. Entre essas drogas destacam-se o clordiazepóxido, o diazepam, o bromazepam, o clonazepam, o lorazepam, o flurazepam, o temazeepam, o oxazepam, o midazolam, o nitrazepam, o triazolam e o alprazolam. Essas drogas atuam potencializando a ação inibitória do ácido gama-aminobutírico (GABA) em nível pós-sináptico. Hoje se sabe que os efeitos ansiolíticos desses compostos resultam principalmente da inibição promovida pelo GABA na amígdala, sítio cerebral que desempenha um papel-chave na identificação de uma situação de perigo e na coordenação das reações de defesa.⁵¹⁻⁵³ O álcool etílico, embora não seja um medicamento, também favorece a ação inibitória do GABA e seu uso em animais e humanos está associado a efeitos ansiolíticos.

Recentemente, drogas relacionadas à neurotransmissão da serotonina, ou 5-hidroxitriptamina (5-HT), também têm sido utilizadas no tratamento de sintomas da ansiedade.

A 5-HT possui uma neurotransmissão extremamente complexa ao longo de seus catorze subtipos de receptores.⁵⁴ Entre esses, os subtipos 5-HT_{1A}, 5-HT₂ e 5-HT₃ são os mais diretamente envolvidos na ansiedade. Embora a 5-HT esteja claramente envolvida nos transtornos de ansiedade, seu papel exato na etiologia desses transtornos ainda é bastante controverso. Por essa razão, modelos animais são extremamente importantes para avaliar possíveis relações entre ansiedade e sistemas serotoninérgicos

As primeiras evidências sobre o envolvimento da serotonina na ansiedade foram observadas no teste de conflito com pombos. Os resultados indicaram que drogas que reduziam a ação da serotonina no cérebro apresentavam efeito ansiolítico. Conjugando esses resultados comportamentais com estudos neuroquímicos que mostravam diminuição da taxa de renovação de serotonina no cérebro, como efeito dos benzodiazepínicos, Stein⁵⁵ formulou o que ficou conhecido como teoria serotoninérgica clássica da ansiedade. De acordo com essa teoria, a serotonina é um neurotransmissor ansiogênico e drogas ou outras intervenções que reduzam a ação desse neurotransmissor no cérebro diminuem a ansiedade.

O primeiro e mais conhecido ansiolítico serotoninérgico introduzido na clínica foi a buspirona. Curiosamente, seu mecanismo de ação aparentemente contradizia a previsão dessa teoria, pois a droga é um agonista parcial do subtipo 5-HT_{1A} de receptor serotoninérgico. Posteriormente, verificou-se que a buspirona se liga preferencialmente em nível dos autorreceptores 5-HT_{1A} localizados pré-sinápticamente nos núcleos da rafe mesencefálica. A consequência dessa ligação é a diminuição dos níveis pós-sinápticos de serotonina no cérebro, efeito que corrobora a teoria. A gepirona e a ipsapirona são análogos dessa droga, mas ainda não são utilizadas clinicamente.

Nos últimos anos, os subtipos 5-HT₂ de receptores serotoninérgicos (5-HT_{2A}, 5-HT_{2B} e 5-HT_{2C}) vêm recebendo atenção especial nas pesquisas para o desenvolvimento de novos ansiolíticos. Antagonistas desses subtipos de receptores apresentam perfil sugestivo de atividade ansiolítica em diversos modelos animais de ansiedade. Ritanserina, ketanserina, mianserina, SB242084, RS10-2221, SR46349B, SER0082, SB206533 e RP62203 são exemplos desses antagonistas 5-HT₂. Notadamente, aqueles que apresentam maior seletividade ou preferência pelo subtipo 5-HT_{2C} parecem apresentar melhor perfil ansiolítico. Antagonistas 5-HT₃, como ondansetron, zacopride, granisetron e BRL46470, têm sido praticamente deixados de lado pelo excesso de resultados nulos e não serão aqui apresentados.

Em princípio, uma droga que eleva os níveis de ansiedade (droga ansiogênica) não representa interesse clínico, mas pode representar uma ferramenta farmacológica valiosa nas pesquisas laboratoriais sobre as bases neurobiológicas da ansiedade. Assim, existem também compostos serotoninérgicos com perfil ansiogênico que atuam como agonistas de receptores 5-HT₂. Novamente, o subtipo 5-HT_{2C} parece exercer uma função central na regulação desses efeitos. Drogas como TFMPP, m-CPP, DOI, MK-212, RO-600175 e WAY161503 estão entre os agonistas 5-HT_{2C} mais estudados. Entre as drogas ansiogênicas que interferem direta ou indiretamente na neurotransmissão GABAérgica, as mais estudadas são o pentilenotetrazol, a bicuculina, a picrotoxina e as betacarbolinas, como o FG-7142. As Tabelas 2 e

3 detalham os efeitos de drogas serotoninérgicas, delimitando a análise aos efeitos altamente contraditórios de agonistas (Tabela 2) e antagonistas (Tabela 3) dos receptores 5-HT₂.

Tabela 2 Efeitos comportamentais sobre os níveis de ansiedade de agonistas de receptores 5-HT₂ em modelos animais de ansiedade

Droga	Efeito	Modelo animal	Dose/via de administração	Sujeitos	Referências
DOI (5HT _{2A/2B/2C})	+	Labirinto em cruz elevado (medidas clássicas)	0,5 a 2 mg/kg (ip)	Camundongos	Dhonnchadha et al. ⁵⁶
DOI (5HT _{2A/2B/2C})	□	Labirinto em cruz elevado (medidas clássicas)	1,5 mg/kg (ip)	Ratos	Chaouloff et al. ⁵⁷
DOI (5HT _{2A/2B/2C})	□	Labirinto em cruz elevado (medidas clássicas)	1 a 8 mg/kg (ip)	Ratos	Mora et al. ⁵⁸
SW 723C86 (5-HT _{2B})	+	Labirinto em cruz elevado (medidas clássicas)	0,5 a 16 mg/kg (ip)	Camundongos	Dhonnchadha et al. ⁵⁶
RO 60 0175 (5-HT _{2C})	+	Labirinto em cruz elevado (medidas clássicas)	4 mg/kg (ip)	Camundongos	Dhonnchadha et al. ⁵⁶
RO 60 0175 (5-HT _{2C})	-	Interação social	1 a 3 mg/kg (sc)	Ratos	Kennett et al. ⁵⁹
RO 60 0175 (5-HT _{2C})	□	Teste de conflito	0,5 mg/kg (sc)	Ratos	Kennett et al. ⁵⁹
m-CPP(5-HT ₂)	+	Labirinto em cruz elevado (medidas clássicas)	0,25 mg/kg (ip)	Camundongos	Dhonnchadha et al. ⁵⁶
m-CPP(5-HT ₂)	-	Interação social	0,5 a 2 mg/kg (ip)	Ratos	Bagdy et al. ⁶⁰
m-CPP(5-HT ₂)	+		0,5 a 2 mg/kg (ip)	Ratos	Carvalho-Neto e Nunes-de-Souza ⁶¹
m-CPP(5-HT ₂)	+	Labirinto em T elevado (esquiva)	0,1 a 8 mg/kg (ip)	Ratos	Mora et al. ⁵⁸
m-CPP(5-HT ₂)	-	Labirinto em T elevado (fuga)	0,1 a 8 mg/kg (ip)	Ratos	Mora et al. ⁵⁸
TFMPP (5-HT _{2C})	-	Labirinto em cruz elevado (medidas etológicas)	0,1 a 0,4 mg/kg (ip)	Ratos	Cruz et al. ³⁹ e Setem et al. ⁴¹
TFMPP (5-HT _{2C})	+	Labirinto em T elevado (esquiva)	0,1 a 8 mg/kg (ip)	Ratos	Mora et al. ⁵⁸

(continua)

Tabela 2 Efeitos comportamentais sobre os níveis de ansiedade de agonistas de receptores 5-HT₂ em modelos animais de ansiedade (*continuação*)

Droga	Efeito	Modelo animal	Dose/via de administração	Sujeitos	Referências
TFMPP (5-HT _{2C})	-	Labirinto em T elevado (fuga)	0,1 a 8 mg/kg (ip)	Ratos	Mora et al. ⁵⁸
MK212(5-HT ₂)	-	Labirinto em cruz elevado (medidas clássicas)	0,5 mg/kg (ip)	Ratos	Kshama et al. ⁶²
Quipazine (5-HT ₂)	-	Labirinto em cruz elevado (medidas clássicas)	5 mg/kg (ip)	Ratos	Kshama et al. ⁶²
WAY161503	-	Labirinto em cruz elevado (medidas etológicas)	1 a 3 mg/kg (ip)	Ratos	Gomes et al. ⁶³
Ketanserina (5-HT _{2A/2C})	-	Transição claro-escuro	0,015 a 0,03 mg/kg (ip)	Camundongos	Dhonnchadha et al. ⁵⁶
Ketanserina (5-HT _{2A/2C})	-	Teste de conflito	0,5 a 2 mg/kg (ip)	Ratos	Cervo e Samanin ⁶⁴
Ketanserina (5-HT _{2A/2C})	+	Labirinto em cruz elevado (medidas clássicas)	0,5 a 2 mg/kg (ip)	Ratos	Cervo e Samanin ⁶⁴
Ketanserina (5-HT _{2A/2C})	+	Labirinto em cruz elevado (medidas etológicas)	0 a 1 mg/kg (sc)	Ratos	Griebel et al. ⁴⁰
Ketanserina (5-HT _{2A/2C})	+	Resposta de congelamento ao contexto	0,1 a 5 mg/kg (po)	Ratos	Ishida-Tokida et al. ⁶⁵
Ketanserina (5-HT _{2A/2C})	□	Resposta de congelamento ao contexto	0,3 a 1 mg/kg (sc)	Ratos	Inoue et al. ²⁸
Mesulergine (5-HT _{2A/2C})	+	Teste de conflito	0,1 mg/kg (ip)	Ratos	Cervo e Samanin ⁶⁴
Ritanserina (5-HT _{2A/2C})	+	Teste de conflito	2 mg/kg (ip)	Ratos	Cervo e Samanin ⁶⁴
Ritanserina (5-HT _{2A/2C})	+	Labirinto em cruz elevado (medidas clássicas)	> 4 mg/kg (po)	Ratos	Stutzmann et al. ⁶⁶
Ritanserina (5-HT _{2A/2C})	-	Labirinto em cruz elevado (medidas clássicas)	0,25 a 10 mg/kg (ip)	Ratos	Stutzmann et al. ⁶⁶
Ritanserina (5-HT _{2A/2C})	+	Resposta de congelamento ao contexto	0,1 a 1 mg/kg (po)	Ratos	Ishida-Tokida et al. ⁶⁵

(continua)

Tabela 2 Efeitos comportamentais sobre os níveis de ansiedade de agonistas de receptores 5-HT₂ em modelos animais de ansiedade (*continuação*)

Droga	Efeito	Modelo animal	Dose/via de administração	Sujeitos	Referências
Ritanserina (5-HT _{2A/2C})	-	Labirinto em T elevado (esquiva)	3 a 30 mg/kg (ip)	Ratos	Mora et al. ⁵⁸
Ritanserina (5-HT _{2A/2C})	□	Labirinto em T elevado (fuga)	3 a 30 mg/kg (ip)	Ratos	Mora et al. ⁵⁸
SER 082 (5-HT _{2A/2C})	□	Labirinto em T elevado (fuga)	0,5 a 2 mg/kg (ip)	Ratos	Carvalho-Neto e Nunes-de-Souza ⁶¹
B 206533 (5-HT _{2b/2c})	□	Transição claro-escuro	0,03 a 4 mg/kg (ip)	Camundongos	Dhonnchadha et al. ⁵⁶
B 206533 (5-HT _{2b/2c})	+	Teste de conflito	3 a 30 mg/kg (ip)	Ratos	Stutzmann et al. ⁶⁶
B 206533 (5-HT _{2b/2c})	+	Labirinto em cruz elevado (medidas clássicas)	3 a 10 mg/kg (ip)	Ratos	Stutzmann et al. ⁶⁶
Mianserina (5-HT ₂)	+	Teste de conflito	10 mg/kg (ip)	Ratos	Stutzmann et al. ⁶⁶
Mianserina (5-HT ₂)	+	Labirinto em cruz elevado (medidas clássicas)	1 mg/kg (ip)	Ratos	Stutzmann et al. ⁶⁶
Mianserina (5-HT ₂)	+	Teste de conflito	8 mg/kg (ip)	Ratos	Cervo e Samanin ⁶⁴
Mianserina (5-HT ₂)	+	Labirinto em cruz elevado (medidas etológicas)	0,3 a 3 mg/kg (sc)	Ratos	Griebel et al. ⁴⁰
RP 62203 (5-HT ₂)	+	Labirinto em cruz elevado (medidas clássicas)	0,25 a 4 mg/kg (po)	Camundongos	Stutzmann et al. ⁶⁶
SM 9018 (5-HT ₂)	+	Resposta de congelamento ao contexto	0,3 a 3 mg/kg (po)	Ratos	Ishida-Tokida et al. ⁶⁵

+: ansiolítico; -: ansiogênico; □: ausência.

Tabela 3 Efeitos comportamentais sobre os níveis de ansiedade de antagonistas de receptores 5-HT₂ em modelos animal de ansiedade

Droga	Efeito	Modelo animal	Dose/via de administração	Sujeitos	Referências
ICI 169,369 (5-HT ₂)	□	Resposta de congelamento ao contexto	5 a 20 mg/kg (sc)	Ratos	Inoue et al. ²⁸
RS 10-2221 (5-HT ₂)	□	Transição claro-escuro	0,06 a 16 mg/kg (ip)	Camundongos	Dhonnchadha et al. ⁵⁶

(*continua*)

Tabela 3 Efeitos comportamentais sobre os níveis de ansiedade de antagonistas de receptores 5-HT₂ em modelos animal de ansiedade (*continuação*)

Droga	Efeito	Modelo animal	Dose/via de administração	Sujeitos	Referências
RS 10-2221 (5-HT ₂)	☐	Labirinto em cruz elevado (medidas clássicas)	0,06 a 16 mg/kg (ip)	Camundongos	Dhonnchadha et al. ⁵⁶
DZ SER 082 (5-HT ₂)	☐	Labirinto em cruz elevado (medidas clássicas)	0,06 a 4 mg/kg (ip)	Camundongos	Dhonnchadha et al. ⁵⁶
SR46349B (5-HT _{2A})	-	Labirinto em cruz elevado (medidas clássicas)	1;3;10 mg/kg (ip)	Ratos	Setem et al. ³⁹
SR46349B (5-HT _{2A})	☐	Labirinto em cruz elevado (medidas clássicas)	7,5 mg/kg (ip)	Ratos	Chaouloff et al. ⁵⁷
SR46349B (5-HT _{2A})	-	Labirinto em cruz elevado (medidas etológicas)	1;3;10 mg/kg (ip)	Ratos	Setem et al. ⁴¹
SR46349B (5-HT _{2A})	☐	Labirinto em cruz elevado (medidas clássicas)	7,5 mg/kg (ip)	Ratos	Chaouloff et al. ⁵⁷
DL 1000,907 (5-HT _{2A})	☐	Teste de conflito	0,1 a 5 mg/kg (ip)	Ratos	Stutzmann et al. ⁶⁶
DL 1000,907 (5-HT _{2A})	☐	Labirinto em cruz elevado (medidas clássicas)	0,1 a 5 mg/kg (ip)	Ratos	Stutzmann et al. ⁶⁶
DL 1000,907 (5-HT _{2A})	☐	Transição claro-escuro	0,1 a 5 mg/kg (ip)	Ratos	Stutzmann et al. ⁶⁶
SB 242084 (5-HT _{2C})	-	Supressão condicionada	0,1 a 3 mg/kg (ip)	Ratos	Martin et al. ⁶⁷
SB 242084 (5-HT _{2C})	+	Labirinto em cruz elevado (medidas clássicas)	0,1 a 3 mg/kg (ip)	Ratos	Martin et al. ⁶⁷

+: ansiolítico; -: ansiogênico; ☐: ausência de efeito.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O conceito de ansiedade vem mudando ao longo dos anos. No ambiente clínico, o conceito de transtornos de ansiedade partiu da perspectiva que postulava um único sistema, variando apenas em intensidade, desde níveis normais ou adaptativos até condições extremas que caracterizariam quadros patológicos ou neuróticos. A grande mudança nessa visão surgiu com a publicação do DSM-III no qual se reconhece a existência de vários transtornos de ansiedade qualitativamente distintos.

No ambiente experimental que utiliza modelos animais de ansiedade, a perspectiva tradicional de que as respostas de defesa a situações de perigo seriam mediadas por um único sistema geral de ansiedade também foi postulada por vários autores.^{3,4,17,28,68-72} Muitas evidências experimentais indicam que essa perspectiva apresenta diversas limitações. Acredita-se hoje que a ansiedade representa um constructo complexo e multidimensional.⁷⁰

Considerando esse aspecto multidimensional da ansiedade, seria interessante tentar associar os diferentes modelos animais de ansiedade aos transtornos de ansiedade em seres humanos encontrados em ambientes clínicos. No entanto, o emprego de critérios exclusivamente descritivos nos sistemas de classificação moderna impôs um problema de validade entre as diversas categorias nosológicas de ansiedade. O DSM-IV e CID-10 não classificam os transtornos de ansiedade em critérios etiológicos, neurobiológicos, epidemiológicos, genéticos ou respostas a medicamentos, mas sim em descrições fenomenológicas.

Embora aspectos fenomenológicos sejam importantes para a avaliação de um transtorno de ansiedade, os mesmos apresentam grandes imprecisões no relato entre diversos pacientes que possam apresentar o mesmo transtorno. Portanto, não surpreende encontrar problemas de previsibilidade de drogas utilizadas durante o tratamento. Este é o caso dos ansiolíticos benzodiazepínicos que foram introduzidos no ambiente clínico no início da década de 1960, e a introdução da buspirona 20 anos depois. Conforme ilustrado na Tabela 4, não há correspondência na previsibilidade da resposta farmacológica entre drogas benzodiazepínicas e serotonérgicas nos diferentes modelos animais de ansiedade. De fato, muitos modelos que foram anteriormente validados com base nos efeitos de benzodiazepínicos falham na detecção de compostos serotonérgicos. Mas, a despeito dessas limitações, os modelos animais ainda representam ferramentas indispensáveis na pesquisa experimental das bases comportamentais e neurobiológicas da ansiedade. As implicações desses estudos para a seleção de novos compostos ansiolíticos são inquestionáveis.

Tabela 4 Grau de previsibilidade da resposta farmacológica para compostos GABA-benzodiazepínicos e serotonérgicos em modelos animais de ansiedade

Modelo animal	Grau de previsibilidade da resposta farmacológica	
	GABA-benzodiazepínicos	Compostos serotonérgicos
Teste de conflito	Alto	Médio
Supressão condicionada	Médio	Baixo
Esquiva ativa sinalizada	Baixo	Baixo
Sobressalto intensificado pelo medo	Alto	Alto
Resposta condicionada de congelamento	Alto	Médio
Campo aberto	Médio	Baixo
Interação social	Alto	Alto
Vocalização ultrassônica	Alto	Baixo
Interação presa-predador (ameaça potencial)	Alto	Baixo
Ocultação defensiva	Alto	Baixo
Transição claro-escuro	Alto	Médio

(continua)

Tabela 4 Grau de previsibilidade da resposta farmacológica para compostos GABA-benzodiazepínicos e serotoninérgicos em modelos animais de ansiedade (*continuação*)

Modelo animal	Grau de previsibilidade da resposta farmacológica	
	GABA-benzodiazepínicos	Compostos serotoninérgicos
Labirinto em cruz elevado (medidas clássicas)	Alto	Baixo
Labirinto em cruz elevado (medidas etológicas)	Alto	Médio
Labirinto em "T" elevado	Alto	Médio
Estimulação da matéria cinzenta periaquedutal dorsal	Alto	Médio

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Cruz APM, Zangrossi H, Graeff FG, Landeira-Fernandez J. Modelos animais de ansiedade: implicações para a seleção de drogas ansiolíticas. *Psicol Teor Pesq*. 1997;13(3):269-78.
2. Pavlov IP. *Conditioned reflexes*. London: Oxford University Press; 1927.
3. Treit D. Animal models for the study of anti-anxiety agents: a review. *Neurosci Biobehav Rev*. 1985;9:203-22.
4. Hall CS. Emotional behavior in the rat: I. Defecation and urination as measures of individual differences in emotionality. *J Comp Psychol*. 1934;18:385-403.
5. Lorenz KZ. *Os fundamentos da etologia* (Tradução de Pedro Melo Cruz e Carlos Alberts). São Paulo: Unesp; 1995. (Trabalho original publicado em 1981)
6. Blanchard DC, Blanchard RJ. An ethoexperimental approach to the biology of emotions. *Ann Rev Psychol*. 1998;39:43-68.
7. Lister RG. Ethologically based animal models of anxiety disorders. *Pharmacol Ther*. 1990;46:321-40.
8. American Psychiatric Association. *Manual estatístico de transtornos mentais – DSM-IV-TR-TM*. São Paulo: Artmed; 2002.
9. Geller I, Seifter J. The effects of meprobamate, barbiturates, d-amphetamine and promazine on experimentally induced conflict in the rat. *Psychopharmacology*. 1960;1:482-92.
10. Robichaud RC, Sledge KL. The effects of p-chlorophenylalanine on experimentally induced conflict in the rat. *Life Science*. 1970;8:965-9.
11. Graeff FG, Shoenfeld RI. Tryptamine mechanisms in punished and non punished behavior. *JPET*. 1970;173:277-83.
12. Estes WK, Skinner BF. Some quantitative properties of anxiety. *J Exp Psychol*. 1941;29:390-400.
13. Davis M. Diazepam and flurazepam: effects on conditioned fear as measured with the potentiated startle paradigm. *Psychopharmacology*. 1979;62:235-40.
14. Mowrer OH, Lamoreaux RR. Fear as an intervening variable in avoidance conditioning. *J Comp Psychol*. 1946;39:29-50.
15. Mowrer OH. Preparatory set (expectancy): some methods of measurement. *Psychological Monographic*. 1940;52:441-433.
16. Mowrer OH, Miller NE. A multi-purpose learning-demonstration apparatus. *J Exp Psychol*. 1942;31:163-70.
17. Anglade F, Bizot JC, Dodd RH, Baudoin C, Chapouthier G. Opposite effects of cholinergic agents and benzodiazepine receptor ligands in a passive avoidance task in rats. *Neurosci Lett*. 1994;182:247-50.

18. Misane I, Johansson C, Ögren SO. Analysis of the 5-HT_{1A} receptor involvement in passive avoidance in the rat. *Br J Pharmacol.* 1998;125:499-509.
19. Brown JS, Kalish HI, Farber IE. Conditioned fear as revealed by magnitude of startle response to an auditory stimulus. *J Exp Psychol.* 1951;41:317-28.
20. Blanchard RJ, Blanchard DC. Crouching as an index of fear. *J Comp Physiol Psychol.* 1969;67:370-5.
21. Bolles R, Riley A. Freezing as an avoidance response: another look at the operant-respondent distinction. *Learn Mot.* 1973;4:268-75.
22. Bindra D, Anchel H. Immobility as an avoidance response, and its disruption by drugs. *J Exp Anal Behav.* 1963;6:213-8.
23. Fanselow MS, Lester LS. A functional behavioristic approach to aversively motivated behavior: predatory imminence as a determinant of the topography of defensive behavior. In: Bolles RC, Beecher MD (eds.). *Evolution and learning.* New York: Hillsdale; 1988.
24. Griffith CR. The behavior of white rats in the presence of cats. *Psychobiology.* 1920;2:19-28.
25. Sigmundi RA, Bouton ME, Bolles RC. Conditioned freezing in the rat as a function of shock intensity and CS modality. *Bull Psychon Soc.* 1980;15:254-6.
26. Landeira-Fernandez J, DeCola JP, Kim JJ, Fanselow MS. Immediate shock deficit in fear conditioning: effects of shock manipulations. *Behav Neurosci.* 2006;120:873-9.
27. Fanselow MS, Helmstetter FJ. Conditional analgesia, defensive freezing, and benzodiazepines. *Behav Neurosci.* 1988;102:233-443.
28. Inoue T, Tsuchiya K, Koyama T. Serotonergic activation reduces defensive freezing in the conditioned fear paradigm. *Pharmacol Biochem Behav.* 1996;53:825-31.
29. Hashimoto S, Inoue T, Koyama T. Serotonin reuptake inhibitors reduce conditioned fear stress-induced freezing behavior in rats. *Psychopharmacology.* 1996;123:182-6.
30. Fanselow MS, Helmstetter FJ, Calcagnetti DJ. Parallels between the behavioral effects of dimethoxycarboline (DMCM) and conditional fear stimuli. In: Dachowski L, Flaherty CF (eds.). *Current topics in animal learning: brain, emotion, and cognition.* Hillsdale: Lawrence Erlbaum; 1991.
31. Jacobs NS, Cushman JD, Fanselow MS. The accurate measurement of fear memory in Pavlovian conditioning: resolving the baseline issue. *J Neurosci Methods.* 2010;15:235-59.
32. File SE, Hyde JR. A test of anxiety that distinguishes between the actions of benzodiazepines and those of other minor tranquilizers and of stimulants. *Pharmacol Biochem Behav.* 1979;11:65-9.
33. Zippelius HM, Schleidt WM. Ultraschall-Laute bei jungen Mäusen. *Naturwissenschaften.* 1956;43:S502.
34. Crawley J, Goodwin FK. Preliminary report of a simple animal behavior model for the anxiolytic effects of benzodiazepines. *Pharmacol Biochem Behav.* 1980;13:167-70.
35. Bourin M, Hascoët M. The mouse light/dark box test. *Eur J Pharmacol.* 2003;463:55-65.
36. Pinel JJP, Treit D. Burying as a defensive response in rats. *J Comp Physiol Psychol.* 1978;92:708-12.
37. Handley SL, Mithani S. Effects of alpha-adrenoreceptor agonist in a maze-exploration model of "fear"-motivated behavior. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.* 1984;327:1-5.
38. Pellow S, Chopin P, File SE, Briley M. Validation of open: closed arm entries in the elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. *Pharmacol Biochem Behav.* 1985;24:525-9.
39. Cruz APM, Frei F, Graeff FG. Ethopharmacological analysis of the rat behavior on the elevated plus-maze. *Pharmacol Biochem Behav.* 1994;49:171-6.
40. Griebel G, Rodgers RJ, Perrault G, Sanger DJ. Risk assessment behaviour: evaluation of utility in the study of 5-HT- related drugs in the rat elevated plus maze test. *Pharmacol Biochem Behav.* 1997;57:817-27.
41. Setem J, Pinheiro AP, Motta VA, Morato S, Cruz APM. Ethopharmacological analysis of 5-HT ligands on the rat elevated plus-maze. *Pharmacol Biochem Behav.* 1999;62:515-21.
42. Graeff FG, Viana MB, Tomaz C. The elevated T maze, a new experimental model of anxiety and memory: effect of diazepam. *Braz J Med Biol Res.* 1993;26:67-70.

43. Nashold BS, Wilson WP, Slaughter DG. Sensations evoked by stimulation in the midbrain of man. *J Neurosurg.* 1969;30:14-24.
44. Amano K, Tanikama T, Iseki H, Kawabatake H, Notani M, Kawamura H. Single neuron analysis of the human midbrain tegmentum: rostral mesencephalic reticulotomy for pain relief. *Appl Neurophysiol.* 1978;8:66-78.
45. Brandão ML, Aguiar JC, Graeff FG. GABA mediation of the antiaversive action of minor tranquilizers. *Pharmacol Biochem Behav.* 1982;16:397-402.
46. Schenberg LC, Bittencourt AS, Sudre EC, Vargas LC. Modeling panic attacks. *Neurosci Biobehav Rev.* 2001;25:647-59.
47. Jenck F, Moreou JL, Martin JR. Dorsal periaqueductal gray-induced aversion as a simulation of panic anxiety: elements of face and predictive validity. *Psychiatry Res.* 1995;57:181-91.
48. Landeira-Fernandez J, Cruz APM. Medo e dor e a origem da ansiedade e do pânico. In: Landeira-Fernandez J, Silva MTA (orgs.). *Intersecções entre psicologia e neurociências.* Rio de Janeiro: MedBook; 2007.
49. Ruiz-Martinez RC, Oliveira AR, Brandão ML. Conditioned and unconditioned fear organized in the periaqueductal gray are differentially sensitive to injections of muscimol into amygdaloid nuclei. *Neurobiol Learn Mem.* 2006;85:58-65.
50. Castilho VM, Brandão ML. Conditioned antinociception and freezing using electrical stimulation of the dorsal periaqueductal gray or inferior colliculus as unconditioned stimulus are differentially regulated by 5-HT_{2A} receptors in rats. *Psychopharmacology (Berl).* 2001;155:154-62.
51. LeDoux JE. Emotion memory systems in the brain. *Behav Brain Res.* 1993;58:69-79.
52. Cruz APM, Landeira-Fernandez J. A ciência do medo e da dor. *Ciência Hoje.* 2001;29(174):16-23.
53. Cruz APM, Zangrossi H, Graeff FG. Psicobiologia da ansiedade. In: Rangé BP (org). *Psicoterapia comportamental e cognitiva: pesquisa, prática, aplicações e problemas.* Campinas: Editorial Psy; 1995.
54. Barnes NM, Sharp T. A review of central 5-HT receptors and their function. *Neuropharmacology.* 1999;38:1083-152.
55. Stein I, Weise CD, Berger BD. Antianxiety actions of benzodiazepines: decrease in activity of serotonin neurons in the punishment system. In: Gratini S, Mussini E, Randell LO (eds.). *Benzodiazepines.* New York: Raven Press; 1973. p.299-326.
56. Dhonnchadha BA, Bourin N, Hascoët M. Anxiolytic-like effects of 5-HT₂ ligands on three mouse models of anxiety. *Behav Brain Res.* 2003;140:203-14.
57. Chaouloff F, Kulikov A, Mormede P. Repeated DOI and SR46349B treatments do not affect elevated plus-maze anxiety despite opposite effects on cortical 5-HT_{2A} receptors. *Eur J Pharmacol.* 1997;334:25-9.
58. Mora PO, Netto CF, Graeff FG. Role of 5-HT_{2A} and 5-HT_{2C} receptor subtypes in the two types of fear generated by the elevated T-Maze. *Pharmacol Biochem Behav.* 1997;58:1051-7.
59. Kennett GA, Lightowler S, Trail B, Bright F, Bromidge S. Effects of RO 60 0175, a 5-HT_{2C} receptor agonist, in three animal models of anxiety. *Eur J Pharmacol.* 2000;387:197-204.
60. Bagdy G, Graf M, Anheuer ZE, Modos EA, Kantor S. Anxiety-like effects induced by acute fluoxetine, sertraline or m-CPP treatment are reversed by pretreatment with the 5-HT_{2C} receptor antagonist SB-242084 but not the 5-HT_{1A} receptor antagonist WAY-100635. *Int J Neuropsychopharmacol.* 2001;4:399-408.
61. Carvalho-Neto EF, Nunes-de-Souza RL. Use of the elevated T-maze to study anxiety in mice. *Behav Brain Res.* 2004;148:119-32.
62. Kshama D, Hrishikeshavan HJ, Shandhoge R, Munonyedi US. Modulation of baseline behavior in rats by putative serotonergic agents in three ethoexperimental paradigms. *Behav Neural Biol.* 1990;54:234-53.

63. Gomes F, Greidinger M, Salviano M, Kalliu CC, Scaperlli GS, Alves SHS, et al. Antidepressant- and anxiogenic-like effects of acute 5-HT_{2C} receptor activation in rats exposed to the forced swim test and elevated plus maze. *Psychol Neurosci*. 2010;3:15-23.
64. Cervo L, Samanin R. 5-HT_{1A} receptor full and parcial agonists and 5-HT_{2c} (but not 5-HT₃) receptor antagonists increase rates of punished responding in rats. *Pharmacol Biochem Behav*. 1995;52:671-6.
65. Ishida-Tokida K, Ohno Y, Sakamoto H, Ishibashi T, Wakabayashi J, Tojima R, et al. Evaluation of pirospirone (SM-9018), a novel serotonin-2 and dopamine-2 receptor antagonist, and other antipsychotics in the conditioned fear stress-induced freezing behavior model in rats. *Jpn J Pharmacol*. 1996;72(2):119-23.
66. Stutzmann JM, Eon B, Darche F, Lucas M, Rataud J, Piot A, et al. Are 5-HT₂ antagonists endowed with anxiolytic properties in rodents? *Neurosci Lett*. 1991;128:4-8.
67. Martin JR, Bös M, Jenck F, Moreau JL, Mutel V, Sleight AJ, et al. 5-HT_{2C} receptor agonists: pharmacological characteristics and therapeutic potential. *J Pharmacol Exp Ther*. 1998;286:913-24.
68. Gray JA. *The neuropsychology of anxiety: an enquire into the functions of the septo-hippocampal system*. Oxford: Oxford University Press; 1982.
69. Belzung C, Griebel G. Measuring normal and pathological anxiety-like behavior in mice: a review. *Behav Brain Res*. 2001;122:141-9.
70. Ramos A, Berton O, Mormede P, Chauloff F. A multiple-test study of anxiety-related behaviours in six inbred rat strains. *Behav Brain Res*. 1997;85:57-69.
71. Belzung C. Measuring exploratory behavior. In: Crusio WE, Gerlai RT (eds.). *Handbook of molecular techniques for brain and behavior research (techniques in the behavioral and neural sciences)*. Amsterdam: Elsevier; 1999.
72. Belzung C. Rodent models of anxiety-like behaviors: are they predictive for compounds acting via non-benzodiazepine mechanisms? *Curr Opin Investig Drugs*. 2001;2:1108-11.