

**Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Instituto de Biociências**

THIAGO PEREIRA HENRIQUES

**AVALIAÇÃO DE PARÂMETROS EMOCIONAIS DE CAMUNDONGOS
ALTO E BAIXO-EXPLORADORES SUBMETIDOS A UM ESTRESSE
CRÔNICO VARIADO**

Porto Alegre

2006

UFRGS - BIBLIOTECA

THIAGO PEREIRA HENRIQUES

**AVALIAÇÃO DE PARÂMETROS EMOCIONAIS DE CAMUNDONGOS ALTO E
BAIXO-EXPLORADORES SUBMETIDOS A UM ESTRESSE CRÔNICO VARIADO**

Trabalho Apresentado como um dos requisitos para
obtenção do grau de Bacharel no Curso de Ciências
Biológicas - Ênfase Molecular, Celular e Funcional.

Orientadora: Carla Dalmaz

Co-orientador: Diogo Rizzato Lara

Porto Alegre

2006

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente aos meus pais, Hélio e Elda, por todo apoio na minha carreira profissional, fosse ela qual fosse, e pelos valiosos conselhos. Vocês me ajudaram muito a ter força, confiança e esperança para enfrentar os desafios da vida da melhor maneira possível. Não só meus pais, mas como toda minha família contribui de alguma forma para o meu crescimento.

Também quero agradecer aos meus amigos do peito, sejam eles de fora ou de dentro do meio acadêmico. Suas amizades me ajudaram não só a superar os entraves da vida e/ou da faculdade, mas também me ajudaram a ser mais feliz.

Falando em amigos, quero agradecer ao Denis e à Taise, cujas ajudas foram fundamentais para a realização deste trabalho. Boa parte deste trabalho foi concretizada graças ao empenho e dedicação deles.

Agradeço à Luisa, por todo amor e incentivo. Além de ser uma namorada muito querida, cujo carinho me reergueu nos momentos difíceis, é uma grande amiga e companheira. Boa parte deste trabalho também foi graças a ela. A Luisa me ajudou diretamente, da forma como já citei, e indiretamente, por ser um ótimo exemplo de pessoa e de profissional.

Falando em lado profissional, agradeço ao Jorge, meu primeiro orientador de iniciação científica, pela orientação nos meus primeiros passos na carreira científica, e ao pessoal do LPBNC, meus primeiros colegas de laboratório.

É claro que é impossível deixar de agradecer ao Diogo, meu segundo orientador e agora co-orientador – devido a infelizes problemas burocráticos. Agradeço por teres acreditado em mim e neste projeto, pela atenção e pelo incentivo. Agradeço também a uma grande pessoa e pesquisadora, a Carla, por ter me acolhido como orientadora no trabalho de conclusão.

Este trabalho só foi viável também graças à UFRGS e aos órgãos de apoio à pesquisa.

“O homem deve saber que de nenhum outro lugar, mas do encéfalo (cérebro), vem a alegria, o prazer, o riso e a diversão, o pesar, o ressentimento, o desânimo e a lamentação. É por isto de uma maneira especial, adquirimos sabedoria e conhecimento, e enxergamos e ouvimos e sabemos o que é justo e injusto, o que é bom e o que é ruim, o que é doce e o que é amargo... E é pelo mesmo órgão que tornamo-nos loucos e delirantes, e medos e terrores nos assombram... Todas estas coisas suportamos do encéfalo, quando não está sadio... Neste sentido sou da opinião de que o encéfalo (cérebro) exerce o maior poder sobre o homem.”

Hipócrates, acerca das doenças sagradas (séc. IX a.C.).



SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	7
2 OBJETIVOS	9
2.1 Objetivo geral.....	9
2.2 Objetivos específicos.....	9
3 REVISÃO DE LITERATURA.....	11
3.1 Temperamento.....	11
3.1.1 Conceitos.....	11
3.1.2 Bases Biológicas	14
3.1.2.1 Fatores genéticos e não-genéticos na formação do temperamento.....	14
3.1.2.2 Neurobiologia da busca de novidades e da “raiva”	15
3.1.2.3 Neurobiologia da evitação de risco e do “medo”.....	18
3.2 Estresse.....	22
3.2.1 Conceitos de estresse	22
3.2.2 Neurobiologia do estresse.....	23
3.2.2.1 Sistemas de estresse.....	23
3.2.2.2 Funcionamento do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal	24
4 METODOLOGIA.....	27
4.1 Tipo de Estudo	27
4.2 Campo ou Contexto	27
4.3 População e Amostra.....	27
4.4 Coleta de dados	27
4.4.1 Tarefa de Campo Aberto	28

4.4.2	Pesagem	29
4.4.3	Teste da Auto-limpeza (<i>Grooming</i>)	30
4.4.4	Teste da Bebida Doce	30
4.4.5	Teste do Nado Forçado.....	31
4.4.6	Teste da Suspensão pela cauda.....	32
4.4.7	Teste do Claro-Escuro.....	32
4.4.8	Estresse Crônico Variado	33
4.4.9	Protocolo experimental.....	35
5.	RESULTADOS	38
5.1	Avaliação do desempenho quando da exposição a um Campo Aberto.....	38
5.2	Avaliação do peso dos diferentes grupos experimentais	39
5.3	Avaliação do desempenho de auto-limpeza (<i>grooming</i>).....	41
5.4	Avaliação do consumo de bebida doce antes, durante a após aplicação do Estresse Crônico Variado	42
5.5	Avaliação do comportamento desamparado ou “depressivo” por meio do Teste do Nado Forçado.....	43
5.6	Avaliação do comportamento desamparado ou “depressivo” por meio do Teste da Suspensão pela Cauda.....	44
5.7	Avaliação da ansiedade por meio do Teste do Claro-Escuro.....	45
6	DISCUSSÃO	47
7	REFERÊNCIAS	54

1 INTRODUÇÃO

A evolução dotou os animais – principalmente aqueles pertencentes a uma filogenia mais avançada, tais como as aves e os mamíferos – de um sistema nervoso que lhes permite exibir uma gama de comportamentos que possibilita uma adaptação ao ambiente de forma mais sofisticada, comparados aos demais grupos filogenéticos. Cada espécie animal está adaptada para exibir seu repertório peculiar de estratégias comportamentais de modo a executar suas necessidades básicas, sejam elas relacionadas à nutrição, sejam elas relacionadas à reprodução.

Porém, dentro de uma mesma espécie, os indivíduos não se comportam necessariamente da mesma maneira – a seleção natural tende a manter um equilíbrio entre diferentes traços e estratégias comportamentais (MAYNARD, 1982). Dependendo das mudanças das condições ambientais, um traço comportamental terá vantagem sobre os outros, até que o ambiente mude novamente e favoreça os indivíduos com diferentes traços comportamentais. Essa estratégia evolutiva, derivada da “Teoria dos Jogos”, é chamada “O Jogo Falcão-Pomba”, na qual os indivíduos chamados “Falcões” apresentam um comportamento do tipo dominante, agressivo e impulsivo, ao passo que aqueles chamados “Pombas” são submissos, passivos e ansiosos (KORTE *et al*, 2005). É importante salientar que a evolução prima pela adaptação da espécie, e não do indivíduo em si.

A psicologia e a psiquiatria têm estudado diferenças de comportamento entre seres humanos por meio dos conceitos “personalidade” e/ou “temperamento”. Cada estudioso, assim, denominou os subtipos de temperamento como, por exemplo: “hipertímico”, “depressivo”, “ciclotímico” e “irritável” (AKISKAL *et al*, 1998) ou “busca de novidades”, “evitação de risco”, “dependência de reforço” e “persistência” (CLONINGER *et al*, 1993). O hipertímico ou o buscador de

novidades seriam análogos aos indivíduos do tipo “falcão”, ao passo que o depressivo ou evitador de risco seriam análogos aos indivíduos do tipo “pomba” anteriormente citados.

Os temperamentos permitem aos animais enfrentarem os desafios de forma diferenciada, uma vez que cada temperamento apresenta sua própria base biológica subjacente, podendo ser de origem genética, ambiental ou a combinação de ambos (CLONINGER *et al*, 1999; KORTE *et al*, 2005; LARA, 2006; LATHE, 2004; WHITTLE *et al* 2005). Porém, suas fisiologias peculiares podem levar a um custo ao enfrentar um estresse: os evitadores de risco, por apresentarem uma maior atividade do eixo Hipotálamo-Hipófise-Adrenal (HHA), são mais suscetíveis a transtornos de ansiedade ou transtornos do humor como a depressão maior (KOOLHAAS *et al*, 1999; CLONINGER *et al*, 2006); os buscadores de novidades, que apresentam uma atividade do eixo Hipotálamo-Hipófise-Gonadal (HHG) mais acentuada, são mais propensos a transtornos de violência (KORTE *et al*, 2005).

Os pesquisadores têm cada vez mais associado o estudo de diversas psicopatologias ao temperamento ou à personalidade (BENJAMIN *et al*, 1998), tanto que o estudo de um tem contribuído para a compreensão da neurobiologia de outro, e vice-versa (WHITTLE *et al*, 2006). Para tal, o desenvolvimento de modelos em animais de experimentação têm sido extremamente úteis para a compreensão da interação entre o temperamento e os transtornos psiquiátricos (HO *et al*, 2002; KABBAJ, 2004; RAY *et al*, 2004; STREKALOVA *et al*, 2004; VEENEMA *et al*, 2003).

2 OBJETIVOS

Abaixo serão descritos o objetivo geral e os objetivos específicos deste trabalho.

2.1 Objetivo geral

Estudar como um Estresse Crônico Variado afeta o comportamento de camundongos com diferentes perfis comportamentais quanto à exploração no Campo Aberto – os Alto-Exploradores e os Baixo-Exploradores – os quais sugerimos serem análogos aos temperamentos de busca de novidades e de evitação de risco, respectivamente. Verificaremos se os Baixo-Exploradores são realmente mais sensíveis aos efeitos deletérios de um estresse.

2.2 Objetivos específicos

Os objetivos específicos deste trabalho são:

a) Estudos comportamentais:

- Analisar a ansiedade e a locomoção iniciais dos camundongos na Tarefa de Campo Aberto, com a finalidade de estabelecer os diferentes grupos experimentais.
- Analisar o peso dos diferentes grupos experimentais. Serão levadas em conta as análises do peso antes do Estresse Crônico Variado – para avaliar o peso inicial dos animais, durante e depois do estresse – com a finalidade de analisar o impacto do estresse sobre o peso dos animais.

- Analisar o comportamento de auto-limpeza (*grooming*) dos diferentes grupos experimentais por meio do Teste da Auto-limpeza. Serão levadas em conta as análises desse teste comportamental antes do Estresse Crônico Variado – para avaliar o comportamento basal dos camundongos, durante e depois do estresse – com a finalidade de analisar o impacto do estresse sobre o comportamento de *grooming*.
- Analisar o comportamento hedônico ou anedônico dos diferentes grupos experimentais por meio do Teste da Bebida Doce. Serão levadas em conta as análises desse teste comportamental antes do Estresse Crônico Variado – para avaliar o comportamento basal dos animais, durante e depois do estresse – com a finalidade de analisar o impacto do estresse sobre esse comportamento alimentar.
- Analisar um possível comportamento desamparado ou “depressivo” induzido pelo Estresse Crônico Variado nos diferentes grupos experimentais por meio do Teste do Nado Forçado (*Porsolt*).
- Analisar um possível comportamento desamparado ou “depressivo” induzidos pelo Estresse Crônico Variado nos diferentes grupos experimentais por meio do Teste da Suspensão pela Cauda.
- Analisar o impacto do Estresse Crônico Variado sobre o desempenho dos diferentes grupos experimentais no Campo Aberto pós-estresse.
- Analisar o impacto do Estresse Crônico Variado sobre a ansiedade dos diferentes grupos experimentais por meio do Teste do Claro-Escuro.

3 REVISÃO DE LITERATURA

Nesta revisão de literatura serão abordados, como principais temas, o temperamento e o estresse.

3.1 Temperamento

Os conceitos e as bases biológicas do temperamento serão abordados a seguir.

3.1.1 Conceitos

Os conceitos de temperamento apresentam diversas definições ao longo da história, sendo que um dos primeiros a classificá-lo foi Hipócrates, ao elaborar a idéia de que a interação de quatro humores corporais influenciam nosso comportamento: bílis amarela, bílis negra, sangue e fleuma. Assim as pessoas eram classificadas de acordo com os quatro temperamentos correspondentes – colérico, melancólico, sangüíneo e fleumático – classificação essa considerada como indicativa da orientação emocional predominante (KAPLAN & SADOCK, 1997). Os indivíduos coléricos seriam mais irritáveis, impulsivos e agressivos, os melancólicos seriam tidos como pessimistas e tristes, os indivíduos alegres e extrovertidos eram considerados como sangüíneos, e os fleumáticos, sendo os apáticos, calmos e preguiçosos.

Primeiramente, é importante abordar as definições de “temperamento”, “caráter” e “personalidade”. Temperamento está ligado às sensações e motivações básicas e automáticas da pessoa no âmbito emocional. O caráter decorre mais das experiências e modelos que formam nossas memórias e padrões psicológicos. O temperamento define o que mais naturalmente se

salienta no mundo para cada um e influencia os tipos de experiências em que nos envolvemos e como reagimos instintivamente a elas. A interpretação destas experiências gera um significado que por sua vez lapida a expressão do temperamento, que é o caráter. Assim, o temperamento e o caráter se influenciam e interagem e nem sempre é simples diferenciar o que provém do caráter e o que provém do temperamento. A combinação deste temperamento com o caráter que se forma pela experiência é o que definimos como personalidade (LARA, 2004).

Atualmente, o “Modelo Psicobiológico do Temperamento e Caráter” de Cloninger é um dos mais bem aceitos. Nesse modelo, as dimensões do temperamento são definidas em termos de diferenças individuais no aprendizado associativo em resposta à novidade, perigo, punição e recompensa (CLONINGER *et al*, 1993). Assim, os quatro elementos básicos do temperamento são descritos da seguinte maneira:

- Busca por novidades ou sensações (*novelty seeking*): é responsável pela ativação ou iniciação de comportamentos. Os indivíduos apresentam um comportamento ativo e exploratório, natureza impulsiva, extravagante, impaciente, irritável, grande curiosidade, busca por situações de gratificação imediata (CLONINGER *et al* 1993; LARA, 2004).
- Evitação de dano e perigo (*harm avoidance*): é responsável pela inibição ou cessação de comportamentos. Os indivíduos apresentam uma preocupação pessimista em antecipação a futuros problemas, são de natureza evitativa, amena, passiva e tímida frente à possibilidade de frustração ou ameaça (CLONINGER *et al*, 1993; LARA, 2004).
- Dependência de reforço (*reward dependence*): é responsável pela manutenção ou continuidade de comportamentos. Os indivíduos são de natureza sentimental,

calorosa e disponível, voltada ao apego e à empatia. Grande sensibilidade social, mas também necessidade de aprovação e confirmação alheia (CLONINGER *et al*, 1993; LARA, 2004).

- Persistência: originalmente tido como um componente da *reward dependence* – porém não é associado com os aspectos de sentimentalidade, apego social e necessidade por aprovação – é responsável pela perseverança apesar de frustrações e fadiga. Os indivíduos são de natureza determinada, ambiciosa e perfeccionista, apresentam persistência na realização de tarefas de longa duração e de gratificação tardia (CLONINGER *et al*, 1993; LARA, 2004).

A força principal do modelo de Cloninger (1993) é que cada dimensão do temperamento foi identificada e caracterizada em estudos com gêmeos como geneticamente homogênea e independente – sendo que cada traço apresenta uma herdabilidade de 50% até 65%, e são relacionados às emoções básicas – raiva, medo, apego ou dependência emocional e ambição ou determinação, respectivamente (CLONINGER *et al*, 1993; LARA, 2004). Estudos etológicos sugerem que a filogenia do temperamento começou com um sistema de inibição comportamental (evitação de dano) em todos animais, seguido por um sistema de ativação (busca por novidades) em animais mais avançados e, a seguir, um sistema para manutenção de comportamentos (dependência de reforço) em répteis e em filos posteriores (CLONINGER *et al*, 1993).

Outras definições de temperamentos também podem ser levadas em conta, como no “Modelo dos Temperamentos Afetivos” (AKISKAL *et al*, 1998). Neste modelo, as definições de “hipertímico” e “depressivo” são paralelas às de “busca de novidades” e “evitação de risco”, respectivamente. Um modelo mais atual, o “Modelo de Medo e Raiva”, leva em conta apenas as emoções mais básicas presentes largamente no reino animal. Entende-se por “medo” o componente inibitório, e “raiva”, o componente ativador – ambos apresentando suas

peculiaridades neurobiológicas. Nesse modelo, diferentes combinações dessas emoções, em diferentes graus, são responsáveis pelos diferentes traços. Por exemplo, combinações de alta raiva com baixo medo são análogos ao temperamento de busca de novidades, ao passo que combinações de alto medo com baixa raiva são correspondentes ao temperamento de evitação de risco (LARA, 2006).

3.1.2 Bases biológicas

A seguir serão descritas as bases biológicas do temperamento, levando em conta os fatores genéticos e não genéticos na formação do temperamento e a neurobiologia dos temperamentos de busca de novidades e de evitação de risco (Figura 1), os quais são objetos de enfoque neste trabalho.

3.1.2.1 Fatores genéticos e não-genéticos na formação do temperamento.

Estudos genéticos têm apontado a relação de determinados genes à herdabilidade dos diferentes traços de personalidade: o gene para o receptor D4 de dopamina (D4DR) foi associado à busca de novidades; o fenótipo de dependência de reforço podendo ser considerado resultante da interação entre o gene D4DR e o gene do receptor 2C da serotonina (5-HT-2C); e o genótipo 5-HTTLPR – um polimorfismo associado ao transportador de serotonina – associado à manifestação da evitação de risco (BENJAMIN *et al*, 1998). Camundongos que não expressam receptores dopaminérgicos D4 mostraram comportamento buscador de novidades reduzido (DULAWA *et al*, 1999). O alelo Taq 1 A1 do receptor D2 também tem sido correlacionado com a busca de novidades (BOWIRRAT & OSCAR-BERMAN, 2005).

Não apenas os fatores genéticos serão decisivos no desenvolvimento de diferentes traços comportamentais a longo prazo, mas também os fatores não-genéticos podem ser cruciais – o indivíduo está sujeito à modelagem do comportamento desde a gestação até os primeiros momentos de vida pós-parto (LATHE, 2004). Por exemplo, até mesmo camundongos geneticamente idênticos podem apresentar variação fenotípica devido a diferentes influências hormonais na gestação, levando os animais a apresentarem variação na expressão da agressividade ou da ansiedade (LATHE, 2004). Em ratos, a influência na modelagem do comportamento pode dar-se nos primeiros dias de vida pós-parto devido à qualidade do comportamento maternal que os animais obtiveram (CAMERON *et al*, 2005), ou até mesmo devido a eventos estressantes (MADRUGA *et al*, 2006). Em humanos, a modelagem do temperamento por fatores não-genéticos, tais como eventos estressantes no início da vida, pode influenciar no desenvolvimento de um transtorno de humor ou de personalidade (JOYCE *et al*, 2003; CHAPMAN *et al*, 2004; BANDELOW *et al*, 2005). Por exemplo, uma combinação dos traços de “alto medo” e “alta raiva” poderiam resultar no temperamento “ciclotímico” – porém, a presença de um estressor precoce é um fator de predisposição para o indivíduo a manifestar um transtorno de personalidade do tipo *borderline* (LARA, 2006). Tais eventos precoces podem, assim, influenciar os substratos biológicos que regulam os traços de medo e raiva no temperamento.

Os substratos biológicos responsáveis pela manifestação de diferentes temperamentos já foram associados a distintas estruturas e circuitos cerebrais, a diferenciados sistemas de neurotransmissores e a endocrinologias características.

3.1.2.2 Neurobiologia da busca de novidades e da “raiva”.

Na busca de novidade e na raiva, a dopamina seria um dos principais neurotransmissores envolvidos – participa da modulação da saliência motivacional/estimulante, comportamento de aproximação apetitiva, comportamento direcionado a objetivos e focado (BERRIDGE *et al*, 1998; MONTAGUE *et al*, 2004). A alta raiva pode resultar de uma resposta pós-sináptica acentuada à dopamina e/ou de características pré-sinápticas que levam ao aumento da concentração sináptica de dopamina (por exemplo, diminuição da recaptção de dopamina), ainda a serem claramente caracterizadas em humanos. Dentro do sistema dopaminérgico, o substrato neurobiológico para a raiva excessiva ou deficiente pode envolver enzimas de síntese, canais iônicos, proteínas sinápticas e/ou sinalização intracelular, sistemas de segundos mensageiros, proteínas cinases e fosfatases e fatores de transcrição. Em estudos com ratos, animais altamente agressivos têm uma maior função inibitória do autorreceptor para serotonina (5-hidroxitriptamina ou 5-HT), 5-HT_{1A/1B} do que os não agressivos (De BOER *et al*, 2003; De BOER *et al*, 1999). Pós-sinápticamente, ambos o número de receptores 5-HT_{1A} e a sensibilidade do sistema efetor do receptor 5-HT_{1A} estão aumentados em roedores agressivos (Van Der VEGT *et al*, 2001; Van Der VEGT *et al*, 2003). Isso poderia ser uma *up-regulation* compensatória induzida por uma concentração basal baixa do neurotransmissor 5-HT, o que está de acordo com a “hipótese da deficiência de serotonina” da agressão como uma característica de traço (Van Der VEGT *et al*, 2003). Em contraste, o comportamento agressivo como uma característica de estado demonstra a relação oposta – durante a agressão, a atividade da 5-HT neuronal aumenta e a prevenção de tal ativação inibe a expressão do comportamento agressivo (Van Der VEGT *et al*, 2001; Van Der VEGT *et al*, 2003). Alta impulsividade em animais pode ser uma consequência da atividade tônica diminuída do sistema de neurotransmissor de 5-HT (KORTE *et al*, 2005). Alterações-chave também podem ser encontradas em outros sistemas neurotransmissores e

neuromoduladores (por exemplo, opióide, adenosinérgico, colinérgico, orexinérgico) que interagem e regulam o sistema dopaminérgico, que seria a via final comum para a expressão comportamental da raiva e seus aspectos relacionados (LARA, 2006). Entre outros moduladores de raiva, o sistema glutamatérgico, especialmente relacionado a receptores AMPA, também tem sido implicado no comportamento agressivo (MUNOZ-BLANCO *et al*, 1986; SWANN *et al*, 2003, VEKOVISCHEVA *et al*, 2004). Altos níveis de liberação de vasopressina (baixos níveis de armazenamento) no septo de ratos e camundongos muito agressivos estão associados à alta agressividade (De BOER *et al*, 2003), provavelmente via o envolvimento do receptor V1a/1b de vasopressina (Van Der VEGT *et al*, 2003, VIAU, 2002). Há algumas evidências de que a testosterona “organiza” a agressão durante o desenvolvimento ou que ela aumenta a probabilidade da agressão em determinado contexto, por estimular a síntese de vasopressina (VIAU, 2002). A testosterona também já foi positivamente associada com formas desinibidas de extroversão (DAIZMAN & ZUCKERMAN, 1980).

Quanto à neuroanatomia, a busca de novidades está relacionada ao núcleo accumbens e ao estriado ventral (SALAMONE *et al*, 2005). As estruturas encefálicas que recebem ricas projeções dopaminérgicas, tais como a amígdala, núcleo accumbens, córtex anterior cingulado e córtex pré-frontal dorsolateral são envolvidos no “afeto positivo” – componente característico de indivíduos que apresentam busca de novidades (WHITTLE *et al*, 2006).

O córtex cingulado anterior (CCA) recebe uma das inervações dopaminérgicas mais ricas do que em qualquer outra área cortical, e há evidência direta de estudos em humanos que a projeção dopaminérgica ao CCA está relacionada à recompensa (ALLMAN *et al*, 2001). O CCA dorsal é sugerido como sendo parte de uma rede distribuída de atenção, e tem sido descrito como responsável, entre outras funções, pela decisão baseada em recompensa, motivação (ALLMAN *et al*, 2001). Estudos funcionais têm demonstrado uma atividade aumentada do CCA dorsal

associada ao afeto positivo elevado e à excitação sexual em homens (WHITTLE *et al*, 2006). Estudos com lesões em humanos demonstraram que lesões no CCA dorsal resultam em apatia, falta de iniciativa, etc (ALLMAN *et al*, 2001).

Pesquisas em pacientes saudáveis demonstraram que o traço de afeto positivo também está positivamente correlacionado à atividade do córtex pré-frontal dorsolateral (CPF DL) (HARMON-JONES & ALLEN, 1997). O metabolismo aumentado nessa área também foi encontrado na produção de estados emocionais positivos (DAVIDSON *et al*, 2002). Disfunções no CPF DL esquerdo estão associadas ao déficit na habilidade de experimentar o afeto positivo.

Há evidências consistentes de que o núcleo accumbens (Nacc) também esteja envolvido no afeto positivo. Em humanos, a atividade do Nacc foi relatada no afeto positivo induzido por fotos (SUTTON, 1997), exposição a estímulo verbal positivo (HAMANN & MAO, 2002), e durante a excitação sexual em homens (RAUCH *et al*, 1999). Antecipação de recompensa monetária aumentada também foi demonstrado pela ativação do Nacc, e essa ativação foi positivamente correlacionada com auto-relatos de felicidade (KNUTSON *et al*, 2001). Um estudo examinando os correlatos neurais do humor indicou que o grau de intensidade do humor estava positivamente correlacionado à ativação do Nacc (MOBBS *et al*, 2003).

3.1.2.3 Neurobiologia da evitação de risco e do “medo”.

O sistema serotoninérgico parece ter um papel central no medo, como demonstrado pela resposta diminuída à estimulação serotoninérgica em indivíduos com alta esquivia ao dano ou traços de medo (HENNIG *et al*, 2000; WEIJERS *et al*, 2001). O aumento da prevalência do alelo curto 5-HTTLPR – teoricamente relacionado a altos níveis de serotonina sináptica – foi associado com a ativação da amígdala e traços de medo em indivíduos saudáveis (HARIRI *et al*, 2005;

PEZAWAS *et al*, 2005; GONDA *et al*, 2006). Da mesma forma, tanto a genética quanto a manipulação farmacológica precoce (infância) – levando ao aumento dos níveis de serotonina na sinapse – predispõe ao fenótipo ansioso em ratos (ANSORGE *et al*, 2004). Por outro lado, baixos níveis de metabólitos da serotonina estão relacionados com o descontrole de impulsos em primatas (HIGLEY & LINNOILA, 1997). De modo geral, estas linhas de evidência sugerem que um tônus serotoninérgico aumentado predispõe a altos traços de medo. Já um tônus serotoninérgico baixo está associado com impulsividade por descuido (baixo medo).

A noradrenalina é outro importante modulador do eixo dos traços de medo, mas seria particularmente relevante no âmbito do baixo medo. O sistema noradrenérgico funciona basicamente nos modos fásico e tônico. O modo tônico está associado com distratibilidade e desempenho ruim em tarefas que requerem atenção focada. Este modo é associado particularmente com alarmes-falsos em tarefas de atenção, que podem ser atribuídos à impulsividade por descuido, desinibição ou baixo medo, nesse modelo. Por outro lado, um modo fásico aumentado do sistema noradrenérgico (com atividade tônica moderada), está associado com bom desempenho de tarefas ou uma atividade direcionada a objetivos. Assim, o sistema noradrenérgico, em um modo predominantemente fásico, pode contribuir em algum grau, para a alta raiva e impulsividade apetitiva (LARA, 2006).

Várias evidências também dão suporte para o papel do sistema GABAérgico (GABA – *gama-amino-butiric-acid*, ou ácido-gama-amino-butírico) na modulação da ansiedade (NEMEROFF, 2003) e nos traços de medo (CRESTANI *et al*, 1999). Fatores neurotróficos podem também desempenhar uma função no temperamento, como recentemente encontrado pela associação de um polimorfismo do receptor BDNF (*Brain Derived Neurotrophic Factor* – fator neurotrófico derivado do cérebro) NTRK2 com esquizofrenia (RIBASES *et al*, 2005).

Baseado em trabalhos com eletroencefalografia, propôs-se a atividade do córtex pré-frontal dorsolateral (CPFDL) direito em estados de afeto negativo, ao observar maior ativação do CPFDL direito associado a altos estados de afeto negativo. Outras evidências sugerem que o papel do CPFDL direito no afeto negativo é mais provável de ser um inibidor dos afetos negativos provenientes de áreas subcorticais (MAYBERG, 2003).

O córtex cingulado anterior (CCA) é uma estrutura límbica medial que apresenta um papel chave na regulação do comportamento emocional e cognitivo. A porção ventral, relacionada à emoção, tem sido particularmente implicada no afeto negativo. O humor negativo induzido em indivíduos saudáveis foi relatado como sendo resultado de uma atividade aumentada no CCA ventral (LIOTTI *et al*, 2000), e uma maior atividade basal dessa região foi apontada em indivíduos com maiores traços de afeto negativo (ZALD *et al*, 2002). Outro estudo encontrou que o traço de ansiedade antecipatória correlaciona-se positivamente com o volume do CCA direito em indivíduos normais (PUJOL *et al*, 2002).

A amígdala, tida por participar da inicial e ampla atribuição subconsciente de significância emocional a eventos sensoriais, tem um papel fundamental na percepção e na produção de afetos negativos e de aprendizados aversivos associativos (ADOLPHS & DAMASIO, 2000; DAVIDSON AND IRWIN, 1999; DAVIDSON & HENRIQUES, 2000; ORCHSNER & SCHACTER, 2000). Em indivíduos saudáveis, estudos funcionais documentaram uma ativação aumentada da amígdala durante a exposição a estímulos desagradáveis (ZALD, 2003) e durante a produção e manutenção de afetos negativos (DAVIDSON *et al*, 1999; SCHAEFER *et al*, 2002). Há uma série de relatos que estudos de imageamento por ressonância magnética apoiando a sugestão de que diferenças individuais em traços de personalidade podem ser a chave na modulação de respostas afetivas pela amígdala. Em um dos estudos, a maior ativação da amígdala a fotos agradáveis foi associada com extroversão auto-relatada (relacionado ao afeto

positivo) e uma maior ativação a estímulos negativos foi associada ao neuroticismo (relacionado ao afeto negativo). Num segundo estudo envolvendo a observação de expressões faciais emotivas (feliz, triste, medrosa, braba e neutra), entre todos os participantes houve diferença significativa no aumento da ativação da amígdala a faces medrosas comparadas às neutras, mas nenhuma diferença entre qualquer uma das outras expressões faciais. No entanto, ao levar as diferenças de personalidade em conta, houve uma correlação significativa entre os escores de extroversão dos participantes com a ativação da amígdala a faces felizes (CANLI, 2004).

O hipocampo, estrutura envolvida na aprendizagem e memória, apresenta sua região ventral envolvida preferencialmente em comportamentos do tipo ansiosos (BANNERMAN *et al*, 2004). É proposto que o sistema septo-hipocampal está envolvido na formação de associação inibitória e regula o peso da informação contendo afetividade negativa. O hipocampo e a amígdala contribuem diferencialmente aos mecanismos subjacentes de ansiedade e medo, respectivamente. Enquanto que o medo, processado na amígdala, é uma resposta fásica à dicas freqüentemente aversivas, a ansiedade, resultante do processamento hipocampal, é uma resposta tônica a dicas ou situações aversivas difusas, freqüentemente incondicionadas. O medo pode ser visto como um precursor lógico da ansiedade. Conexões recíprocas entre essas áreas apóiam a sugestão de que o sistema de ansiedade hipocampal promove controle inibitório sobre o sistema de medo da amígdala (GRAY & MACNAUGHTON, 2000).

Quanto aos aspectos endocrinológicos, estudos com animais de experimentação têm ajudado a desvendar as diferenças fisiológicas entre indivíduos com diferentes traços comportamentais. Sob condições basais, camundongos altamente agressivos demonstram uma menor concentração plasmática de corticosterona durante a fase escura inicial comparados aos camundongos menos agressivos (KORTE *et al*, 1996). Nenhuma diferença foi observada na expressão de ARN (ácido ribonucléico) mensageiro para receptores de mineralocorticóides e de glicocorticóides

hipocampais, ou CRH (*Corticotrophin Releasing Factor*, ou hormônio liberador de corticotrofina) hipotalâmico entre camundongos agressivos e não-agressivos sob condições basais (VEENEMA *et al*, 2003, Van RIEL *et al*, 2002). Independente do ritmo circadiano, níveis plasmáticos basais de ACTH foram sempre maiores em camundongos agressivos (VEENEMA *et al*, 2003), sugerindo que o córtex da adrenal é menos sensível ao ACTH nos agressivos do que nos camundongos não-agressivos. Além disso, camundongos agressivos tinham maior atividade pré-natal do eixo HHG (COMPAAN *et al*, 1994). Sob condições basais, nenhuma diferença foi encontrada na atividade simpática e parassimpática entre ratos agressivos e não-agressivos (SGOIFO *et al*, 1998).

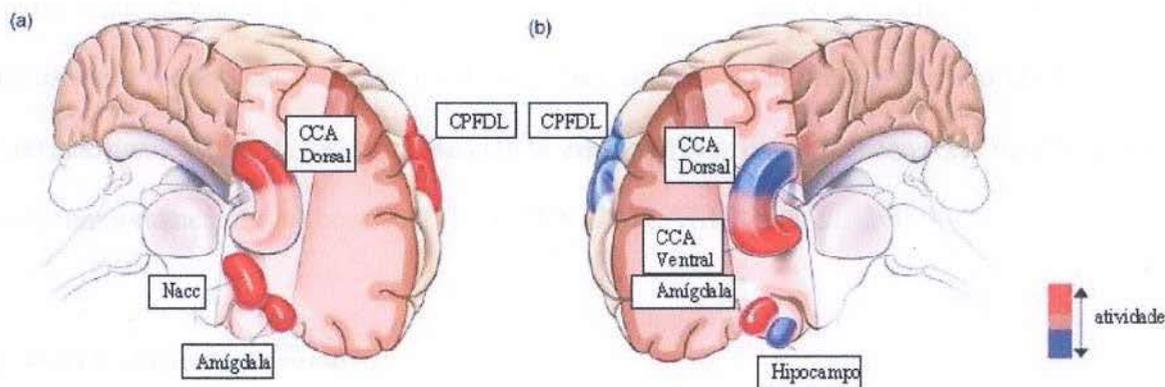


Figura 1: Estruturas encefálicas sugeridas por estarem relacionadas aos temperamentos de busca de novidades e de evitação de risco, cujos componentes são, respectivamente: (a) Alta Afetividade Positiva e (b) Alta Afetividade Negativa. CCA, Córtex Cingulado Anterior; Nacc, Núcleo Accumbens; CPFDL, Córtex Pré-Frontal Dorsolateral.

3.2 Estresse

A seguir serão abordados os principais conceitos de estresse e a neurobiologia do estresse.

3.2.1 Conceitos de estresse.

Em 1936 o cientista e médico austríaco Hans Selye definiu o estresse como “Síndrome da Adaptação Geral”, ou seja, a resposta adaptativa de um organismo à ação de agentes nocivos – os chamados agentes estressores. Esta resposta ao estresse seria dividida em três estágios: um primeiro de alarme, onde o agente estressor seria notado, um segundo de resistência, no qual o organismo estaria combatendo o agente estressor com sucesso, e, por fim, um estado de exaustão, onde o organismo esgotaria sua capacidade de resposta de estresse, daí advindo os seus efeitos deletérios (SELYE, 1936; APUD KOPIN, 1995).

Atualmente, a palavra “estresse” tem sido interpretada como o conjunto de respostas do organismo a um estressor. Este “estressor” é definido como um desafio ao indivíduo, que ameaça a homeostase e requer uma resposta fisiológica, mas também pode ser considerado apenas uma interpretação inadequada da situação, percebida erroneamente como ameaça, que resulta numa resposta comportamental e/ou hormonal (McEWEN, 2002; TSIGOS *et al.*, 2002).

3.2.2 Neurobiologia do estresse

Quanto à neurobiologia do estresse, serão descritos os sistemas de estresse e o funcionamento do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal.

3.2.2.1 Sistemas de estresse.

Há dois sistemas de resposta ao estresse classicamente descritos: (a) o Sistema Neurovegetativo, incluindo a liberação de adrenalina pela medula adrenal; (b) os glicocorticóides, produzidos no córtex da adrenal sob estímulo hipotalâmico e hipofisário (McEWEN, 2002;

TSIGOS *et al.*, 2002). A ativação aguda desses sistemas promove aumento da disponibilidade de energia e melhora do fluxo sanguíneo para órgãos-alvo, sendo adaptativa (TSIGOS *et al.*, 2002). Entretanto, a exposição crônica a níveis elevados de glicocorticóides pode ser danosa ao organismo (DALLMAN *et al.*, 2004; MILLER *et al.*, 2002).

3.2.2.2 Funcionamento do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal.

Os estímulos externos têm grande impacto sobre o sistema límbico, que se relaciona com o hipotálamo. O controle central do sistema de resposta ao estresse inclui os neurônios parvocelulares do núcleo paraventricular do hipotálamo (PVN). Essas células estão sob influência de vários mecanismos intrínsecos e extrínsecos que regulam a resposta do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal ao estresse (Figura 2). Aferências ao PVN são provenientes principalmente da informação sensorial, promovendo respostas do eixo a ameaças reais à homeostasia, e incluem o núcleo do trato solitário, o núcleo da rafe, o órgão subfornicial, o núcleo próprio da *stria terminalis*, o tálamo e regiões hipotalâmicas que circundam o PVN. Aferências indiretas vindas do hipocampo, amígdala, córtex pré-frontal, septo lateral e tálamo ativam os mesmos neurônios parvocelulares na ausência de desafios fisiológicos francos, mas prementes (HERMAN *et al.*, 2003).

No estado de repouso (basal), o hipotálamo apresenta secreção de hormônio liberador de corticotrofina (CRH) e vasopressina (AVP) de uma maneira pulsátil, com dois ou três picos por hora (ENGLER *et al.*, 1989). Durante o estresse agudo, a amplitude e a frequência desses pulsos aumenta, resultando na liberação de adrenocorticotrofina (ACTH) pela hipófise e de cortisol (corticosterona em ratos) pelo córtex da adrenal (TSIGOS *et al.*, 1994). Uma série de situações

pode estimular o hipotálamo, como por exemplo: frio, infecção, hemorragia, choque, vibração, estresse emocional e/ou social, contenção, etc. (MILLER *et al.*, 2002). Citocinas e outros mediadores de inflamação também são liberados nessas ocasiões e potencializam a ação dos vários componentes do eixo HHA. O ACTH aumenta a síntese de glicocorticóides pelo córtex da glândula adrenal. Em situações críticas, os glicocorticóides têm ações de proteção e manutenção da homeostasia: mobilização de estoques energéticos através de gliconeogênese, lipólise e catabolismo protéico, melhora da função cognitiva, inibição da função gonadal, alteração da homeostasia do cálcio. Os glicocorticóides têm importância na própria regulação neuroendócrina, uma vez que atuam em receptores do sistema límbico (especialmente amígdala e hipocampo), do hipotálamo e da hipófise por retroalimentação negativa, encerrando a ativação (De KLOET, 1998).

Esses hormônios também inibem as citocinas, regulando a atividade do eixo HHA. A inibição causada pelos glicocorticóides limita sua própria ação, prevenindo o organismo de seus efeitos catabólicos, antirreprodutivos e imunossupressivos (TSIGOS *et al.*, 2002).

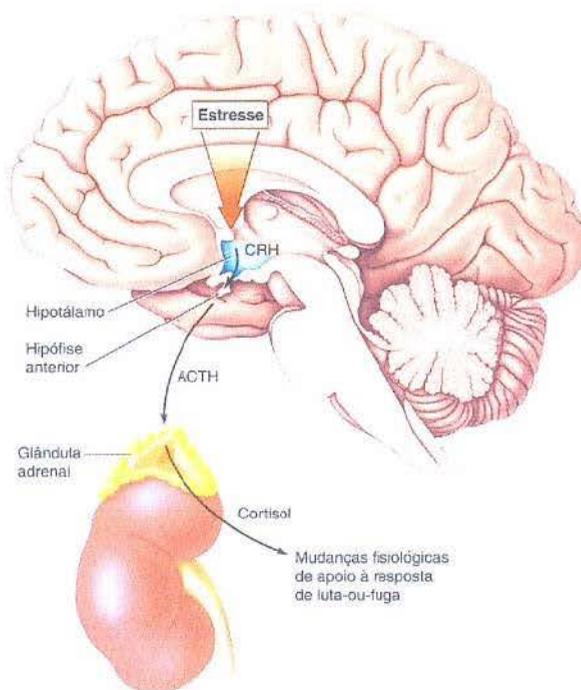


Figura 2: Eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HHA). Estímulos ambientais externos são captados pelo sistema límbico, ativando os sistemas de resposta ao estresse, entre eles o eixo HHA.

4 METODOLOGIA

4.1 Tipo de Estudo: Análise Quantitativa, com coleta de dados comportamentais, como tempo em segundos e consumo em mililitros. São dados contínuos e discretos que foram analisados através de testes estatísticos paramétricos (conforme descrito na metodologia) (ver ZAR, 1996).

4.2 Campo ou Contexto: Departamento de Bioquímica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

4.3 População e Amostra: Inicialmente foram usados 72 camundongos CF1 machos adultos (2 meses de idade). Os animais foram provenientes da Federação Estadual de Produção e Pesquisa em Saúde – FEPPS, do setor de Coordenação de Produção e Experimentação em animais – CPEA, e permaneceram 1 semana no camundongário do Depto de Bioquímica para aclimatização. Os camundongos permaneceram em caixas-moradia (6 animais por caixa) confeccionadas em “plexiglas” com assoalho coberto de serragem de madeira que era trocada 2 vezes por semana. Os animais estavam submetidos a um ciclo normal claro/escuro de 12 horas, com ração padronizada e água “ad libitum”. Essa população foi submetida ao Campo Aberto para poder definir os grupos experimentais – 15 animais constituindo o grupo dos “alto-exploradores”, 14 animais no grupo dos “baixo-exploradores”, e 15 animais representando o grupo dos “médio-exploradores”.

4.4 Coleta de dados: Foi realizada através de protocolos de experimentos comportamentais para animais de laboratório, conforme descrito abaixo:

4.4.1 Tarefa de Campo Aberto (KAZLAUCKAS *et al*, 2005).

O experimento consiste em analisar cada camundongo por um período de 5 minutos, em um aparato quadrado pintado de preto medindo 50x50x50cm. Foi traçado um quadrado imaginário de 30x30cm na porção central do campo aberto. O aparato apresentava a parte de cima aberta para permitir a visualização do animal. Uma *webcam* ligada a um computador foi usada para filmar o desempenho de cada animal. Após a análise experimental de cada animal o aparato era totalmente limpo. Terminado o experimento, o desempenho de cada camundongo foi analisado pelo “*mousetracker*” (TORT, 2006), um programa de computador que permite analisar o desempenho dos animais por meio dos arquivos de vídeo (Figura 3). Os seguintes comportamentos foram analisados:

- Locomoção: nesse parâmetro foram avaliadas a distância em metros percorrida pelo animal e a velocidade em m/s. A locomoção é tida como um parâmetro motor, não sendo incluída nos nossos dados.
- Percentagem de tempo na porção central: foi avaliada a percentagem de tempo de permanência na porção 30x30cm no centro do campo aberto em relação à porção localizada na periferia, o que é considerado um parâmetro de ansiedade.

O Campo Aberto foi o primeiro experimento a ser realizado, de modo a fazer uma “triagem” na população para definir os grupos experimentais. Para tanto, foi levada em conta a percentagem de tempo na porção central do aparato em relação à periferia. Foram selecionados os 15 animais que apresentaram uma percentagem de tempo maior na porção central – os “alto-exploradores”, os 14 animais que apresentaram uma menor percentagem de tempo na porção central – os “baixo-exploradores”, e também foram selecionados os animais que apresentavam os valores centrais na

percentagem de tempo na porção central – os “médio-exploradores”. A partir de então, os grupos foram submetidos aos diferentes procedimentos comportamentais, sendo que o experimentador não tinha conhecimento de qual grupo experimental cada animal pertencia – testes cegos.

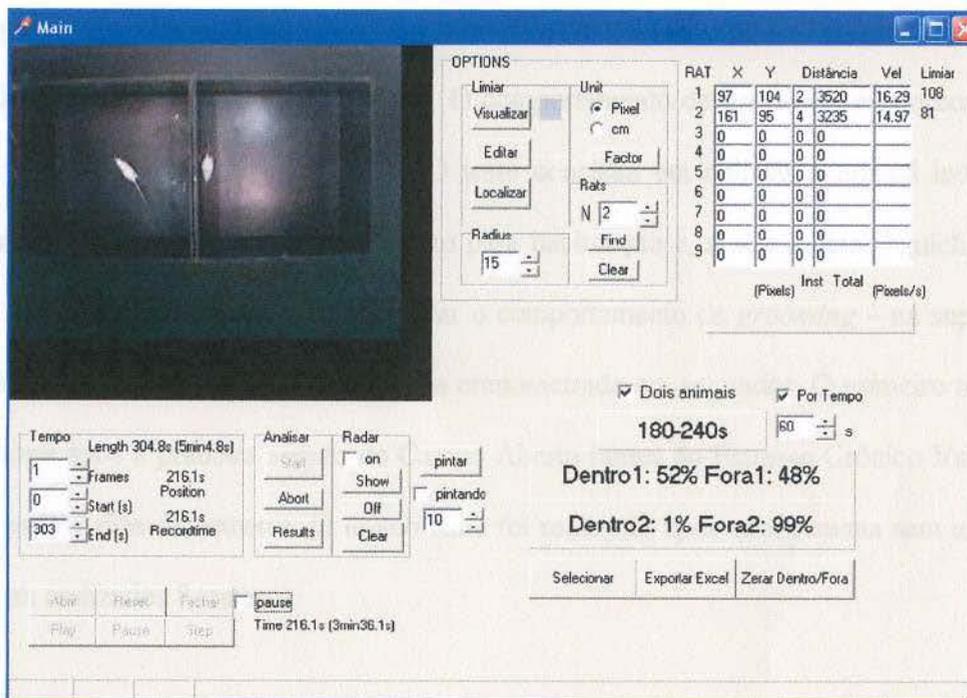


Figura 3: Parâmetros comportamentais no Campo Aberto sendo analisados pelo “mousetracker”.

4.4.2 Pesagem.

Foram realizadas regularmente determinações dos pesos corporais dos grupos experimentais com auxílio de uma pequena balança digital. A primeira pesagem ocorreu uma semana após a primeira sessão do Campo Aberto (antes do Estresse Crônico Variado), e no final de cada 7 dias de estresse. Uma última pesagem foi realizada após uma semana sem estresse. No total, foram realizadas 8 pesagens.

4.4.3 Teste da Auto-limpeza (*Grooming*) (KALUEFF & TUOHIMAA, 2004; YALCIN *et al*, 2005).

Neste teste foi analisado o “*grooming*”, que é o comportamento de auto-limpeza dos animais. O *grooming* consiste na limpeza da pele e da pelagem do corpo do camundongo por lambidas ou esfregamento com as patas dianteiras. O comportamento de *grooming* é tido como uma mediada de conforto/desconforto do animal. O teste consistia em colocar o animal individualmente em uma caixa de “plexiglas” por 1 minuto para habituação e, a seguir, era esguichada uma solução de sacarose 10% - usada para estimular o comportamento de *grooming* – na superfície dorsal do animal. O tempo total de *grooming* era cronometrado em segundos. O primeiro teste ocorreu uma semana após a primeira sessão do Campo Aberto (antes do Estresse Crônico Variado), e no final de cada 7 dias de estresse. O último teste foi realizado após uma semana sem estresse. No total, foram realizados 8 testes.

4.4.4 Teste da Bebida Doce (LI *et al*, 1998).

O Teste da Bebida Doce foi usado para avaliar o comportamento hedônico (ou anedônico, causado pelo estresse) nos grupos experimentais. A partir do dia seguinte à primeira pesagem e ao primeiro teste do *grooming*, foi iniciada uma habituação a uma solução 1:1 de leite condensado Elegê® Tradicional em bebedouros para hamster nas caixas-moradias. A habituação consistiu em 3 dias, nos quais os animais tiveram acesso à solução doce por 7h no primeiro dia, por 4h no segundo dia de habituação, e por 1h no terceiro dia de habituação – sendo que neste último dia, os animais permaneciam em caixas individuais com acesso apenas à solução doce. Os

animais tiveram livre acesso à água e comida nos 2 primeiros dias de habituação. Para realizar o teste, cada animal era colocado individualmente em uma caixa por 20 min para habituação e, a seguir, era apresentado um bebedouro contendo uma solução, que permanecia acessível ao animal por 1h (Figura 4). As garrafas eram pesadas antes e depois do teste para medir o consumo da solução doce. O primeiro teste ocorreu logo após o último dia de habituação, e os testes seguintes foram realizados após cada 7 dias de estresse, nos dias seguintes aos que eram realizados os teste do *grooming*. Foi realizado um último teste após uma semana sem estresse. No total, houve 8 testes.

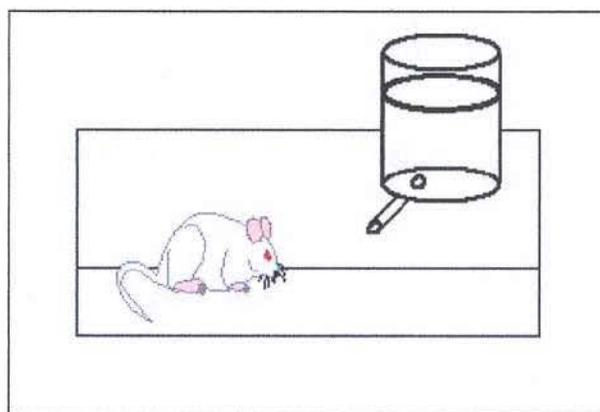


Figura 4: Teste da bebida doce.

4.4.5 Teste do Nado Forçado (PORSOLT *et al*, 1977).

Os animais eram colocados individualmente em um aparato cilíndrico de acrílico transparente medindo 10 cm de diâmetro e contendo água a uma altura de 20 cm, entre 22°C e 24°C (Figura 5). Os animais eram submetidos ao procedimento de natação por 6 minutos. Foi analisado o tempo de imobilidade nos 4 minutos finais do experimento – período que o animal ficou flutuando, com o nariz sobre a superfície da água e fazendo somente movimentos leves com as patas dianteiras ou com a cauda para não submergir (HARGREAVES *et al.*, 2005). No término

de cada sessão de natação os camundongos eram completamente secos utilizando toalhas. Esse teste é amplamente usado para avaliar um possível comportamento “depressivo” ou desamparado no animais.

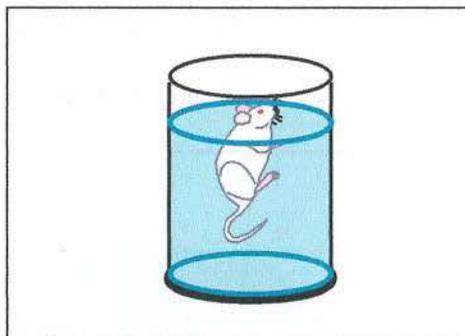


Figura 5: Aparato do Nado Forçado:

4.4.6 Teste da Suspensão pela cauda (STERU *et al*, 1985).

Cada animal era suspenso pela cauda, que estava colada por meio de um esparadrapo num suporte a 1m do solo. O procedimento levou 6 min, no qual foi avaliado o tempo em segundos de imobilidade total do animal – exceto os movimentos respiratórios e os movimentos das vibrissas. Esse teste é amplamente usado para avaliar um possível comportamento “depressivo” ou desamparado no animais.

4.4.7 Teste do Claro-Escuro (KABBAJ *et al*, 2000).

O aparato do claro-escuro consiste em uma caixa de madeira 30x60x30 cm dividida em dois compartimentos de igual tamanho, sendo que um dos compartimentos era pintado de branco e iluminado por uma lâmpada incandescente de 40W, e o outro compartimento era pintado de preto (Figura 6). O experimento ocorreu em uma sala escura com apenas uma leve luz vermelha acesa

para poder observar os camundongos. Cada animal era posicionado no compartimento claro e, ao longo de 10 min, foi contado o tempo em segundos que os camundongos permaneciam em cada compartimento, e o número de cruzamentos que o animal fazia de um compartimento para o outro. Esse teste é usado para avaliar a ansiedade dos animais, uma vez que o ambiente claro é altamente ansiogênico para esses animais.

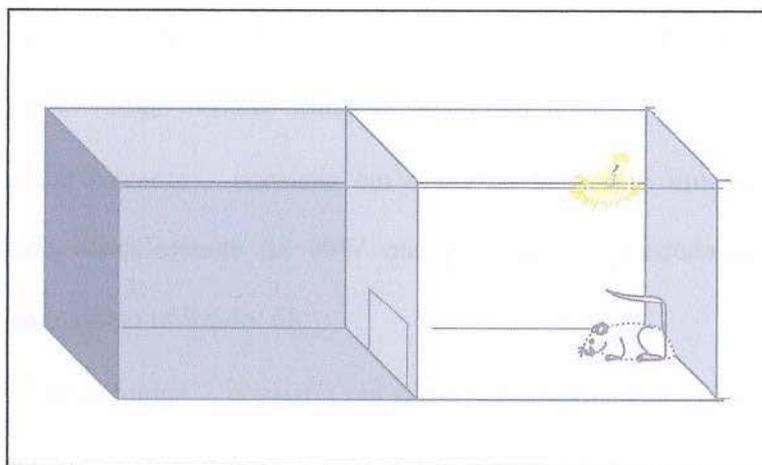


Figura 6: Aparato do Claro-Escuro.

4.4.8 Estresse Crônico Variado.

O estresse crônico variado consiste em submeter os grupos experimentais a diferentes estressores a cada dia, do modo mais imprevisível possível para evitar qualquer habituação do animal. Os estressores utilizados foram adaptados de diferentes modelos de estresse na literatura (FERRETTI *et al*, 1995; GAMARO *et al*, 2003; YALCIN *et al*, 2005) (Figura 7). Os estressores empregados foram:

- Inclinação das caixas-moradia a 45° - tempo máximo utilizado: 6h;
- Barulho – consistia em expor os animais a um som alto e intermitente de alarme. Tempo máximo utilizado: 15 min;

- Suspensão pela cauda – consistia em suspender os animais pela cauda colada por esparadrapo a uma altura de 1m do solo. Tempo de duração: 6 min;
- Maravalha molhada – consistia em usar 140 ml de água para umedecer 35 g de maravalha. Após esse estressor, a maravalha molhada era trocada por uma seca. Tempo máximo utilizado: 2h.
- Frio – consistia em colocar as caixas-moradias dos animais em uma câmara fria a 6°C. Tempo máximo utilizado: 2h;
- Luz piscante – consistia em expor os animais a uma sala escura com uma lâmpada incandescente de 40W que pisca a uma frequência de 60 *flashes*/min. Tempo máximo utilizado: 6h;
- Luz contínua – consistia em expor os animais a um período contínuo de 48h somente em luz acesa;
- Imobilização – consistia em colocar cada animal em um tubo cônico (*Falcon*) de 50 ml. O tubo apresentava um furo para respiração numa extremidade, e um furo na outra extremidade para acomodar a cauda. Tempo máximo utilizado: 3h;
- Nado forçado: consistia em colocar os animais em um aparato cilíndrico de acrílico transparente medindo 10 cm de diâmetro e contendo 20 cm de água entre 22°C e 24°C. Após o estresse, os animais eram secos com toalhas. Tempo empregado: 10 min;
- Choque – cada animal foi submetido a 10 choques de 1s, com intervalos de 2 minutos entre cada choque. Intensidade do choque empregado: de 1 a 1,5 mA.
- Imobilização + frio – consistia em imobilizar os animais nos *Falcons*, e expô-los a uma câmara fria a 6°C. Tempo máximo utilizado: 1h e 30 min.

- Nado forçado + frio – consistia em colocar os animais em um aparato cilíndrico de acrílico transparente medindo 10 cm de diâmetro e contendo 20 cm de água entre 6°C e 8°C. Após o estresse, os animais eram secos com toalhas. Tempo empregado: 5 min.

Os estressores foram aplicados de modo que a intensidade do estresse aumentasse gradativamente ao longo das semanas, com o intuito de detectar qual grupo experimental manifestaria primeiro os efeitos deletérios do estresse mesmo a intensidades menores do estresse. Nas 2 primeiras semanas, foram usados estressores mais leves, nas duas semanas seguintes, estressores médios, e foram usados estressores mais fortes nas 2 últimas semanas. O tempo total de estresse foi de 42 dias.

Neste trabalho não houve um grupo de animais entre os alto, médio e baixo-exploradores que não tenham sido submetidos ao estresse crônico variado – um grupo controle – para poder afirmar sem dúvida que as possíveis mudanças encontradas neste trabalho foram mesmo devido ao estresse ou a outro fator desconhecido.

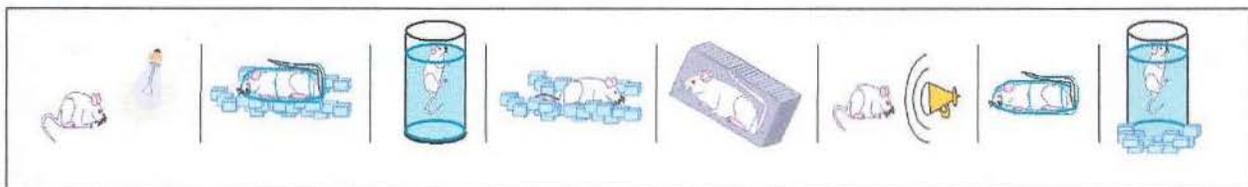


Figura 7: Exemplos de estressores empregados – da esquerda para direita: luz piscante, imobilização + frio, nado forçado, frio, inclinação da gaiola à 45°, barulho, imobilização, nado forçado + frio.

4.4.9 Protocolo experimental.

Abaixo seguem as tabelas 1, 2 e 3 contendo os dias e as horas nas quais foram realizados os procedimentos experimentais. Estão divididas conforme a intensidade progressiva do estresse aplicado.

Semana	Segunda-feira	Terça-feira	Quarta-feira	Quinta-feira	Sexta-feira	Sábado	Domingo
1	Triagem no Open Field.						
2	13.30: Pesagem; 15.30: Teste Grooming.	13 – 20h: Bebida doce.	12 – 16h: Bebida doce.	14 – 15h: Bebida doce - teste.	14h - 15h: Bebida doce - teste.	17.30 – 18.30: Inclinação da gaiola 45°.	10 – 10.10: Barulho.
3	17– 17.06: Suspensão pela cauda.	13 – 14h: Maravalha molhada.	13 – 14h: Frio.	13 – 14.30: Inclinação da gaiola 45°.	13 – 14h: Luz piscante.	13.30: Pesagem; 15.30: Teste Grooming.	14h - 15h: Bebida doce - teste.
4	9.30– 12h: Maravalha molhada.	14 – 15.30: Luz piscante.	13 – 13.06: Suspensão pela cauda.	13 – 15: Frio. 19h: Luz Contínua.	Luz Contínua.	19h: Retirar da Luz contínua	12 – 12.15: Barulho.

Tabela 1: Protocolo experimental contendo 14 dias de estressores leves – em vermelho.

Semana	Segunda-feira	Terça-feira	Quarta-feira	Quinta-feira	Sexta-feira	Sábado	Domingo
5	13.30: Pesagem; 15.30: Teste Grooming.	14h - 15h: Bebida doce - teste	13 – 15h: Imobilização.	13h – 13.10: Nado forçado.	9h: Choque 1mA; 19h – Luz contínua.	Luz contínua.	19h: Retirar da Luz contínua.
6	9.30 – 10.30: Imobilização + Frio.	13.30 – 16h: Luz piscante.	13.30: Pesagem; 15.30: Teste Grooming.		14h - 15h: Bebida doce - teste.	11.30 – 14.30: Barulho; 19h – Luz contínua.	Luz contínua. 9h – Choque 1mA.
7	10 – 10.15: Nado forçado; 19h: Retirar da Luz contínua.	13h – 16h: Imobilização.	9 – 14h: Luz piscante.	13 – 15h: Imobilização + Frio.	9h: Suspensão pela cauda.	13.30: Pesagem; 15.30: Teste Grooming.	14h - 15h: Bebida doce - teste.

Tabela 2: Protocolo experimental contendo 14 dias de estressores moderados – em vermelho.

Semana	Segunda-feira	Terça-feira	Quarta-feira	Quinta-feira	Sexta-feira	Sábado	Domingo
8	18.30 – 18.45: Barulho 19h: Luz Contínua	14 – 17h: Imobilização 19h – Luz Contínua	8h: Nado Frio 19h: Fim Luz Contínua	13 – 17h: Choque 1mA.	8h: Luz Piscante	18 – 19h: Imobilização + Frio.	8 – 12h: Choque 1,5mA.
9	13.30: Pesagem; 15.30: Teste Grooming.	14h - 15h: Bebida doce - teste.	9h: Choque 1,5mA; 18.30: Suspensão pela cauda.	7 – 12h: Inclinação da Gaiola 45°; 17.30: Nado Frio	9 – 13h: Luz Piscante; 16.30 – 19.30: Imobilização	8h: Barulho; 14 – 18h: Choque 1,5mA	11 – 12.30: Imo + Frio; 15 – 20h: Inclinação da Gaiola 45°
10	10.40 – 16.40: Luz Piscante; 20h: Barulho	15 – 16.30: Frio; 18.30 – 21.30: Imobilização	10h: Porsolt	10h: Suspensão pela cauda	13.30: Pesagem; 15.30: Teste Grooming.	14h - 15h: Bebida doce – teste.	10h - Open Field.
11	10h: Claro-escuro.				13.30: Pesagem; 15.30: Teste Grooming.	14h - 15h: Bebida doce – teste.	10h: Claro-escuro.
12	10h: Suspensão pela cauda	10h: Porsolt					

Tabela 3: Protocolo experimental contendo 14 dias de estressores fortes – em vermelho.

5. RESULTADOS

5.1 Avaliação do desempenho quando da exposição a um Campo Aberto (tempo despendido na área central do aparato).

Esta tarefa foi utilizada como um parâmetro de ansiedade para a realização de uma triagem, onde após a exposição à tarefa os animais foram selecionados em três grupos experimentais; alto-exploradores, médio-exploradores e baixo-exploradores. Foram observadas diferenças entre os grupos. Os dados foram analisados por meio de uma ANOVA de uma via. No caso do tempo gasto na área central (em segundos), que é uma avaliação do grau de ansiedade do animal, houve uma diferença significativa entre os grupos [$F(1, 43) = 113.9; P < 0,001$] (Figura 8), sendo o grupo alto-exploradores classificado desta maneira por permanecer mais tempo na área central do aparato em relação ao grupo classificado como baixo-explorador, que permaneceu menos tempo na área central.

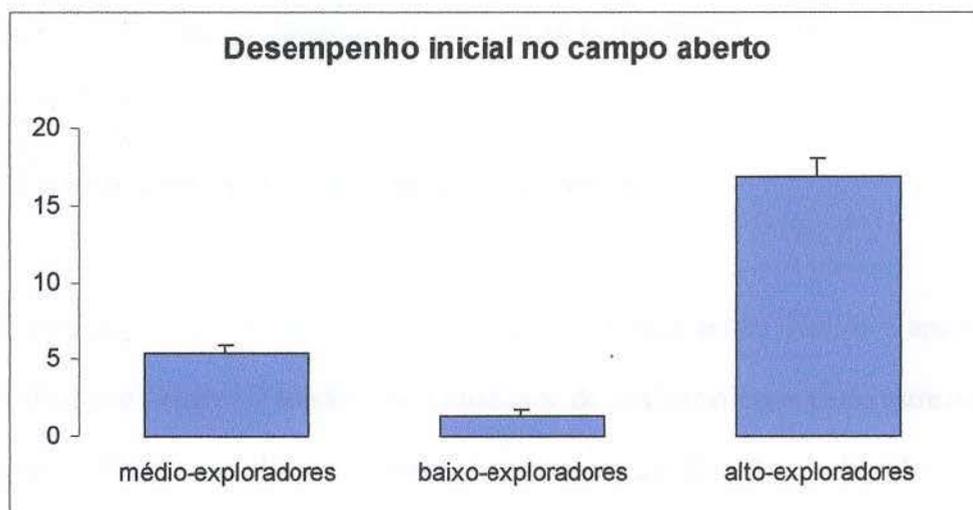


Figura 8: Tempo que o animal permaneceu (em segundos) na área central na tarefa do Campo Aberto (*Open Field*) antes da exposição ao Estresse Crônico Variado em animais classificados como alto-exploradores (n=15), médio-exploradores (n=15) e baixo-exploradores (n=14).

Houve também efeito significativo entre os grupos quando submetidos ao Campo Aberto após aplicação do Estresse Crônico Variado, com o grupo dos baixo-exploradores permanecendo menos tempo na área central e o grupo dos alto-exploradores gastando mais tempo no centro do aparato [$F(1,43) = 4,743$; $P < 0,05$] (Figura 9).

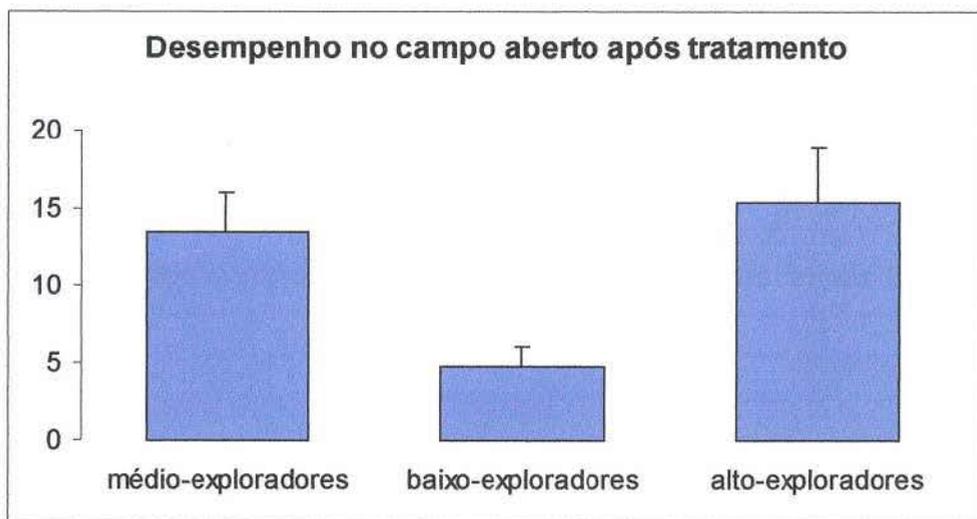


Figura 9: Tempo que o animal permaneceu (em segundos) na área central na tarefa do Campo Aberto após os animais serem submetidos ao Estresse Crônico Variado (*Open Field*), em animais classificados como alto-exploradores (n=15), médio-exploradores (n=15) e baixo-exploradores (n=14).

5.2 Avaliação do peso dos diferentes grupos experimentais.

Nesta análise serão levadas em conta as avaliações do peso antes, durante e após cessar a aplicação do Estresse Crônico Variado com a finalidade de analisar o impacto do estresse sobre o peso dos animais. Não houve diferença entre os grupos antes e durante a aplicação do estresse (semanas 0 a 6) [$F(1, 42) = 0,633$; $P=0,535$], e nem uma semana após cessar o estresse [$F(1, 44)$

= 0,517; P=0,6] (Figura 10), porém houve efeito do tempo, sendo que todos os grupos aumentaram o peso conforme passavam as semanas [F(1, 42) = 14,35; P<0,001] (Figura 11).

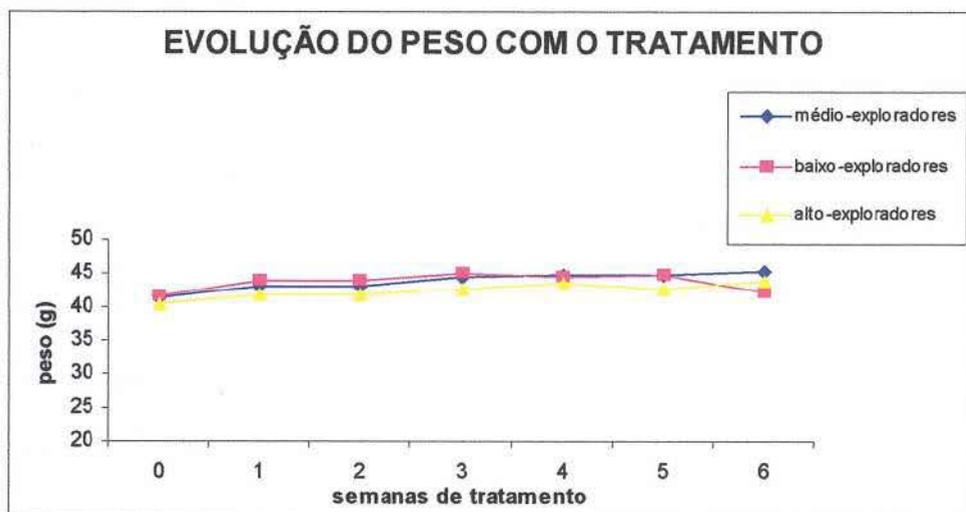


Figura 10: Peso em gramas dos animais antes da aplicação do estresse (semana zero) e durante o estresse (semanas 1 a 6).



Figura 11: Peso em gramas dos animais uma semana após cessar o estresse.

5.3 Avaliação do desempenho de auto-limpeza (*grooming*) dos diferentes grupos experimentais por meio do Teste da Auto-limpeza.

Esta tarefa foi utilizada como parâmetro para analisar o impacto do estresse sobre o comportamento de limpeza (tempo em segundos de *grooming*) como uma maneira de se observar algum efeito decorrente do estresse ao qual os animais estavam sendo submetidos. Foram levadas em conta as análises desse teste comportamental antes do Estresse Crônico Variado (para avaliar o comportamento basal dos camundongos), durante e depois do estresse. Não houve diferença entre os grupos antes e durante a aplicação do modelo de estresse crônico variado (Tabela 4), mas houve uma tendência dos animais de todos os grupos a apresentarem um aumento do tempo de limpeza uma semana após cessar o estresse, embora esse efeito não tenha sido estatisticamente significativo ($p=0,07$ - ANOVA), (média \pm EPM, alto-exploradores: $92,1 \pm 12,2$; baixo-exploradores: $105,8 \pm 13,5$; médio-exploradores: $97,6 \pm 12,1$). Os dados são apresentados por meio de tabela com as médias de tempo em segundos de auto-limpeza nos três grupos (alto-exploradores, médio-exploradores e baixo-exploradores) antes do estresse (semana zero) e durante o estresse (semanas 1 a 6).

Semanas	Alto-exploradores	Médio-exploradores	Baixo-exploradores
	Média \pm EPM	Média \pm EPM	Média \pm EPM
0	93 \pm 11,84	84,2 \pm 10,64	75,13 \pm 9,47
1	54,33 \pm 10,15	68,86 \pm 12,77	49,66 \pm 10,38
2	68,86 \pm 8,80	76,6 \pm 10,27	87,93 \pm 10,98
3	69,53 \pm 9,75	84,93 \pm 10,97	82,66 \pm 8,40
4	70,86 \pm 8,58	70,2 \pm 11,59	83,6 \pm 13,07

5	64,46+/-9,34	73+/-7,53	68,26+/-8,71
6	68,06+/-7,22	74,4+/-11,52	68,46+/-9,81

Tabela 4: Dados mostrando médias e erro padrão do tempo gasto (em segundos) na tarefa de auto-limpeza antes da aplicação do estresse (semana zero) e durante o estresse (semanas 1 a 6).

5.4 Avaliação do consumo de bebida doce antes, durante e após aplicação do Estresse Crônico Variado.

Foram levadas em conta as análises desse teste comportamental antes, durante e após uma semana sem a aplicação do Estresse Crônico Variado, com a finalidade de analisar o impacto do estresse sobre esse comportamento alimentar. Comparando-se o consumo de doce antes do estresse e após uma semana do início de estresse se observa diferença significativa entre os grupos, com os alto-exploradores consumindo menos bebida doce [$F(1, 38) = 11,42; P=0,001$] (Figura 12). Também há um efeito significativo do estresse, com os grupos ingerindo menos bebida doce após exposição ao estresse [$F(1, 38) = 4,03 P<0,05$]. Não houve diferença significativa entre os grupos no consumo de bebida doce durante as seis semanas de exposição ao estresse [$F(1, 33) = 2,102 P=0,138$]. Houve, porém, uma diferença significativa no consumo de bebida doce uma semana após o término do estresse crônico variado, onde o grupo dos animais classificados como baixo-exploradores apresentaram um consumo diminuído em relação ao grupo dos médio-exploradores (Figura 13). Para esse resultado foi realizado uma ANOVA de uma via [$F(1, 33) = 3,117 P=0,05$], seguida do teste de raio múltiplo de Duncan.

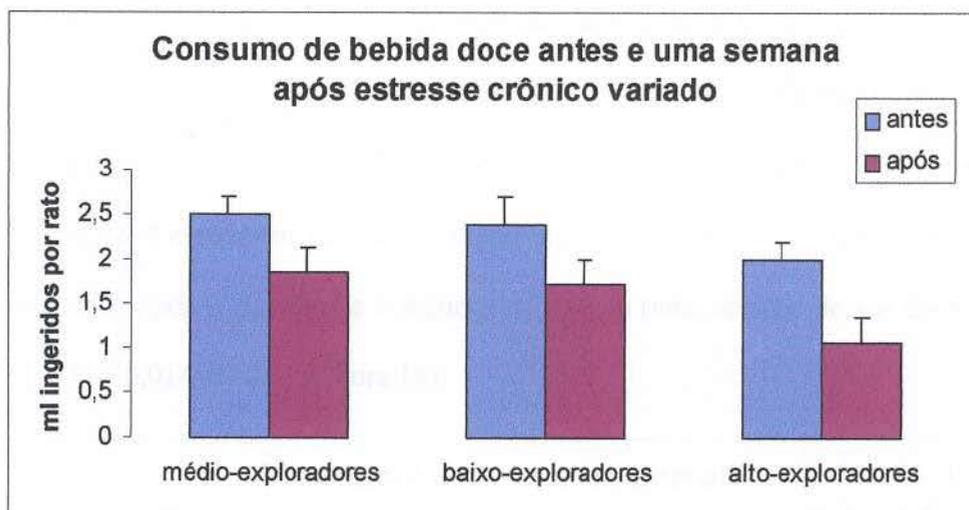


Figura 12: Quantidade ingerida em ml de bebida doce antes do estresse e após uma semana de estresse. Grupos: alto-exploradores (n=15), médio-exploradores (n=15) e baixo-exploradores (n=15).

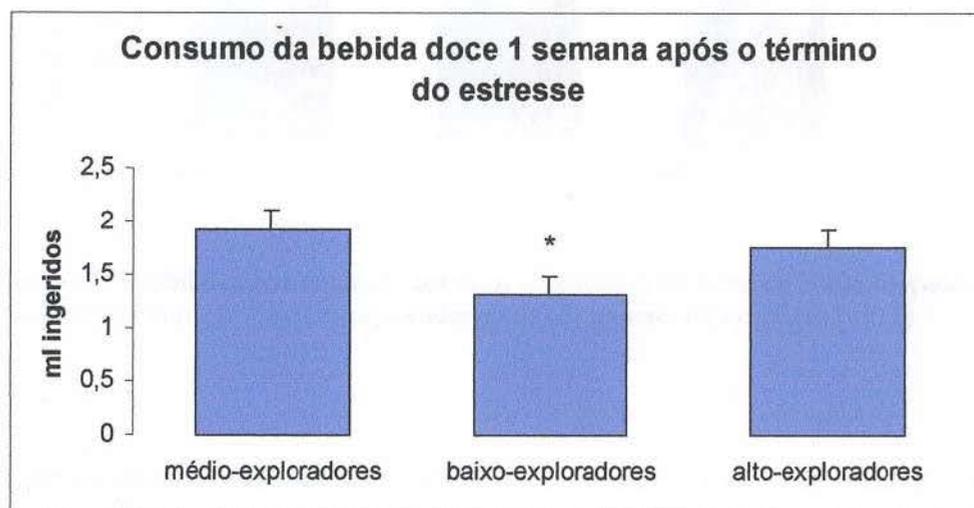


Figura 13: Quantidade ingerida em ml de bebida doce uma semana após o término do estresse. Grupos: alto-exploradores (n=15), médio-exploradores (n=15) e baixo-exploradores (n=15).

5.5 Avaliação do comportamento desamparado ou “depressivo” por meio do Teste do Nado Forçado (*Porsolt*).

Neste experimento analisamos o tempo de imobilidade em segundos dos animais submetidos ao Teste do Nado Forçado (*Porsolt*) logo após exposição ao Estresse Crônico Variado e uma semana depois do término do estresse. Não houve diferença significativa entre os grupos [$F(1, 41) = 1,781$; $P=0,181$] e também não houve efeito significativo entre a primeira exposição do animal ao teste (logo após o estresse) e a segunda exposição (uma semana depois do término do estresse) [$F(1, 41) = 0,014$; $P=0,9$] (Figura 14).

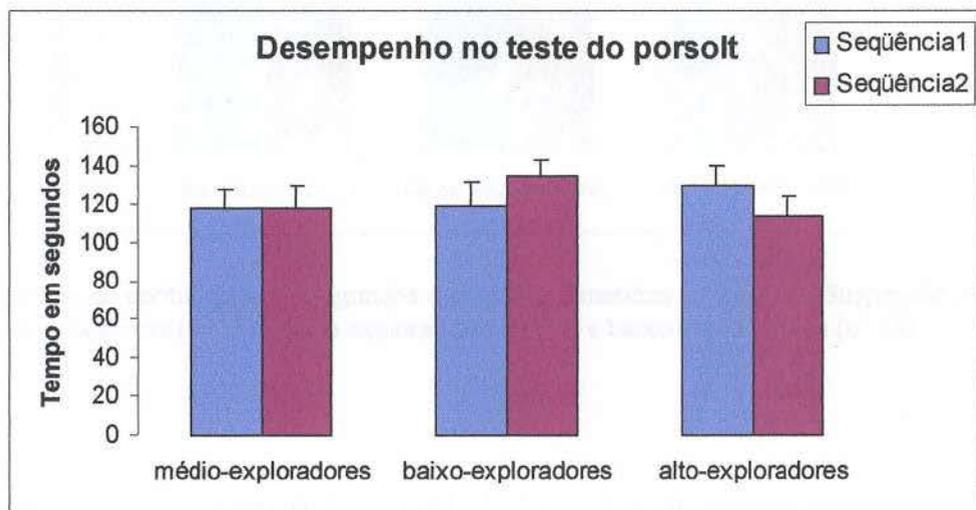


Figura 14: Tempo de imobilidade em segundo dos ratos submetidos ao Teste do Nado Forçado (*Porsolt*). Grupos: alto-exploradores (n=15), médio-exploradores (n=15) e baixo-exploradores (n=15).

5.6 Avaliação do comportamento desamparado ou “depressivo” por meio do Teste da Suspensão pela Cauda.

Neste experimento analisamos o tempo de imobilidade em segundos nos animais submetidos ao Teste da Suspensão pela cauda logo após exposição ao Estresse Crônico Variado e uma semana depois do término do estresse. Não foi observada diferença significativa entre os grupos [$F(1, 41) = 0,066$; $P=0,935$], porém houve efeito significativo do tempo, mostrando desempenhos

diferentes entre as duas medidas (logo após o estresse e uma semana após o término do estresse) [$F(1, 41) = 7,848; P=0,007$] (Figura 15).

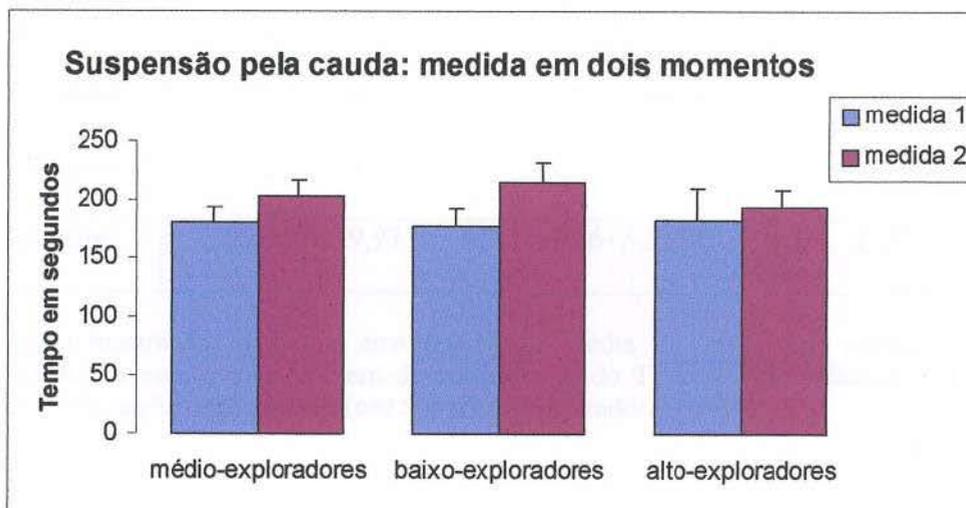


Figura 15: Tempo de imobilidade em segundos dos ratos submetidos ao Teste da Suspensão pela cauda. Grupos: alto-exploradores (n=15), médio exploradores (n=15) e baixo-exploradores (n=15).

5.7 Avaliação da ansiedade por meio do Teste do Claro-Escuro.

Neste experimento analisamos o impacto do Estresse Crônico Variado sobre a ansiedade dos diferentes grupos experimentais por meio do Teste do Claro-Escuro. Não houve diferença entre os grupos nos tempos de permanência no compartimento escuro [$F(1, 43) = 1,354; P=0,269$], no compartimento claro [$F(1, 43) = 1,354; P=0,269$] e nem no número de cruzamentos [$F(1, 43) = 0,037; P=0,963$] (Tabela 5).

	Lado Claro	Lado Escuro	Cruzamentos
Grupo	Média+/- EPM	Média+/- EPM	Média+/- EPM
Baixo-Exploradores	175,7+/-16,45	424,2+/-16,45	41,07+/-4,39
Médio-Exploradores	202,5+/-24,53	397,4+/-24,53	42,86+/-4,28
Alto-Exploradores	233,3+/-29,97	366,6+/-29,97	41,86+/-5,04

Tabela 5: Dados mostrando médias e erro padrão da média do tempo em segundos gasto no compartimento claro e escuro e do número de cruzamentos do Teste do Claro-Escuro. Grupos: alto-exploradores (n=15), médio-exploradores (n=15) e baixo-exploradores (n=15).

6 DISCUSSÃO

As variações entre diferentes traços comportamentais têm sido alvo de interesse de filósofos e cientistas ao longo da história – relatos remetem até os períodos mais remotos da humanidade, tais como as definições dos humores de Hipócrates, por exemplo (KAPLAN & SADOCK, 1997). Apesar de existirem diversas definições e modelos de temperamento – que variam tanto nas correntes filosóficas ou científicas quanto nas distintas fases da história – observa-se que todas as versões possuem algum aspecto em comum. Esse aspecto refere-se à constatação de que há indivíduos os quais podem apresentar traços cujas emoções mais básicas, encontradas largamente no reino animal, podem variar na sua predominância – o medo e a raiva (LARA, 2006). Relembrando, entenda-se por raiva o componente ativador de comportamentos, enquanto que o medo é o componente de inibição de comportamentos, relacionados aos temperamentos de busca de novidades e de evitação de risco, respectivamente (CLONINGER, 1993; LARA, 2006).

Estudos referentes à individualidade dos animais, sejam selvagens, sejam domésticos ou de laboratório, já demonstraram evidências comportamentais compatíveis com os temperamentos de busca de novidades e de evitação de risco em humanos. Tarefas comportamentais em modelos animais que envolvem um componente ansiogênico, tais como o labirinto em cruz elevado e o campo aberto, são usados para selecionar grupos de ratos ou camundongos com diferentes extremos de ansiedade. O desempenho dos animais nessas tarefas é correlacionável ao desempenho em outras tarefas comportamentais – não só àquelas que também envolvem a ansiedade, mas também em outras que envolvem a atividade exploratória ou a agressividade, por exemplo (HO *et al*, 2002; KAZLAUCKAS *et al*, 2005; KABBAJ *et al*, 2000; RAY & HANSEN, 2004; STREKALOVA *et al*, 2004; VEENEMA *et al*, 2003). Isso indica que os traços

comportamentais são relativamente estáveis em diferentes parâmetros emocionais e ao longo do tempo, o que torna os modelos animais válidos para o estudo do temperamento em humanos.

De acordo com teorias evolucionistas, é adaptativo para uma espécie conter indivíduos com diferentes estratégias comportamentais dentro de uma população (MAYNARD, 1982). Uma vez que o ambiente constantemente apresenta mudanças, obstáculos e desafios para os animais, determinado traço comportamental pode ser favorecido em uma dada situação, até que esta situação se inverta, favorecendo aqueles com diferentes traços comportamentais (KORTE *et al*, 2005). Cada tipo de traço comportamental, ou temperamento, é em grande parte influenciado por sua própria base biológica subjacente – o que tem sido bem caracterizado em estudos com humanos e animais (WHITTLE *et al*, 2006). Essa base biológica leva cada temperamento a lidar com os desafios, ou estressores, de formas diferenciadas, porém ambas adaptativas: indivíduos buscadores de novidade, por apresentarem um alto tônus dopaminérgico, um baixo tônus serotoninérgico e uma elevada atividade do eixo hipotálamo-hipófise-gonadal, apresentam um comportamento de luta – o que aumenta seu desempenho na conquista de recursos, ao passo que os evitadores de risco, por apresentarem um elevado tônus serotoninérgico e a atividade do eixo hipotálamo-hipófise adrenal aumentada, apresentam um comportamento de congelamento – o que aumenta a probabilidade de não haver ferimentos em lutas e a conservação de energia (KOOLHAAS *et al*, 1999; KORTE *et al*, 2005).

Apesar dos aspectos adaptativos, ambos os temperamentos apresentam fisiologias que podem levar a um custo ao enfrentar um estresse, como por exemplo, a suscetibilidade a determinada psicopatologia. Indivíduos que exibem altos traços de evitação de dano são mais vulneráveis a transtornos de ansiedade e à depressão maior (CLONINGER, 2006; LARA, 2006). O objetivo deste trabalho foi analisar, por meio de um modelo animal, o impacto de um o estresse crônico variado – um modelo animal de depressão (GAMARO *et al*, 2003; YALCIN *et al*, 2005), sobre

diferentes parâmetros emocionais de camundongos que apresentam perfis diferenciados quanto à atividade exploratória no Campo Aberto. Uma vez estabelecidos os grupos experimentais – os alto, médio e baixo-exploradores, foram analisados alguns parâmetros físicos e comportamentais antes do estresse crônico, a fim de verificar possíveis diferenças entre os grupos.

O campo aberto, empregado para estabelecer os grupos experimentais, já demonstrou em trabalhos anteriores do nosso grupo que os camundongos apresentam um padrão de comportamento estável ao longo do tempo nessa tarefa (KAZLAUCKAS *et al*, 2005). Esse padrão continuou ocorrendo nesse trabalho mesmo depois dos animais terem sido submetidos ao estresse crônico – os alto-exploradores continuaram apresentando maiores percentagens de tempo na porção central do campo aberto, enquanto os baixo-exploradores continuaram apresentando as menores percentagens de tempo na porção central do campo aberto.

Conforme pôde ser verificado, não houve diferença entre os grupos na primeira medida de peso, o que demonstra que esse parâmetro físico não está relacionado com outros parâmetros comportamentais, tais como a exploração do campo aberto. Porém, mudanças de peso causadas por fatores estressantes ou por transtornos de humor – como a depressão, são amplamente relatadas na literatura (KAPLAN & SADOCK, 1997; NESTLER *et al*, 2002, YALCIN *et al*, 2005). É observado que animais submetidos a protocolos de estresse crônico apresentam perda de peso, o que é tido como um efeito do tipo depressivo sobre o comportamento alimentar dos animais (YALCIN *et al*, 2005). Porém, neste trabalho, não foram encontradas diferenças de peso entre os grupos experimentais ao longo do estresse e após o estresse. O que pôde ser observado foi um efeito significativo do tempo, onde todos grupos experimentais apresentaram ganho de peso, uma observação comum nesses animais. Um grupo controle – que não tenha sido submetido ao estresse – seria útil para determinar se o ganho de peso ocorreu normalmente ou sofreu influência do estresse. Uma possibilidade é que o protocolo de estresse crônico utilizado

não tenha sido estressante o suficiente para os animais a ponto de causar uma perda de peso semelhante ao encontrado em animais “deprimidos”. O protocolo usado, porém, pode ter causado uma modificação no comportamento dos camundongos de modo que eles apresentassem um aumento do consumo de alimento, o que está de acordo com outros protocolos de estresse que induzem uma hiperfagia nos animais e com relatos em humanos (OLIVER & WARDLE, 1998).

O comportamento de *grooming*, que é uma medida de conforto do animal, é observado como parâmetro para indicar possíveis alterações induzidas por estresse (KALUEFF & TUOHIMAA, 2004). Verificou-se que o desempenho dos animais no campo aberto não é correlacionado, inicialmente, ao comportamento de *grooming*. Também não foi encontrada diferença entre os grupos no decorrer do estresse, o que contraria os achados de estresse crônico em camundongos nos quais o *grooming* apresenta uma diminuição gradativa ao longo do estresse – indicando maior sentimento de desconforto do animal (YALCIN *et al*, 2005). Porém, foi encontrado neste trabalho um aumento do *grooming* – sem diferença significativa entre os grupos – após uma semana sem estresse. Isso pode indicar uma demonstração de conforto dos animais pelo término do estresse.

Uma vez que a anedonia é um dos principais sintomas de depressão (KAPLAN & SADOCK, 1997; NESTLER *et al*, 2002), experimentos que fazem uso de alimentos palatáveis são amplamente empregados em analisar um possível comportamento depressivo em modelos animais (GAMARO *et al*, 2003; STREKALOVA *et al*, 2004; YALCIN *et al*, 2005:). Neste trabalho foi usado o teste da bebida doce para avaliar tal medida. Não houve diferenças iniciais entre o comportamento hedônico dos camundongos com o desempenho dos animais no campo aberto. Porém, depois de uma semana de estresse foi encontrada uma diminuição do consumo de bebida doce pelos animais, sendo que os alto-exploradores consumiram menos comparados aos outros grupos. Esse efeito pode ter sido devido à uma maior atividade locomotora do grupo, que

apresenta um comportamento mais ativo que os demais, e não a um efeito anedônico. Uma semana de estresse pode ter induzido uma agitação maior nos alto-exploradores, o que os impediu de consumir a bebida doce. A seguir, não foram encontradas diferenças no consumo de bebida doce ao longo do estresse, o que pode ser explicável devido a uma adaptação dos animais à característica progressiva e gradual da intensidade do estresse usado no protocolo de estresse neste trabalho. Porém, após uma semana sem estresse, o grupo dos baixo-exploradores consumiu menos bebida doce comparado aos demais. Esse efeito pode ter sido decorrente do fato desse grupo se recuperar mais lentamente do estresse, pois indivíduos mais ansiosos, ou do tipo evitação de risco, apresentam uma atividade do eixo HHA mais prolongada após um estresse (KABBAJ *et al*, 2000; KABBAJ, 2004; KORTE *et al*, 2005; VEENEMA *et al*, 2003).

O teste do nado forçado, usado para avaliar comportamentos do tipo desamparado ou “depressivo” – por meio da medida de imobilidade do animal, é muito usado para testar novos antidepressivos (PORSOLT *et al*, 1977). Nesse teste, porém, não foi encontrada relação entre os grupos experimentais com o comportamento desamparado no nado forçado quando realizado logo após a última semana de estresse. Também não foram encontradas diferenças depois de uma semana sem estresse. É importante levar em conta que a utilização do nado forçado como estressor no protocolo de estresse crônico variado pode ter sido um viés para influenciar no resultado, ou seja, pode ter ocorrido o aprendizado à situação de desamparo, na qual o animal demonstra imobilidade para economizar energia de uma situação sem escapatória. Outra possibilidade é que não haja correlação entre a ansiedade ou exploração com um comportamento inescapável, porém pode haver correlação da locomoção no campo aberto com o desempenho no nado forçado (HO *et al*, 2002). É sugerido que essa correlação pode ser encontrada pelo fato de ambos compartilharem o mesmo mecanismo fisiológico, o qual há uma interação entre o sistema dopaminérgico com o serotoninérgico (HO *et al*, 2002).

O teste da suspensão pela cauda, assim como o nado forçado, também é empregado para avaliar comportamento desamparado (STERU *et al*, 1985). Não foram encontradas diferenças entre os grupos experimentais no teste realizado logo após uma semana de estresse ou após uma semana sem estresse. Isso pode ter ocorrido devido a um mecanismo semelhante ao que ocorreu no nado forçado. Foi encontrada, porém, apenas uma diferença entre as duas sessões, na qual os camundongos apresentaram um maior tempo de imobilidade na segunda sessão. Esse maior tempo de imobilidade, semelhante ao nado forçado, pode ter sido decorrência do aprendizado dessa situação inescapável. Também é importante levar em conta que o fato da suspensão pela cauda ter sido usado como um estressor pode ter sido um viés no resultado encontrado. Isso pode ter ocorrido devido a um mecanismo semelhante ao que ocorreu no nado forçado.

O teste do claro-escuro, usado para avaliar a ansiedade de ratos e camundongos, vale-se da preferência natural por esses animais noturnos por ambientes escuros e pela evitação de ambientes claros. Neste trabalho não foi encontrada diferença entre os grupos quanto à ansiedade, quando verificada logo após o estresse e após uma semana sem estresse. Achados em trabalhos anteriores do nosso grupo encontraram uma correlação positiva entre o desempenho dos camundongos no campo aberto com o resultado obtido no teste do claro-escuro – os alto-exploradores apresentaram menor ansiedade comparados aos baixo exploradores. (KAZLAUCKAS *et al*, 2005). A ausência de diferença encontrada neste trabalho pode ser resultado da exposição ao estresse crônico, que pode ter induzido o mesmo grau de ansiedade nos diferentes grupos.

Apesar deste trabalho não ter usado exatamente o mesmo protocolo de estresse crônico descrito como modelo de depressão para camundongos (YALCIN *et al*, 2005), este trabalho pôde apontar alguns resultados no que diz respeito a diferenças de temperamento em animais e como o estresse os afeta. Parte dos resultados obtidos pode ser atribuído à natureza progressiva e gradual

do protocolo de estresse crônico empregado, que provavelmente levou os animais a desenvolverem uma série de adaptações comportamentais e fisiológicas – exercidas, principalmente, pelo eixo HHA.

Logo, ficam como perspectivas para futuros trabalhos a utilização do protocolo tradicional de estresse crônico variado para camundongos, a utilização de grupos controles para poder diferenciar os efeitos causados pelo estresse de outras variáveis desconhecidas, e medidas bioquímicas – tais como de corticosterona – de modo a obter evidências mais sólidas que vão ao encontro da literatura.

Conforme descrito por LARA & AKISKAL, 2006, os temperamentos nos quais predominam traços de medo excessivo são propostos como sendo a base para os transtornos de ansiedade, depressão e de transtornos de personalidade do *cluster C*, enquanto que os traços de baixo medo (com descuido e impulsividade) seriam a base para a hiperatividade vista em pacientes bipolares hipertímicos, mania monopolar, Transtorno de Déficit de Atenção e Hiperatividade (TDAH), entre outras. Sugere-se que os traços de raiva excessiva sejam as bases comuns de transtornos bipolares (apetitivo), transtornos de impulso, transtornos de personalidade do *cluster B*, e da maioria das diáteses para abuso de drogas, enquanto que a baixa raiva seria o principal substrato para falta de atenção e para a concentração reduzida no TDAH, e também contribuiria para a depressão unipolar. Traços moderados de medo e raiva predisporiam à eutímia ou ao baixo risco de desenvolver transtornos psiquiátricos.

Assim, a importância do estudo da neurobiologia do temperamento dá-se na busca de uma melhor compreensão das origens das psicopatologias. Tal abordagem fornece importantes informações sobre os fatores de risco para diversas psicopatologias, assim como também oferece uma estrutura para a aplicação de intervenções precoces mais sensíveis e de estratégias de neuroproteção. Para tanto, modelos em animais em experimentação têm se mostrado muito úteis.

REFERÊNCIAS

- ADOLPHS, R., DAMASIO, A. R. **Neurobiology of emotion at a systems level**. New York: Oxford University, 2000. 19p.
- AKISKAL, H. S., HANTOUCHE, E. G., BOURGEOIS, M. L., AZORIN, J. M., SECHTER, D., ALLILAIRE, J. F., LANCRENON, S., FRAUD, J. P., CHATENET-DUCHENE, L. Gender, temperament, and the clinical picture in dysphoric mixed mania: findings from a French national study (EPIMAN). **J Affect Dis**, 50, p. 175-186, 1998.
- ALLMAN, J.M., HAKEEM, A., ERWIN, J.M., NIMCHINSKY, E., HOF, P. The anterior cingulate cortex. The evolution of an interface between emotion and cognition. **Ann N Y Acad Sci**, 935, p. 107-117, May, 2001.
- ANSORGE, M.S., ZHOU, M., LIRA, A., HEN, R., GINGRICH, J.A. Early-life blockade of the 5-HT transporter alters emotional behavior in adult mice. **Science**, 29, p. 879-881, Oct, 2004.
- BANDELOW, B., KRAUSE, J., WEDEKIND, D., BROOCKS, A., HAJAK, G., RUTHER, E. Early traumatic life events, parental attitudes, family history, and birth risk factors in patients with borderline personality disorder and healthy controls. **Psychiatry Res**, 134, p. 169-179, Apr, 2005.
- BENJAMIN, J., EBSTEIN, R.P., LESCH, K.P. Genes for personality traits: implications for psychopathology. **Int J Neuropsychopharmacol**, 1, p. 153-168, Dec, 1998.

BANNERMAN, D.M., RAWLINS, J.N., McHUGH, S.B., DEACON, R.M., YEE, B.K., BAST, T, ZHANG, W.N., POTHUIZEN, H.H., Feldon J. Regional dissociations within the hippocampus--memory and anxiety. **Neurosci Biobehav Rev**, 28, p. 273-283, May, 2004.

BERRIDGE, K.C., ROBINSON, T.E. What is the role of dopamine in reward: hedonic impact, reward learning, or incentive salience? **Brain Res Brain Res Rev**, 28, p. 309-369, Dec, 1998.

BOWIRAT, A., OSCAR-BERMAN, M. Relationship between dopaminergic neurotransmission, alcoholism, and reward deficiency syndrome. **Am J Med Genet B Neuropsychiatr**, 132, p. 29-37, 2005.

CAMERON, N.M., CHAMPAGNE, F.A., PARENT, C., FISH, E.W., OZAKI-KURODA, K., MEANEY, M.J. The programming of individual differences in defensive responses and reproductive strategies in the rat through variations in maternal care. **Neurosci Biobehav Rev**, 29, p. 843-865, 2005.

CANLI, T. Functional brain mapping of extraversion and neuroticism: learning from individual differences in emotion processing. **J Pers**, 72, p. 1105-1132, Dec, 2004.

CHAPMAN, D.P., WHITFIELD, C.L., FELITTI, V.J., DUBE, S.R., EDWARDS, V.J., ANDA, R.F. Adverse childhood experiences and the risk of depressive disorders in adulthood. **J Affect Disord**, 82, p. 217-225, Oct, 2004.

CLONINGER, C.R., SVRAKIC, D.M., PRZYBECK, T.R. A psychobiological model of temperament and character. **Arch Gen Psychiatry**, 50, p. 975-990, Dec, 1993.

CLONINGER, C. R. A new conceptual paradigm from genetics and psychobiology for the science of mental health. **Austr N Zeal J Psych**, 33, p. 174-186, 1999.

CLONINGER, C. R., SVRAKIC, D. M., PRZYBECK, T. R. Can personality assessment predict future depression? A twelve-month follow-up of 631 subjects. **J of Affec Dis**, 92, p. 35-44, 2006.

COMPAAAN, J.C., HUTCHSON, J.B., WOZNIAK, A., de RUITER, A.J., KOOLHAAS, J.M. Brain aromatase activity and plasma testosterone levels are elevated in aggressive male mice during early ontogeny. **Brain Res Dev Brain Res**, 82, p. 185-192, Oct, 1994.

CRESTANI, F., LOREZ, M., BAER, K., ESSRICH, C., BENKE, D., LAURENT, J.P., BELZUNG, C., FRITSCHY, J.M., LUSCHER, B., MOHLER, H. Decreased GABAA-receptor clustering results in enhanced anxiety and a bias for threat cues. **Nat Neurosci**, 2, p. 833-839, Sep, 1999.

DAITZMAN, R.; ZUCKERMAN, M. Disinhibitory sensation seeking, personality and gonadal hormones. **Pers Individ Diff**, 1, p. 103-110, 1980.

DALLMAN, M. F.; Akana, S. F.; Scribner, K. S; Pecoraro, N.; La Fleur, S. E; Houshyar, H.; Gomez, F. Chronic stress-induced effects of corticosterone on brain: direct and indirect. **Annals of the New York Academy of Sciences**, 1018, p.141-150, Jun, 2004.

DAVIDSON, R.J., ABERCROMBIE, H., NITSCHKE, J.B., PUTNAM, K. Regional brain function, emotion and disorders of emotion. **Curr Opin Neurobiol**, 9, p. 228-234, Apr, 1999.

DAVIDSON, R.J., HENRIQUES, J., **Regional brain function in sadness and depression**. New York: Oxford University, 2000. 31p.

DAVIDSON, R. J., LEWIS, D. A., ALLOY, L. B., AMARAL, D. G., BUSH, G., COHEN, J. D. Neural and behavioral substrates of mod and mood regulation. **Biol Psych**, 52, p. 478-502, 2002.

DAVIDSON, R.J., IRWIN, W. The functional neuroanatomy of emotion and affective style. **Trends Cogn Sci**, 3, p. 11-21, Jan, 1999.

De BOER, S.F., LESOURD, M., MOCAER, E., KOOLHAAS, J.M. Selective antiaggressive effects of alnespirone in resident-intruder test are mediated via 5-hydroxytryptamine_{1A} receptors: A comparative pharmacological study with 8-hydroxy-2-dipropylaminotetralin, ipsapirone, buspirone, eltoprazine, and WAY-100635. **J Pharmacol Exp Ther**, 288, p. 1125-1133, Mar, 1999.

De BOER, S.F., Van Der VEGT, B.J., KOOLHAAS, J.M. Individual variation in aggression of feral rodent strains: a standard for the genetics of aggression and violence? **Behav Genet**, 33, p. 485-501, Sep, 2003.

De KLOET, E.R., VREUGDENHIL, E., OITZL, M.S., JOELS, M. Brain corticosteroid receptor balance in health and disease. **Endocr Rev**, 19, p. 269-301, Jun, 1998.

ENGLER O., PHAM, T., FULLENON, M.J., OOI, G., FUNDER, J.W., CLARKE, I.J. Studies of the secretion of corticotropin releasing factor and arginin vasopressin into hypophyseal portal circulation of the concius sheep. **Neuroendocrinol**, 49, p. 367-381, 1989.

FERRETTI, C., BLENGIO, M., GALAMERO, S.R., GHI, P. Biochemical and behaviour changes induced by acute stress in a chronic variate stress model of depression: the effect of amitriptyline. **Eur J Pharmacol**, 280, p. 19-26, Jun, 1995.

GAMARO, G.D, MANOLI, L.P., TORRES, I.L., SILVEIRA, R., DALMAZ, C. Effects of chronic variate stress on feeding behavior and on monoamine levels in different rat brain structures. **Neurochem Int**, 107, p. 107-114, Jan, 2003.

GRAY, J.A., McNAUGHTON, N. **The neuropsychology of Anxiety**. Oxford: Oxford University Press, 2000.

GONDA, X., RIHMER, Z., ZSOMBOK, T., BAGDY, G., AKISKAL, K.K., AKISKAL, H.S. The 5HTTLPR polymorphism of the serotonin transporter gene is associated with affective temperaments as measured by TEMPS-A. **J Affect Disord**, 91, p. 125-131, Apr, 2006.

HAMANN, S., MAO, H. Positive and negative emotional verbal stimuli elicit activity in the left amygdala. **Neuroreport**, 13, p. 15-19, Jan, 2002.

HARGREAVES G. A.; MCGREGOR, I. S.; SACHDEV, P. S. Chronic repetitive transcranial magnetic stimulation is antidepressant but not anxiolytic in rat models of anxiety and depression. **Psychiatry Res**, 15, 137, (1-2), p. 113-121, Nov, 2005.

HARIRI, A.R., DRABANT, E.M., MUNOZ, K.E., KOLACHANA, B.S., MATTAY, V.S., EGAN, M.F., WEINBERGER, D.R. A susceptibility gene for affective disorders and the response of the human amygdala. **Arch Gen Psychiatry**, 62, p. 146-152, Feb, 2005.

HARMON-JONES, E., ALLEN, J.J. Behavioral activation sensitivity and resting frontal EEG asymmetry: covariation of putative indicators related to risk for mood disorders. **J Abnorm Psychol**, 106, p. 159-163, Feb, 1997.

HENNIG, J., TOLL, C., SCHONLAU, P., ROHRMANN, S., NETTER, P. Endocrine responses after d-fenfluramine and ipsapirone challenge: further support for Cloninger's tridimensional model of personality. **Neuropsychobiology**, 41, p. 38-47, 2000.

HERMAN J.P., FIGUEIREDO, H., MUELLER, N.K., ULRICH-LAI, Y., OSTRANDER, M.M., CHOI, D.C., CULLINAM, W.E. Central mechanisms of stress integration: hierarchical circuitry controlling hypothalamo-pituitary-adrenocortical responsiveness. **Front Neuroendocrinol**, 24, (3), p. 151-180, Jul, 2003.

HIGLEY, J.D., LINNOILA, M. A nonhuman primate model of excessive alcohol intake. Personality and neurobiological parallels of type I- and type II-like alcoholism. **Recent Dev Alcohol**, 13, p. 191-219, 1997.

HO, Y.J., EICHENDORFF, J., SCHWARTING, R.K. Individual response profiles of male Wistar rats in animal models for anxiety and depression. **Behavioural Brain Research**, 136, p. 1-12, Apr, 2002.

JOYCE, P.R., MCKENZIE, J.M., LUTY, S.E., MULDER, R.T., CARTER, J.D., SILLIVAN, P.F., CLONINGER, C.R. Temperament, childhood environment and psychopathology as risk factors for avoidant and borderline personality disorders. **Aust N Z J Psychiatry**, 37, p. 756-764, Dec, 2003.

KABBAJ, M., DEVINE, D.P., SAVAGE, V.R., AKIL, H. Neurobiological correlates of individual differences in novelty-seeking behavior in the rat: differential expression of stress-related molecules. **J Neurosci**, 20, p. 6983-6988, Sep, 2000.

KABBAJ, M. Neurobiological bases of individual differences in emotional and stress responsiveness: high responders-low responders model. **Arch Neurol**, 61, p. 1009-1012, Jul, 2004.

KALUEFF, A.V., TUOHIMAA, P. Grooming analysis algorithm for neurobehavioural stress research. **Brain Res Brain Res Protoc**, Aug, 13, p.151-158, 2004

KAPLAN, H.I., SADOCK, B.J., GREBB, J.A. **Compêndio de Psiquiatria: Ciências do Comportamento e Psiquiatria Clínica**. 7.ed. Porto Alegre: Artes Médicas, 1997. 943p.

KAZLAUCKAS, V., SCHUH, J., DALL'IGNA, O. P., PEREIRA, G.S., BONAN, C.D., LARA, D.R. **Behav Br Research**, 162, p. 272-278, 2005.

KNUTSON, B., ADAMS, C.M., FONG, G.W., HOMMER, D. Anticipation of increasing monetary reward selectively recruits nucleus accumbens. **J Neurosci**, 21, Aug, 2001.

KOOLHAAS, J. M., KORTE, S. M., DE BOER, S. F., VAN DER VEGT, B. J., VAN REENEN, C. G., HOPSTER, H., DE JONG, I. C., RUIS, M. A. W., BLOKHUIS, H. J. Coping styles in animals: current status in behavior and stress-physiology. **Neurosc Biobeh Rev**, 23, p. 925-935, 1999.

KOPIN, I. J. definitions of stress and sympathetic neuronal responses. **Ann. New York Acad. Sciences**, 771, p. 19-30, 1995.

KORTE, S.M., MEIJER, O.C., De KLOET E.R., BUWALDA, B., KEIJSER, J., SLUYTER, F., Van OORTMERSSEN, G., BOHUS, B. Enhanced 5-HT_{1A} receptor expression in forebrain regions of aggressive house mice. **Brain Res**, 731, p. 338-343, Oct, 1996.

KORTE, S. M., KOOLHAAS, J.M., WINGFIELD, J.C., McEWEN, B.S. The Darwinian concept of stress: benefits of allostasis and costs of allostatic load and the trade-offs in health and disease. **Neurosci Biobehav Rev**, 29, P.3-38, 2005.

LARA, D.R. **Temperamento Forte e Bipolaridade: dominando os altos e baixos do humor.**

Porto Alegre: Diogo Lara, 2004. 148p.

LARA, D.R. **O modelo de medo e raiva para os transtornos de humor, do comportamento e da personalidade.** Porto Alegre: Revolução de Idéias e Editorial, 2006. 136p.

LATHE, R. The individuality of mice. **Genes Brain Behav**, 3, p. 317-327, Dec, 2004.

LARA, D.R., AKISKAL, H.S. Toward an integrative model of the spectrum of mood, behavioral and personality disorders based on fear and anger traits: II. Implications for neurobiology, genetics and psychopharmacological treatment. **J Affect Disord**, Aug, 94, p. 89-103, 2006.

LI, D. L., SIMMONS, R.M.A., IYENGAR, S. 5HT1A receptor antagonists enhance the functional activity of fluoxetine in a mouse model of feeding. **Br Res**, 781, p. 121-128, 1998.

LIOTTI, M., MAYBERG, H.S., BRANNAN, S.K., MCGINNIS, S., JERABEK, P., FOX, P.T. Differential limbic--cortical correlates of sadness and anxiety in healthy subjects: implications for affective disorders. **Biol Psychiatry**, 48, p. 30-42, Jul, 2000.

MADRUGA, C., XAVIER, L.L., ACHAVAL, M., SANVITTO, G.L., LUCION, A.B. Early handling, but not maternal separation, decreases emotional responses in two paradigms of fear without changes in mesolimbic dopamine. **Behav Brain Res**, Jan 30, p. 241-246, 2006

MAYBERG, H.S. Modulating dysfunctional limbic-cortical circuits in depression: towards development of brain-based algorithms for diagnosis and optimised treatment. **Br Med Bull**, 65, p. 193-207, 2003.

MAYNARD, S. J. Evolution and the theory of games. Cambridge: Cambridge University Press, 1982.

Mc EWEN, B. S. Sex, stress and the hippocampus allostasis, allostatic load and the aging process. **Neurobiol Aging**, 23, p. 921-939, 2002.

MILLER, D.B., O'CALLAGHAN, J.P. Neuroendocrine aspects of the response to stress. **Metabolism**, 51, (6), p. 5-10, Jun, 2002.

MONTAGUE, P.R., HYMAN, S.E., COHEN, J.D. Computational roles for dopamine in behavioural control. **Nature**, 431, p. 760-767, Oct, 2004.

MOOBS, D., GREICIUS, M.D., ABDEL-AZIM, E., MENON, V., REISS, A.L. Humor modulates the mesolimbic reward centers. **Neuron**, 40, p. 1041,1048, Dec, 2003.

MUNOZ-BLANCO, J., YUSTA, B., CORDOBA, F. Differential distribution of neurotransmitter amino acids from the limbic system of aggressive and non-aggressive bull strains. **Pharmacol Biochem Behav**, 25, p. 72-75, Jul, 1986.

NEMEROFF, C.B. The role of GABA in the pathophysiology and treatment of anxiety disorders.

Psychopharmacol Bull, 37, p. 133-146, 2003.

NESTLER, E.J., BARROT, M., DILEONE, R.J., EISCH, A.J., GOLD, E.J., MONTEGGIA, L.M. Neurobiology of Depression. **Neuron**, 34, p. 13-25, 2002.

OCHSNER, K.N., SCHACTER, D.L. **A social cognitive neuroscience approach to emotion and memory**. New York: Oxford University, 2000. 30p.

PEZAWAS, L., MEYER-LINDENBERG, A., DRABANT, E.M., VERCHINSKI, B.A., MUNOZ, K.E., KOLACHANA, B.S., EGAN, M.F., MATTAY, V.S., HARIRI, A.R., WEINBERGER, D.R. 5-HTTLPR polymorphism impacts human cingulate-amygdala interactions: a genetic susceptibility mechanism for depression. **Nat Neurosci**, 8, p. 828-834, Jun, 2005.

PORSOLT, R.D., LePICHON, M., JALFRE, M. Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments. **Nature**, 21, p. 730-732, 1977.

PUJOL, J., LOPEZ, A., DEUS, J., CaARDONER, N., VALLEJO, J., CAPDEVILA, A., PAUS, T. Anatomical variability of the anterior cingulate gyrus and basic dimensions of human personality. **Neuroimage**, 15, p. 874-855, Apr, 2002.

RAUCH, S.L., SHIN, L.M., DOUGHERTY, D.D., ALPERT, N.M., ORR, S.P., LASKO, M., MACKLIN, M.L., FISCHMAN, A.J., PITMAN, R.K. Neural activation during sexual and competitive arousal in healthy men. **Psychiatry Res**, 91, p. 1-10, Jul, 1999.

RAY, J., HANSEN, S. Temperament in the Rat: Sex Differences and Hormonal Influences on Harm Avoidance and Novelty Seeking. **Behav Neurosc**, 118, p. 488-497, 2004.

RIBASES, M., GRATACOS, M., BADIA, A., JIMENEZ, L., SOLANO, R., VALLEJO, J., FERNANDEZ-ARANHA, F., ESTIVILL, X. Contribution of NTRK2 to the genetic susceptibility to anorexia nervosa, harm avoidance and minimum body mass index. **Mol Psychiatry**, 10, p. 851-860, 2005.

SALAMONE, J.D., CORREA, M., MINGOTE, S.M., WEBER, S.M. Beyond the reward hypothesis: alternative functions of nucleus accumbens dopamine. **Curr Opin Pharmacol**, 5, p. 34-41, Feb, 2005.

SCHAEFER, S.M., JACKSON, D.C., DAVIDSON, R.J., AGUIRRE, G.K., KIMBERG, D.Y., Thompson-Schill SL. Modulation of amygdalar activity by the conscious regulation of negative emotion. **J Cogn Neurosci**, 14, p. 913-921, Aug, 2002.

SGOIFO, A., De BOER, S.F., BUWALDA, B., KORTE,-BOUWS, G., TUMA, J., BOHUS, B., ZAAGSMA, J., KOOLHAAS, J.M. Vulnerability to arrhythmias during social stress in rats with different sympathovagal balance. **Am J Physiol**, 275, p. 460-466, Aug, 1998.

STERU, L., CHERMAT, R., THIERRY, B., SIMON, P. The tail suspension test: a new method for screening antidepressants in mice. **Psychopharmacology (Berl)**, 85, p. 367-370, 1985.

STREKALOVA, T., SPANAGEL, R., BARTSCH, D., HENN, F.A., GASS, P. Stress-induced anhedonia in mice is associated with deficits in forced swimming and exploration. *Neuropsychopharmacology*, 29, p. 2007-2017, Nov, 2004.

SUTTON, S.K. Asymetry in prefrontal glucose metabolism during appetitive and adverse emotional states: an fdg-pet study. *Psychophysiology*, 34, 1997.

SWANN, A.C., PAZZAGLIA, P., NICHOLLS, A., DOUGHERTY, D.M., MOELLER, F.G. Impulsivity and phase of illness in bipolar disorder. *J Affect Disord*, 73, p. 105-111, Jan, 2003.

TORT, A.B., NETO, W.P., AMARAL, O.B., KAZLAUCKAS, V., SOUZA, D.O., LARA, D.R. A simple webcam-based approach for the measurement of rodent locomotion and other behavioural parameters. *J Neurosci Methods*, Oct, 15, p. 91-97, 2006.

TSIGOS, C., CHROUSOS, G.P. Physiology of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in health and dysregulation in psychiatric and autoimmune disorders. *Endocrinol Metab Clin North Am*, 23, p. 451-466, 1994.

TSIGOS, C., CHROUSOS, G.P. Hypothalamic-pituitary-adrenal axis, neuroendocrine factors and stress. *J Psychosom Res*, 53, p. 865-871, 2002.

Van Der VEGT, B.J., De BOER, S.F., BUWALDA, B., De RUITER, A.J., De JONG, J.G., KOOLHAAS, J.M. Enhanced sensitivity of postsynaptic serotonin-1A receptors in rats and mice with high trait aggression. **Physiol Behav**, 74, p. 205-211, Sep, 2001.

Van Der VEGT, B.J., LIEUWES, N., Van De WALL, E.H., KATO, K., MOYA-ALBIOL, L., MARTINEZ-SACHIS, S., De BOER, S.F., KOOLHAAS, J.M. Activation of serotonergic neurotransmission during the performance of aggressive behavior in rats. **Behav Neurosci**, 117, p. 667-674, Aug, 2003.

Van RIEL, E., MEIJER, O.C., VEENEMA, A.H., JOELS, M. Hippocampal serotonin responses in short and long attack latency mice. **J Neuroendocrinol**, p. 234-239, Mar, 2002.

VEENEMA, A.H., MEIJER, O.C., de KLOET, E.R., KOOLHAAS, J.M., BOHUS, B.G. Differences in basal and stress-induced HPA regulation of wild house mice selected for high and low aggression. **Horm Behav**, 43, p. 197-204, Jan, 2003.

VEKOVISCHEVA, O.Y., AITTA-AHO, T., ECHENKO, O., KANKAANPAA, A., SEPPALA, T., HONKANEN, A., SPRENGEL, R., KORPI, E.R. Reduced aggression in AMPA-type glutamate receptor GluR-A subunit-deficient mice. **Genes Brain Behav**, 3, p. 253-265, Oct, 2004.

VIAU, V. Functional cross-talk between the hypothalamic-pituitary-gonadal and -adrenal axes. **J Neuroendocrinol**, 14, p. 506-513, Jun, 2002.

WEIJERS, H.G., WIESBECK, G.A., JAKOB, F., BONING, J. Neuroendocrine responses to fenfluramine and its relationship to personality in alcoholism. **J Neural Transm**, 108, p. 1093-1105, 2001.

WHITTLE, S., ALLEN, N.B., LUBMAN, D.I., YUCEL, M. The neurobiological basis of temperament: towards a better understanding of psychopathology. **Neurosci Biobehav Ver**, 30, p. 511-525, 2005.

YALCIN, I., AKSU, F., BELZUNG, C. Effects of desipramine and tramadol in a chronic mild stress model in mice are altered by yohimbine but not by pindolol. **Eur J Pharmacol**, 514, p. 165-174, May, 2005.

ZALD, D.H., MATTSON, D.L., PARDO, J.V. Brain activity in ventromedial prefrontal cortex correlates with individual differences in negative affect. **Proc Natl Acad Sci U S A**, 99, p. 2450-2454, Feb, 2002.

ZALD, D.H. The human amygdala and the emotional evaluation of sensory stimuli. **Brain Res Brain Res Rev**, 41. p. 88-123, Jan, 2003.

ZAR, J.H. **Biostatistical Analysis**. 3. ed. New Jersey: Prentice Hall Upper Saddle River, 1996.