



Universidade Federal do Rio Grande do Sul  
Instituto de Ciências Básicas da Saúde  
Programa de Pós-graduação em Neurociências

**Efeito da microinjeção do agonista dos receptores 5-HT<sub>1A</sub>, F15599, na região ventro-orbital do córtex pré-frontal no comportamento agressivo de camundongos machos submetidos à provocação social**

DIRSON JOÃO STEIN

Porto Alegre – RS

2012

Universidade Federal do Rio Grande do Sul  
Instituto de Ciências Básicas da Saúde  
Programa de Pós-graduação em Neurociências

**Efeito da microinjeção do agonista dos receptores 5-HT<sub>1A</sub>, F15599, na região ventro-orbital do córtex pré-frontal no comportamento agressivo de camundongos machos submetidos à provocação social**

DIRSON JOÃO STEIN

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas: Neurociências, da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, como requisito parcial para a obtenção do título de mestre.

**Orientador:** Prof. Dr. Aldo Bolten Lucion

**Co-Orientadora:** Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Rosa M. M. de Almeida

Porto Alegre – RS

2012

**Aos meus amores,  
Jocilaine, João *Henrique* e João Vitor.**

*“A coisa mais bela que o homem pode experimentar  
é o mistério. É essa emoção fundamental que está na  
raiz de toda ciência e toda arte”.*

Albert Einstein

*“A  
violência não é um sinal de força. A violência é um  
sinal de desespero e de fraqueza”.*

Dalai Lama

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente, gostaria de agradecer à minha esposa, **Jocilaine**, que sempre me apoiou na caminhada de busca do conhecimento, pela paciência nos momentos em que ela se fazia mais necessária, pelo amor, carinho e compreensão.

Aos nossos filhos, **João Henrique** e **João Vitor**, que talvez mesmo não entendendo exatamente a necessidade da ausência em muitos momentos, recebiam-me em casa com um sorriso meigo e franco todas as vezes que a presença era possível.

Aos meus pais **Aurino** e **Círia** que, apesar das dúvidas de estarem ou não no caminho certo, não mediram esforços e optaram por privar-se de aquisições materiais e de uma vida mais tranquila para investir o pouco que tinham na educação dos filhos. Podem ter certeza que o investimento não foi em vão. Obrigado por todo carinho e amor.

Aos meus irmãos **Renata, Delci, Édison, Airton e Nilson**, e suas respectivas famílias, que sempre incentivaram e também questionaram sobre o caminho escolhido, fazendo-me pensar nas alternativas e decidir pela mais adequada.

Ao **Clarinho** e à **Tilinha**, pelo apoio nos momentos em que surgiam dúvidas e obstáculos. Obrigado!

À **Nete** e ao **Guaranha**, pelo incentivo.

Ao meu orientador, professor **Aldo Bolten Lucion**, pela confiança e pela oportunidade, pelas orientações e palavras de apoio.

Em especial à minha co-orientadora, professora **Rosa Maria Martins de Almeida**, pelo incentivo a retomar as atividades de estudo e pesquisa, pelo espaço no grupo, pelas orientações, esclarecimentos e também pela sincera amizade.

Ao professor **Klaus Miczek**, pelo apoio na orientação, pelos materiais e substâncias concedidos e pela confiança.

Aos **Professores** do Programa de Pós-Graduação em Neurociências da UFRGS, pela passagem do conhecimento.

Às secretárias do PPGNeuro, **Andréa e Sara**, pela disposição em ajudar.

Ao **Mailton** que, apesar de recente amizade, dedicou parte de seu tempo para auxiliar na elaboração desta dissertação. Seu apoio foi fundamental na reta final.

Aos **colegas dos grupos de pesquisa** dos laboratórios LPNEC e Lab11 da UFRGS, pelo incentivo e auxílio em várias ocasiões. Em especial à colega **Marcinha**, pelo apoio na análise estatística.

À colega **Leticia Guterres** do Laboratório de Histologia da UNISINOS, pela importante ajuda na parte histológica.

À amiga **Ligia Centenaro**, pela disponibilidade em ensinar os passos da prática com os animais e demais técnicas necessárias.

Ao amigo **João Silveira**, pelo coleguismo e pelas dicas na formatação.

Ao meu primo **Jacob Stein**, pelo auxílio com os programas de computador.

Ao meu amigo **César**, pelas fotografias.

Ao amigo **Mateus**, pelas dicas para os cálculos estatísticos.

À **Universidade Federal do Rio Grande do Sul - UFRGS**, pela oportunidade de estudo e pela contribuição no avanço da Ciência.

À **Universidade do Vale do Rio dos Sinos - UNISINOS**, pela disponibilização do espaço e parte dos materiais necessários para os experimentos.

À **Pierre Fabre**, pela disponibilização do fármaco utilizado.

## SUMÁRIO

<b>LISTA DE ABREVIATURAS.....</b>	<b>VII</b>
<b>LISTA DE FIGURAS .....</b>	<b>IX</b>
<b>LISTA DE TABELAS.....</b>	<b>XI</b>
<b>RESUMO .....</b>	<b>12</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>14</b>
<b>1 - INTRODUÇÃO .....</b>	<b>16</b>
<b>2 – HIPÓTESE.....</b>	<b>26</b>
<b>3 – OBJETIVOS.....</b>	<b>27</b>
3.1 – Objetivo Geral.....	27
3.2 – Objetivos Específicos .....	27
<b>4 – MATERIAIS E MÉTODOS .....</b>	<b>28</b>
4.1 – Animais.....	28
4.2 – Confrontos “Residente <i>versus</i> Intruso” .....	29
4.3 – Provocação Social .....	29
4.4 – Cirurgia Estereotáxica .....	31
4.5 – Microinjeções e Análise Comportamental .....	31
4.6 – Droga .....	32
4.7 – Análise Histológica para Verificação da Posição da Cânula.....	32
4.8 – Local de Realização dos Experimentos.....	34
4.9 – Análise Estatística .....	35
<b>5 – RESULTADOS .....</b>	<b>36</b>
5.1 – Efeito da Microinjeção de diferentes doses de F15599 na região VO do CPF sobre os elementos agressivos do comportamento após Provocação Social .....	36

5.2 – Efeito da Microinjeção de diferentes doses de F15599 na região VO do CPF sobre os elementos não agressivos do comportamento após Provocação Social.....	37
5.3 – Efeito da Microinjeção de Diferentes doses de F15599 na região não-alvo (IL) do CPF sobre os elementos agressivos do comportamento após Provocação Social.....	37
5.4 – Efeito da Microinjeção de diferentes doses de F15599 na região não-alvo (IL) do CPF sobre os elementos não agressivos do comportamento após Provocação Social .....	37
5.5 – Verificação Histológica.....	38
5.6 – Tabelas.....	39
<b>6 – DISCUSSÃO.....</b>	<b>46</b>
<b>7 – CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS .....</b>	<b>53</b>
<b>8 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>55</b>



**LISTA DE ABREVIATURAS**

**ANOVA** – Análise da variância

**CEUA** – Comissão de Ética no Uso de Animais

**CNS ou SNC**– Sistema Nervoso Central

**COBEA** – Colégio Brasileiro de Experimentação Animal

**CPF** – Córtex pré-frontal

**EPM** – Erro padrão da média

**F15599** – [3-cloro-4-fluorofenil-(4-flúor-4-{{(5-metilpirimidina-2-ilmetil)-amino}-metil}-piperidina-1-il)-metanona], agonista dos receptors 5-HT<sub>1A</sub>

**IL** – Córtex infra-límbico

**MAO A**- Monoamina oxidase “A”

**NDR** – Núcleos dorsais da rafe

**NT** – Neurotransmissor

**OMS** – Organização Mundial da Saúde

**PAG** – Substância cinzenta periaquedutal

**SSRIs** – Inibidores de recaptação de serotonina

**TEP** – Tomografia por emissão de pósitrons

**TFMPP** – 1-[3-(trifluoromethyl)phenyl]piperazine, agonista misto dos receptors 5-HT<sub>1A, B, C</sub>

**VO** – Córtex ventro-orbital

**5-HT** – 5-hidroxitriptamina ou Serotonina

**5-HTP** – 5-hidroxitriptofano

**8-OH-DPAT** – [8-Hydroxy-2-(di-n-propylamino)tetralin hydrobromide], agonista dos receptores 5-HT<sub>1A</sub>

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> – Esquema representativo com os subtipos de receptores serotoninérgicos e sua provável localização neuronal .....	21
<b>Figura 2</b> – Esquema representativo do protocolo de provocação social .....	23
<b>Figura 3</b> – Fórmula química do agonista dos receptores 5-HT <sub>1A</sub> , F15599 .....	24
<b>Figura 4</b> – Provocação social.....	29
<b>Figura 5</b> – Fluxograma de atividades com os sujeitos experimentais.....	32
<b>Figura 6</b> – “Linha do tempo” para os procedimentos com os sujeitos experimentais .....	33
<b>Figura 7</b> – Gráfico da média $\pm$ EPM da latência para 1ª mordida após microinjeções na região VO do CPF .....	39
<b>Figura 8</b> – Gráfico da média $\pm$ EPM da frequência de mordidas após microinjeções na região VO do CPF .....	39
<b>Figura 9</b> – Gráfico da média $\pm$ EPM da frequência de ataques laterais após microinjeções na região VO do CPF.....	40
<b>Figura 10</b> – Gráfico da média $\pm$ EPM da duração do comportamento de caminhar após microinjeções na região VO do CPF .....	40
<b>Figura 11</b> – Gráfico da média $\pm$ EPM da duração do comportamento de <i>grooming</i> após microinjeções na região VO do CPF .....	41
<b>Figura 12</b> – Gráfico da média $\pm$ EPM da duração do comportamento de <i>rearing</i> após microinjeções na região VO do CPF .....	41

- Figura 13** – Gráfico da média  $\pm$  EPM da frequência de mordidas após microinjeções nas regiões VO e IL do CPF..... **42**
- Figura 14** - Representação esquemática de sucessivas secções coronais (A) do encéfalo de camundongo mostrando o local da microinjeção de veículo e das doses 0,03  $\mu$ g, 0,1  $\mu$ g, 0,3  $\mu$ g e 1,0  $\mu$ g do agonista F15599 e fotomicrografias (B) mostrando a correta localização da cânula guia e local da microinjeção na região VO do CPF..... **43**
- Figura 15** - Representação esquemática de sucessivas secções coronais (A) do encéfalo de camundongo mostrando o local da microinjeção de veículo e das doses 0,1  $\mu$ g e 1,0  $\mu$ g do agonista F15599 e fotomicrografias (B) mostrando a correta localização da cânula guia e local da microinjeção na região IL do CPF ..... **44**

**LISTA DE TABELAS**

- Tabela 1** – Latência (em segundos) para primeira mordida, frequência de elementos agressivos e duração (em segundos) de elementos não agressivos do comportamento, após microinjeção de veículo ou F15599 (agonista dos receptores 5-HT<sub>1A</sub>) em diferentes doses, na região ventro-orbital (VO) do córtex pré-frontal (CPF) ..... **38**
- Tabela 2** – Latência (em segundos) para primeira mordida, frequência de elementos agressivos e duração (em segundos) de elementos não agressivos do comportamento, após microinjeção de veículo ou F15599 (agonista dos receptores 5-HT<sub>1A</sub>) em diferentes doses, na região infra-límbica (IL) do córtex pré-frontal (CPF) ..... **38**

## RESUMO

O sistema serotoninérgico há muito tempo vem sendo relacionado ao comportamento agressivo e particularmente o subtipo de receptor 5-HT<sub>1A</sub> está envolvido na modulação da agressividade. Estudos prévios utilizando agonistas que atuam seletivamente sobre estes receptores demonstraram tanto redução como aumento da agressão. Sabe-se que estes receptores são encontrados em diversas regiões encefálicas onde atuam como auto e heteroreceptores, apresentando diferentes funções, dependendo de sua localização. Heteroreceptores 5-HT<sub>1A</sub>, além de outras regiões, são encontrados no córtex pré-frontal, uma região encefálica particularmente importante no controle inibitório de comportamentos agressivos e impulsivos. O objetivo do presente estudo foi verificar os possíveis efeitos anti-agressivos da microinjeção do agonista seletivo dos receptores 5-HT<sub>1A</sub>, F15599, na região ventro-orbital do córtex pré-frontal de camundongos machos da linhagem CF-1, previamente submetidos ao protocolo de provocação social, caracterizado por elevar os níveis de agressividade a padrões considerados violentos. Nossos resultados mostraram que a microinjeção das menores doses de F15599 (0,03 e 0,1 µg) reduziu significativamente a frequência de mordidas além de ocorrer uma tendência à redução da frequência de ataques laterais para o grupo de animais que recebeu a dose de 0,03 µg. Estes efeitos anti-agressivos não foram acompanhados por alterações nos demais elementos comportamentais relacionados à agressividade: perseguir o intruso, cheirar o intruso e sacudir a cauda. Também não foram observadas alterações na duração dos elementos comportamentais não agressivos caminhar e *rearing*. Ocorreu aumento apenas na duração do comportamento de *grooming* para o grupo de animais que recebeu a dose de 0,03 µg do agonista. Os resultados do presente estudo confirmaram o envolvimento da região VO do CPF e do sistema serotoninérgico, mais precisamente do subtipo de receptor 5-HT<sub>1A</sub> na modulação da agressividade exacerbada.

**PALAVRAS CHAVE**

Comportamento agressivo; Provocação social; Serotonina; Receptores 5-HT<sub>1A</sub>; Região ventro orbital do córtex pré-frontal; F15599.

## ABSTRACT

The serotonergic system has long been linked to aggressive behavior and particularly 5-HT<sub>1A</sub> receptor subtype is involved in modulation of aggressiveness. Previous studies using agonists that act selectively on these receptors showed both reduction and increased aggression. It is known that these receptors are found in several brain regions where they act as auto and heteroreceptors, with different functions, depending on their location. 5-HT<sub>1A</sub> heteroreceptors, as well as other regions, are found in the prefrontal cortex (PFC), a brain region particularly important in the inhibitory control of aggressive and impulsive behaviors. The aim of this study was to investigate the possible anti-aggressive effects of microinjections of F15599, a selective 5-HT<sub>1A</sub> agonist, in the ventral orbital prefrontal cortex (VO PFC) of CF-1 male mice, previously submitted to social instigation, characterized by increasing aggression to high levels. Our results showed that the microinjection of the lower doses of F15599 (0.03 and 0.1 µg) significantly reduced attack bite frequency. Furthermore, there was a tendency to reduce sideways threats for the group that received 0.03 µg agonist microinjection. These anti-aggressive effects were not accompanied by changes in other elements of the behavioral repertoire related to aggression: pursuit the intruder, sniff the intruder and tail rattle. There were also no changes observed in the duration of nonaggressive behavioral repertoire elements, walking and *rearing*. Only for *grooming* behavior was an increased duration observed for the group that received 0.03 µg agonist dose. The results of this study confirmed the involvement of VO PFC and serotonergic system, specifically de 5-HT<sub>1A</sub> receptor subtype, in the modulation of escalated aggressive behavior.



**KEYWORDS**

Aggressive behavior; Social instigation; Serotonin; 5-HT<sub>1A</sub> receptors; Ventral orbital prefrontal cortex; F15599.

## 1 - INTRODUÇÃO

Os efeitos da agressão e da violência em pessoas do mundo inteiro podem ser vistos em diversas situações na sociedade humana: estudantes atacando seus colegas na escola, trabalhadores atacando seus colegas no setor de trabalho, pessoas detonando bombas em resposta às suas crenças ideológicas, entre outras (Nelson, 2006). Em humanos, a agressão é vista como um problema de saúde pública e também para o sistema prisional, pois resulta em danos a outras pessoas, sendo bastante agravado pelo fato de não haver opções adequadas de tratamento (Volavka, 1995; de Almeida *et al.*, 2005). Segundo o relatório da Organização Mundial de Saúde (WHO, 2008), o número de vítimas da violência interpessoal é três vezes maior do que o de conflitos armados no mundo.

Em espécies sociais, porém, o comportamento agressivo pode servir como uma importante função adaptativa. Todavia, quando este tipo de comportamento excede os padrões típicos das espécies, ele pode ser considerado um comportamento mal-adaptativo (de Almeida *et al.*, 2005).

Grande parte do conhecimento atual sobre a etiologia, neurobiologia e farmacologia da agressividade e impulsividade em humanos é baseada em modelos experimentais de agressão em animais (de Boer e Koolhaas, 2005). Desse modo, analisar a neurobiologia e o comportamento agressivo em várias espécies contribui para a compreensão da violência humana e o desenvolvimento de intervenções terapêuticas (Miczek, 2001).

Em estudos laboratoriais de agressão animal é fundamental considerar a etologia do comportamento agressivo e o seu significado funcional para o indivíduo e a espécie (Takahashi *et al.*, 2011). Animais utilizam-se da agressão para defenderem a si próprios e também a sua prole do ataque de predadores, na luta por parceiros de acasalamento, na

competição por comida ou para determinar ou manter uma hierarquia social (Popova, 2006, 2008).

Comportamentos agressivos também podem ocorrer em resposta ao medo ou frustrações e são importantes para a sobrevivência e reprodução de um indivíduo, aumentando sua aptidão e também da espécie como um todo (Miczek, 2001). Este comportamento envolve sinais comunicativos, atos e posturas característicos de cada espécie, com o propósito de obter um ganho específico ou em defesa de um estímulo ameaçador (Miczek *et al.*, 2002).

Em estudos pré-clínicos de agressividade em animais pode-se observar e medir o comportamento agressivo típico das espécies (Takahashi *et al.*, 2011). Dentre os modelos mais comumente utilizados estão: 1) o teste do residente dominante (dominância hierárquica) (Fairbanks *et al.*, 1999; Bennett *et al.*, 2002) mais utilizado no estudo com primatas e ratos; 2) o teste do residente-intruso (agressão territorial) (Miczek e O'Donnell, 1978; Crawley *et al.*, 1975) em camundongos e hamsters; 3) o teste de agressão maternal (Lonstein e Gammie, 2002; Lucion e de Almeida, 1996) em fêmeas no período pós-parto/amamentação em defesa da prole, para ratos, camundongos e hamsters; 4) o teste de agressão de fêmeas (De Bold e Miczek, 1981; Palanza *et al.*, 2005) para fêmeas dominantes em primatas e roedores e 5) a agressão induzida por isolamento (Yen *et al.*, 1959; Malick, 1979).

Existem alternativas importantes para estas medições. Um quadro detalhado do comportamento agressivo e defensivo pode ser obtido através da análise da frequência, duração, latência e padrões temporais e sequenciais de todos os comportamentos e posturas observados nos diferentes tipos de animais (Miczek e O'Donnell, 1978; Miczek *et al.*, 2004).

Devido ao grande interesse das pesquisas experimentais em desenvolver drogas que atuem no controle do comportamento agressivo violento, protocolos experimentais foram desenvolvidos para induzir altos índices de agressividade em animais. Dentre os mais utilizados pode-se citar: 1) farmacológicos (uso de álcool em doses moderadas (Miczek e de

Almeida, 2001; Van Erp e Miczek, 1997; Fish, Faccidomo e Miczek, 1999)); 2) comportamentais (agressão induzida por frustração (Dolard *et al.*, 1939; Thompson e Bloom, 1966; de Almeida e Miczek, 2002)); 3) ambientais (instigação ou provocação social (Fish *et al.*, 1999; Olivier e Oorschot, 2005; Centenaro *et al.*, 2008)) e 4) por seleção genética (De Boer e Koolhaas, 2005; Sandnabba, 1996; Veenema e Neumann, 2007). Mais recentemente, a produção de animais *knockout* para algum gene que esteja direta ou indiretamente relacionado à agressão, tem trazido alguns avanços significativos nos estudos deste comportamento (Bouwknicht *et al.*, 2001; Gammie *et al.*, 2006; Stowers *et al.*, 2002; Popova, 2000, 2004; Popova *et al.*, 2004).

Quanto à classificação da agressão, sugere-se que existem pelo menos dois tipos: 1) a agressão premeditada ou instrumental e 2) a agressão impulsiva ou reativa (Barrat *et al.*, 1999; Blair, 2004). A agressão premeditada envolve um planejamento antes da ação e têm um propósito definido. Esse comportamento tipicamente produz um ganho ao agressor, como por exemplo, um aumento do *status* na hierarquia social (Berkowitz, 1993; Blair, 2004). Já na agressão impulsiva, eventos ameaçadores, frustrações ou provocações geram o comportamento agressivo, produzindo raiva e irritação e iniciam sem um objetivo específico, normalmente não gerando uma recompensa ao agressor (Blair, 2004).

A agressão de natureza humana pode ser classificada como defensiva, premeditada (predatória e instrumental) ou impulsiva-hostil (Stoff e Vitiello, 1996; Vitiello e Stoff, 1997). Especialmente os tipos de comportamento agressivo premeditado e impulsivo são diagnosticados como patológicos e necessitam de tratamento (Takahashi *et al.*, 2011).

Comportamentos agressivos, tentativas de suicídio e violência estão relacionados com um prejuízo no controle impulsivo (Plutchik e Van Praag, 1989, 1995; Horn, 2003). A impulsividade é um conceito multidimensional que incorpora a falha na inibição da resposta, o processamento rápido da informação, busca de novidades e intolerância ao atraso de um

reforço (Barrat, 1985, 1994; Horn, 2003). Esse termo é usualmente empregado para descrever comportamentos mal-adaptados que se caracterizam por serem arriscados, prematuramente concebidos, impróprios para a situação e que geralmente resultam em consequências desagradáveis. Por outro lado, atitudes impulsivas que culminam em resultados positivos, muitas vezes são vistas como indicadores de atrevimento, rapidez, espontaneidade e coragem (Daruna e Barnes, 1993; Evenden, 1999).

Há circuitos neurais importantes para a regulação dos comportamentos emocionais. As principais regiões envolvidas nesta circuitaria são: o córtex pré-frontal, a amígdala, hipocampo, área pré-óptica medial, hipotálamo, córtex cingulado anterior, córtex insular e estriatum ventral (Davidson, 2000). Postula-se que o sistema responsável pela cognição social e pela modulação da agressão envolva o córtex pré-frontal, além de áreas da amígdala medial que enviam projeções através da estria terminal para o hipotálamo e dele para a porção dorsal da substância cinzenta periaquedutal (PAG) (Blair e Cipolotti, 2000).

Em mamíferos, o córtex pré-frontal está localizado na parte anterior do lobo frontal, anterior às áreas corticais motoras e pré-motora. É dividido em três grandes regiões: córtex órbito-frontal e ventromedial, córtex pré-frontal dorsolateral e córtex cingulado ventral e anterior (de Almeida *et al.*, 2008).

O córtex pré-frontal é a região encefálica responsável pelo controle do comportamento inibitório em geral (Blair, 2001). Dentre as sub-regiões do córtex pré-frontal, a região órbito-frontal é particularmente importante no controle inibitório do comportamento agressivo e impulsivo (Blair, 2001; Seguin, 2004; Cardinal *et al.*, 2004; Spinella, 2004; Kheramin *et al.*, 2005; de Almeida *et al.*, 2006; Centenaro *et al.*, 2008). Mais especificamente, estudos sugerem que as regiões medial e orbital do córtex pré-frontal estão mais relacionadas com a modulação da agressão, enquanto o córtex pré-frontal dorsolateral parece ter um envolvimento menos significativo (Grafman *et al.*, 1996; Blair, 2004). Em contrapartida, a

área infra-límbica (IL) do córtex pré-frontal (CPF) está associada com os efeitos da ansiedade e com funções cognitivas, como a atenção e memória (Wall e Messier, 2002; Dalley *et al.*, 2004).

Indivíduos com lesões no córtex pré-frontal medial e orbital demonstram pouco controle sobre suas emoções, apresentam um risco maior de expressar comportamentos agressivos e não se preocupam com as consequências de suas ações (Anderson *et al.* 1999; Davidson, 2000; Best, Williams e Coccaro, 2002). Além disso, várias condições psiquiátricas estão relacionadas com um prejuízo geral do córtex pré-frontal, especialmente devido ao fato desses indivíduos serem incapazes de inibir atitudes agressivas e impulsivas (Raine *et al.*, 1994).

A agressão impulsiva pode estar relacionada com uma disfunção das projeções inibitórias do córtex pré-frontal, mais especificamente das regiões orbital e medial para a amígdala, que pode ser resultante de uma anormalidade neuroquímica envolvendo a serotonina (5-hidroxitriptamina, 5-HT) (Davidson, 2000; Best, Williams e Coccaro, 2002). Estudos clínicos e pré-clínicos investigam a correlação entre a atividade serotoninérgica e agressão, tentando demonstrar relações de causa-efeito (Badawy, 1999).

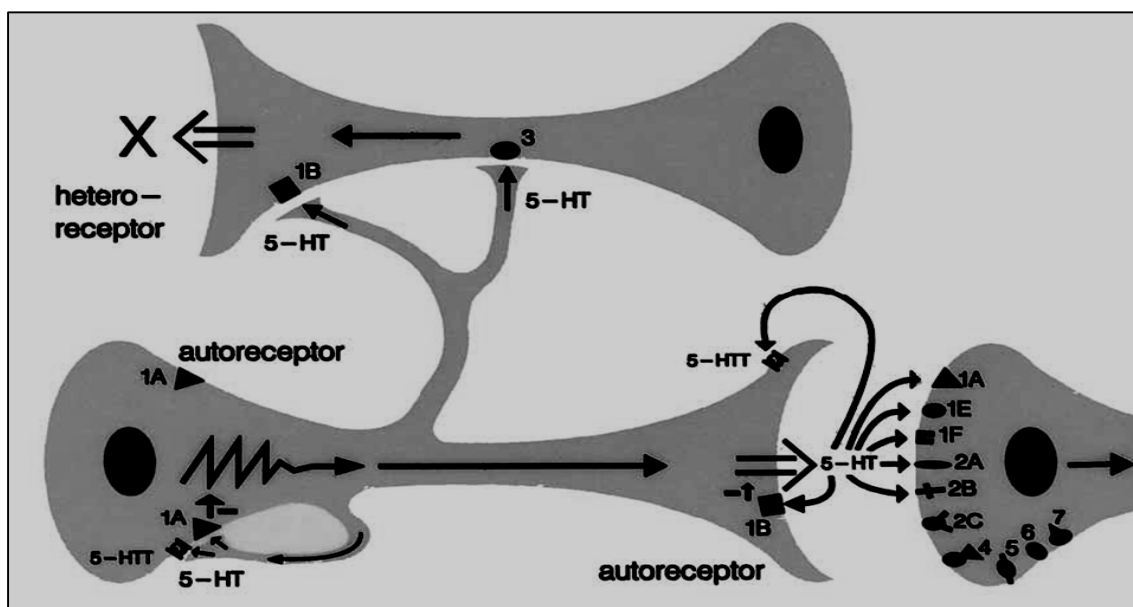
A 5-HT do SNC é produzida em neurônios cujos corpos celulares encontram-se nos núcleos da rafe no tronco encefálico. A cadeia de síntese deste NT envolve primeiramente a transformação do aminoácido triptofano, presente na dieta, em 5-hidroxitriptofano (5-HTP), pela enzima triptofano hidroxilase (Aldegunde *et al.*, 2000). O próximo passo é a transformação do 5-HTP em 5-hidroxitriptamina (5-HT) pela enzima 5-HTP descarboxilase. Depois de sintetizada, a 5-HT é armazenada em grânulos e liberada na fenda sináptica em diversas regiões encefálicas de projeção destes neurônios, incluindo o hipocampo, córtex cerebral, amígdala, hipotálamo e hipófise (Clotfelter *et al.*, 2007), onde pode se ligar a diversos receptores.

O sistema serotoninérgico possui uma grande variedade de receptores conhecidos. São pelo menos 14 subtipos, divididos em 7 famílias (5-HT<sub>1A, B, D, E, F</sub>, 5-HT<sub>2A, B, C</sub>, 5-HT<sub>3</sub>, 5-HT<sub>4</sub>, 5-HT<sub>5A, B</sub>, 6-HT<sub>6</sub> e 5-HT<sub>7</sub>) (Sari, 2004; Olivier e Oorschot, 2005) (Fig. 1).

Há mais de 40 anos postula-se que o sistema serotoninérgico é essencial no controle da agressividade e possui um papel importante na neurobiologia deste comportamento (de Boer e Koolhaas, 2005; Miczek *et al.*, 2002). A maioria das pesquisas psicofarmacológicas envolvendo serotonina e agressão é motivada pela busca de conhecimento em agressão patológica, tanto a humana quanto a animal (Takahashi *et al.*, 2011; Volavka *et al.*, 2005).

Indivíduos exibindo um comportamento agressivo impulsivo possuem uma atividade serotoninérgica pré e pós-sináptica reduzida (Linnoila *et al.*, 1983; Coccaro *et al.*, 1989; Virkkunen *et al.*, 1994), sendo geralmente tratados para a redução desses sintomas com fármacos que inibem a recaptação de serotonina (Best, Williams e Coccaro, 2002). Existem evidências claras do envolvimento das famílias de receptores 5-HT<sub>1</sub> e 5-HT<sub>2</sub> com comportamentos agressivos (Miczek *et al.*, 2002; Olivier, 2004) e recentemente alguns dados apontam para o envolvimento da família 5-HT<sub>3</sub> (McKenzie-Quirk *et al.*, 2005; Ricci *et al.*, 2004). Sabe-se que o córtex pré-frontal contém uma considerável densidade de receptores serotoninérgicos, mais especificamente o 5-HT<sub>1A</sub> e 5-HT<sub>1B</sub> (Best, Williams e Coccaro, 2002).

Os receptores 5-HT<sub>1A</sub> são chamados de auto-receptores somatodendríticos quando localizados pré-sinápticamente, como por exemplo, nos neurônios serotoninérgicos dos núcleos da rafe. Esses receptores também são encontrados pós-sinápticamente, sendo considerados heteroreceptores, devido ao fato de estarem presentes em terminais axonais de neurônios não-serotoninérgicos (Boschert *et al.*, 1994).



**Figura 1.** Esquema representativo com os subtipos de receptores serotoninérgicos (autoreceptores e heteroreceptores) e sua possível localização neuronal (Olivier e Oorschot, 2005).

Em estudos pré-clínicos, a administração sistêmica de agonistas dos receptores 5-HT<sub>1A</sub> promoveu efeitos anti-agressivos em diversas espécies (Bell e Hobson, 1994; de Boer e Koolhaas, 2005; Sperry *et al.*, 2003; Ten Eyck, 2008; Takahashi *et al.*, 2011). Porém, estes efeitos anti-agressivos em vertebrados vêm acompanhados por efeitos não específicos como sedação, baixa atividade motora, comportamentos estereotipados e redução do interesse social (de Boer e Koolhaas, 2005; Olivier *et al.*, 1995).

Todavia, em uma linhagem de ratos, alnespirona e S15535, também agonistas deste subtipo de receptor, reduziram comportamentos agressivos sem afetar os comportamentos não agressivos (de Boer e Koolhaas, 2005; de Boer *et al.*, 1999, 2000). É possível que estes fármacos estejam atuando em uma subpopulação de receptores 5-HT<sub>1A</sub> pelo fato de demonstrarem esta diferença de ação no comportamento agressivo, e por este motivo serem mais específicos (Takahashi *et al.*, 2011).

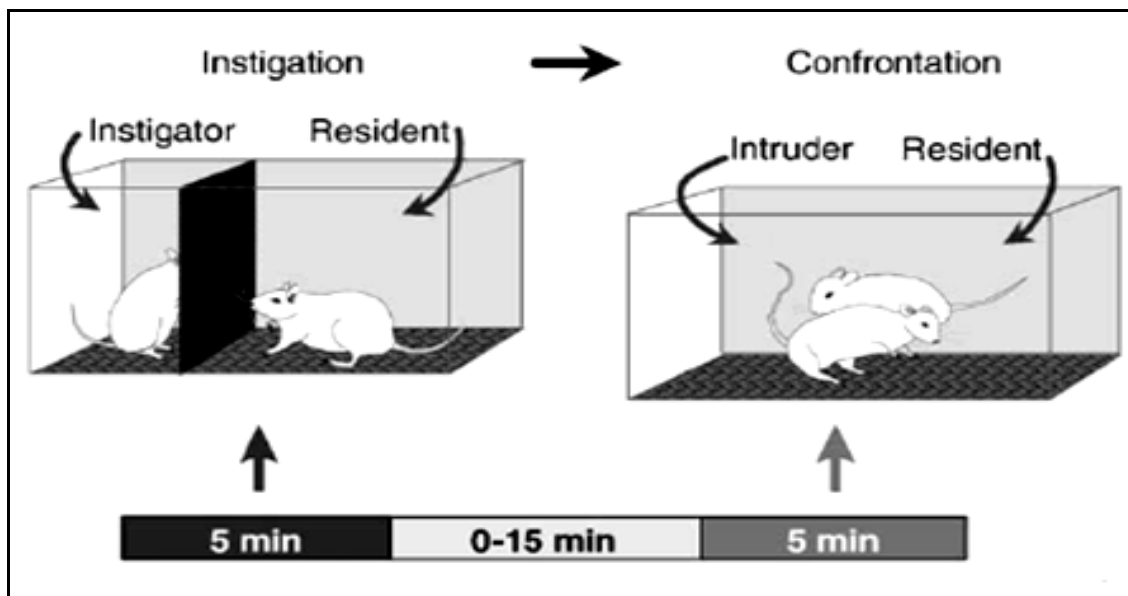
Camundongos apresentam comportamento agressivo territorial, de forma que demarcam, patrulham e guardam seu ambiente, e tendem a iniciar confrontos caso haja a



presença de um intruso. Devido a esse fato, pesquisas experimentais realizadas com esses animais utilizam frequentemente um protocolo experimental baseado no confronto direto entre machos residentes contra intrusos (de Almeida *et al.*, 2005). Em um dos modelos utilizados em laboratório, machos são mantidos em pares com uma fêmea dentro de uma caixa residência, por um determinado período. Nessas condições, o camundongo macho torna-se o “territorial ou residente” (Olivier e Oorschot, 2005).

Existem consideráveis evidências de que roedores possuam subdivisões bem estabelecidas no córtex pré-frontal (pré-límbico, infra-límbico e órbito-frontal). Cada uma dessas regiões desempenha diferentes funções cognitivas, afetivas e comportamentais (Bechara *et al.*, 2000; Kolb e Robbins, 2003; McAlonan e Brown, 2003; Morgan *et al.*, 2003; de Almeida *et al.*, 2006).

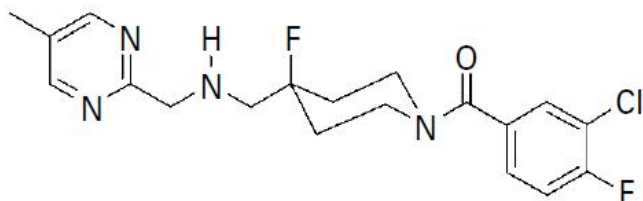
A provocação social, um dos protocolos experimentais anteriormente citados, utilizado em roedores para aumentar os níveis de agressividade, consiste na exposição prévia do animal residente a um oponente “instigador”, que permanece protegido atrás de um anteparo (Fig. 2). Depois disso, um intruso é colocado na caixa do animal residente, sem nenhuma proteção, permitindo o confronto direto entre eles (Potegal, 1991). Hamsters, camundongos e ratos iniciam os ataques com curta latência e alta frequência quando testados com um intruso em suas caixas ou em um ambiente não familiar, depois de terem sido previamente provocados por um instigador (Potegal, 1991; Fish *et al.*, 1999; de Almeida e Miczek, 2002). Uma das vantagens deste protocolo de aumento da agressividade em relação a outros, é que não interfere sobre outras atividades como a locomoção, comportamento sexual e alimentar (Lagerspetz e Hautojarvi, 1967; Potegal e Tenbrink, 1984; Potegal, 1991).



**Figura 2.** Esquema representativo do protocolo da provocação social (de Almeida *et al.*, 2005).

F15599 [3-cloro-4-fluorofenil-(4-flúor-4-[[5-metilpirimidina-2-ilmetil)-amino]-metil]-piperidina-1-il)-metanona] (Fig. 3) é um agonista de alta afinidade ( $pK_i = 8.5$ ) e altamente seletivo dos receptores  $5-HT_{1A}$  que atua preferencialmente na região cortical, ou seja, pós-sinapticamente (Lladó-Pelfort *et al.*, 2008; Newman-Tancredi *et al.*, 2006a, 2006b, 2009; Depoortère *et al.*, 2008, 2010; Assié *et al.*, 2006). Em testes de transdução de sinal, eletrofisiológicos e neuroquímicos, foi verificado que F15599 ativa preferencialmente receptores  $5-HT_{1A}$  no córtex pré-frontal (Celada *et al.*, 2007, *apud* Assié *et al.*, 2010; Lemoine *et al.*, 2010; Newman-Tancredi *et al.*, 2009; Assié *et al.*, 2010). F15599 também é capaz de se ligar aos receptores  $5-HT_{1A}$  localizados nos núcleos da rafe, mas essa interação não resulta facilmente na ativação destes receptores, como demonstrado pelo fato de que altas doses deste agonista são necessárias para reduzir a atividade elétrica nesta região (Celada *et al.*, 2007, *apud* Assié *et al.*, 2010). Neste sentido, a microinjeção deste novo agonista na região VO do CPF de camundongos machos pode contribuir para se determinar quais regiões encefálicas são críticas na modulação da agressividade e quais os mecanismos específicos que estão envolvidos nos efeitos anti-agressivos dos receptores  $5-HT_{1A}$ , questões que ainda precisam ser resolvidas (Takahashi *et al.*, 2011).

F15599



**Figura 3.** Fórmula química do agonista dos receptores 5-HT<sub>1A</sub>, F15599 (Assié *et al.*, 2010).

Os conhecimentos acumulados até o presente momento sobre o comportamento agressivo mostram que o estudo da agressividade em animais que apresentam comportamento territorial têm sido importante para compreender melhor este comportamento em humanos. Da mesma forma, a utilização do protocolo de provocação social, caracterizado por elevar os níveis de agressividade a padrões considerados violentos tem sido útil para atingir estes resultados.

Considerando o conhecimento atual da circuitaria neural responsável pela modulação da agressividade, o qual relaciona a região VO do CPF como sendo particularmente importante no controle do comportamento agressivo violento (Blair, 2001; Seguin, 2004; Cardinal *et al.*, 2004; Spinella, 2004; Kheramin *et al.*, 2005; de Almeida *et al.*, 2006; Centenaro *et al.*, 2008) e o envolvimento do sistema serotoninérgico nessa modulação (de Boer e Koolhaas, 2005; Miczek *et al.*, 2002), via ativação dos receptores 5-HT<sub>1A</sub> (Best, Williams e Coccaro, 2002), bem como a indisponibilidade de opções adequadas de tratamento que atendam as necessidades clínicas (Volavka, 1995; de Almeida *et al.*, 2005), o presente trabalho foi desenvolvido com o intuito de contribuir e somar resultados relevantes a esses achados. Testar a ativação dos receptores 5-HT<sub>1A</sub> na região VO do CPF com a utilização de um agonista (F15599) seletivo deste subtipo de receptor como promotor de efeitos anti-agressivos pode representar uma alternativa interessante no desenvolvimento de fármacos específicos.

## **2 - HIPÓTESE**

A ativação dos receptores 5-HT<sub>1A</sub> na região VO do CPF, uma região encefálica importante na modulação do comportamento agressivo, com a utilização de um agonista (F15599) seletivo deste subtipo de receptor, poderá promover efeitos anti-agressivos significativos, sem afetar os comportamentos não agressivos de camundongos machos, no teste de agressividade “residente-intruso”, após a utilização do protocolo experimental de provocação social, caracterizado por aumentar os níveis de agressividade.

### **3 – OBJETIVOS**

#### **3.1 – Objetivo Geral**

Verificar os efeitos da microinjeção do agonista seletivo dos receptores 5-HT<sub>1A</sub> pós-sinápticos, F15599, na região VO do CPF, no comportamento agressivo de camundongos machos provocados socialmente.

#### **3.2 - Objetivos Específicos**

Através da microinjeção de diferentes doses do agonista dos receptores 5-HT<sub>1A</sub>, F15599, na região VO do CPF de camundongos machos, verificar qual(is) a(s) mais efetiva(s) sobre o comportamento agressivo, após estes animais terem sido submetidos ao protocolo de provocação social.

Verificar a ocorrência ou não de alterações nos elementos não agressivos do repertório comportamental analisado, com os tratamentos empregados.

## 4 - MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 - Animais

Os sujeitos utilizados para este experimento, camundongos (*Mus musculus*) machos adultos da linhagem CF1, provenientes do biotério da FEPPS (Fundação Estadual de Produção e Pesquisa em Saúde - Porto Alegre – RS – Brasil) e mantidos no laboratório de Neurociências da UNISINOS (Universidade do Vale do Rio dos Sinos – São Leopoldo – RS – Brasil), pesando de 40 a 50 g/cada, foram inicialmente divididos em: “residentes” (N = 80), “instigadores” ou “provocadores” (N = 40) e “intrusos” (N = 90). Cada macho residente foi mantido em uma gaiola de policarbonato limpa (28 x 17 x 14 cm) juntamente com uma fêmea (N = 80) da mesma linhagem. Os demais animais, intrusos e instigadores, foram mantidos em grupos de 10, em gaiolas de polipropileno limpas (46 x 24 x 15 cm). Todas as gaiolas foram forradas com maravalha de pinus. Os animais eram mantidos no mesmo ambiente, climatizado, com temperatura de  $23 \pm 2^{\circ}\text{C}$ , umidade relativa do ar com variação de 50 a 60 % e sob um ciclo claro/escuro de 12/12 h. (ciclo claro iniciando às 06:00 h.), controlados automaticamente. Água e comida (ração específica para roedores de laboratório) estavam disponíveis aos animais de forma *ad libitum*. Os experimentos foram realizados na fase clara do foto período, das 09:00 às 16:00 h.

Os procedimentos experimentais seguiram normas do COBEA (Colégio Brasileiro de Experimentação Animal) e estavam de acordo com a lei federal nº 11.794, de 08 de outubro de 2008, que “*estabelece procedimentos para o uso científico de animais*”. O projeto para a elaboração desta dissertação foi devidamente submetido à Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS – e aprovado sob o número 19758.

#### **4.2 - Confrontos “Residente *versus* Intruso”**

A partir da chegada dos animais ao laboratório de Neurociências da UNISINOS (Fig. 5 e Fig. 6), machos residentes foram mantidos em aclimatação ao ambiente e às gaiolas-residência durante 21 dias, juntamente com suas respectivas fêmeas. Após este período, cada residente foi submetido a sucessivos testes de agressividade (3 vezes por semana, com intervalo mínimo de 48 hs), a fim de estabelecer a linha de base deste comportamento. Durante os testes, fêmea e eventuais filhotes foram removidos, e um intruso macho foi colocado dentro da gaiola residência. Cada teste teve duração de 5 minutos, contados a partir da primeira mordida desferida pelo residente no intruso. Caso o residente não atacasse o intruso, o teste era encerrado aos cinco minutos, de acordo com o descrito por Miczek e O'Donnell (1978).

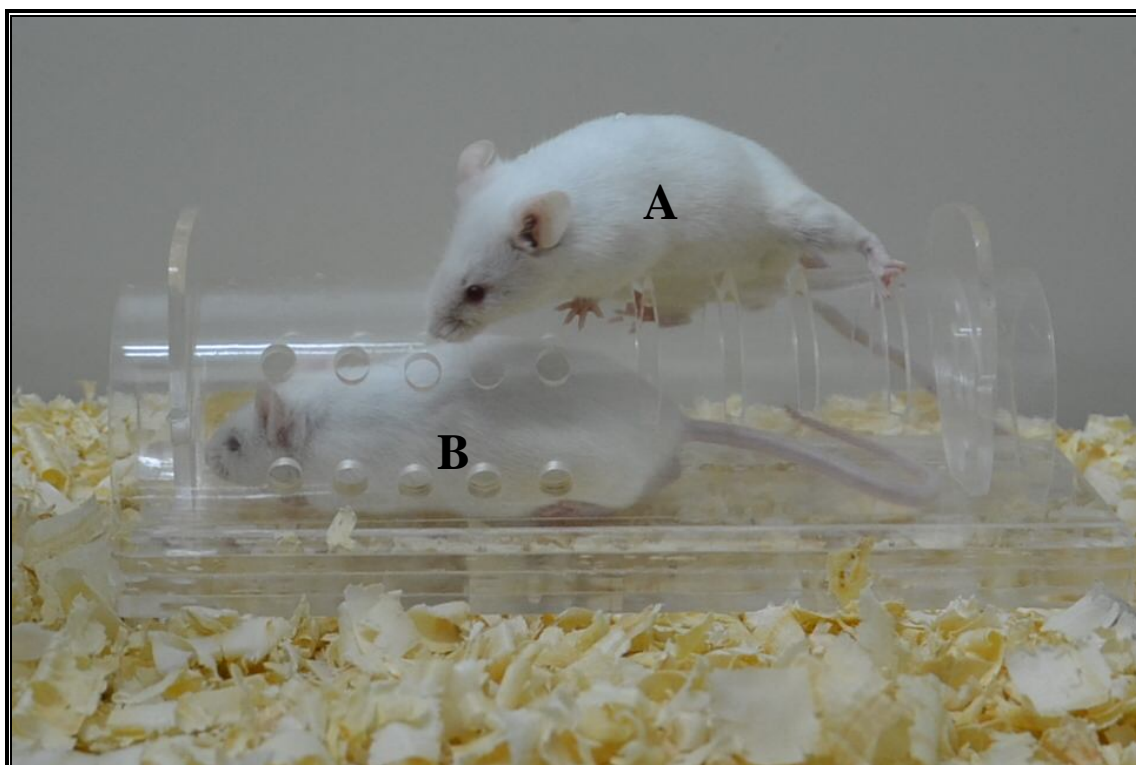
Foram considerados aptos para participar das etapas seguintes do experimento, animais residentes que obtiveram um número de ataques com mordida superior ou igual a dez nos três últimos testes para determinação da linha de base. Caso o residente fosse atacado pelo intruso, este último era imediatamente substituído. Segundo Winslow e Miczek (1984), o nível de agressividade do camundongo residente tende a ter grande variabilidade nos primeiros testes, alcançando um número de mordidas mais estável depois de seis ou sete confrontos com o mesmo intruso.

#### **4.3 - Provocação Social**

Assim que os níveis de agressividade do camundongo residente alcançavam padrões estáveis (3 últimos testes com número de mordidas superior a 10 e com variação de no máximo 10 mordidas entre eles), a primeira provocação social era iniciada. Este procedimento

teve o objetivo de aumentar os níveis de agressividade. Consistiu em remover fêmea e eventuais filhotes da gaiola do camundongo macho residente e colocar nesta mesma gaiola, um tubo de acrílico perfurado (18 x 6 cm) (Fig. 4) contendo um camundongo macho instigador durante cinco minutos (Fish *et al.*, 1999), de modo que o macho residente não tivesse acesso direto a este, somente com contato visual, auditivo e olfativo.

Após este procedimento, e observando um intervalo de cinco minutos com o macho residente sozinho em sua gaiola, um macho intruso foi introduzido na gaiola do camundongo residente, sem nenhuma proteção, permitindo o confronto direto entre os dois animais. Este teste comportamental teve a duração de cinco minutos e foi filmado com auxílio de uma câmera de vídeo. Camundongos com pelo menos 3 testes de agressividade após provocação social, e com níveis estáveis do número de mordidas, eram considerados aptos a etapa seguinte do experimento, e foram submetidos à cirurgia para implante da cânula guia.



**Figura 4** – Provocação Social. A = residente. B = Instigador ou Provocador.



#### **4.4 – Cirurgia Estereotáxica**

No dia seguinte à estabilização do comportamento agressivo com provocação social, camundongos residentes aptos foram anestesiados com anestésico à base de ketamina (100 mg/kg de peso corporal) e relaxante muscular e analgésico à base de xilazina (10 mg/kg de peso corporal), por via intramuscular, para implante de uma cânula guia (26-gauge guide cannula, Plastics One Inc., USA) na região VO do CPF do hemisfério esquerdo, baseado no atlas estereotáxico para camundongos (Franklin e Paxinos, 2001), e obedecendo as seguintes coordenadas: 2.3 mm anterior ao bregma, 0.6 mm lateral a linha sagital média e 1,0 mm abaixo da dura-máter. Após a cirurgia, foi inserido um obturador (33-gauge obturator, Plastics One Inc., USA) na cânula guia, a fim de prevenir o bloqueio desta, e os animais operados foram devidamente cuidados e mantidos em recuperação por cinco dias.

#### **4.5 - Microinjeções e Análise Comportamental**

Cento e vinte horas (5 dias) após a cirurgia, quando os animais já estavam recuperados, foram microinjetados, via cânula implantada, o agonista dos receptores 5-HT<sub>1A</sub>, F15599 e veículo (água destilada). Para a microinjeção, o obturador foi removido, e uma injetora (33-gauge injector, Plastics One Inc., USA) foi introduzida na cânula guia, 1,0 mm mais longa do que esta, permitindo a injeção da droga 2.0 mm abaixo da dura-máter, na região alvo. A solução foi lentamente injetada por um período de 2 minutos tendo a injetora conectada, através de um tubo de polietileno (P20), a uma seringa de Hamilton de 1,0 µl. Após a microinjeção, a injetora foi mantida na área por mais 30 segundos, permitindo a completa difusão da droga injetada e impedindo refluxo.

F15599 em diferentes doses (0,03; 0,1; 0,3 e 1,0 µg/0,2 µl) e veículo (água destilada, 0,2 µl) foram administrados 15 minutos antes dos testes comportamentais. Cada sujeito

recebeu apenas uma das doses. Semelhantemente aos testes anteriores à cirurgia, um instigador protegido dentro de um tubo cilíndrico de acrílico perfurado, foi introduzido dentro da gaiola do residente, cinco minutos após a microinjeção, por um período de cinco minutos. Transcorridos cinco minutos de intervalo após o término da provocação social, um intruso macho foi introduzido dentro da gaiola do residente, sem nenhuma proteção, a fim de permitir o confronto direto entre os dois sujeitos. Estes testes também foram registrados com o auxílio de uma câmera de vídeo.

O confronto “residente *versus* intruso” após as microinjeções foi registrado e posteriormente analisado por um pesquisador treinado utilizando o programa “The Observer”, versão 3.0, (Noldus, The Netherlands). O repertório comportamental analisado foi previamente definido segundo Miczek e O’Donnell (1978), o qual incluiu latência e frequência de elementos agressivos (morder, ataque lateral, perseguir, cheirar o intruso e sacudir a cauda) e duração de elementos não agressivos (caminhar, *grooming e rearing*).

#### **4.6 - Droga**

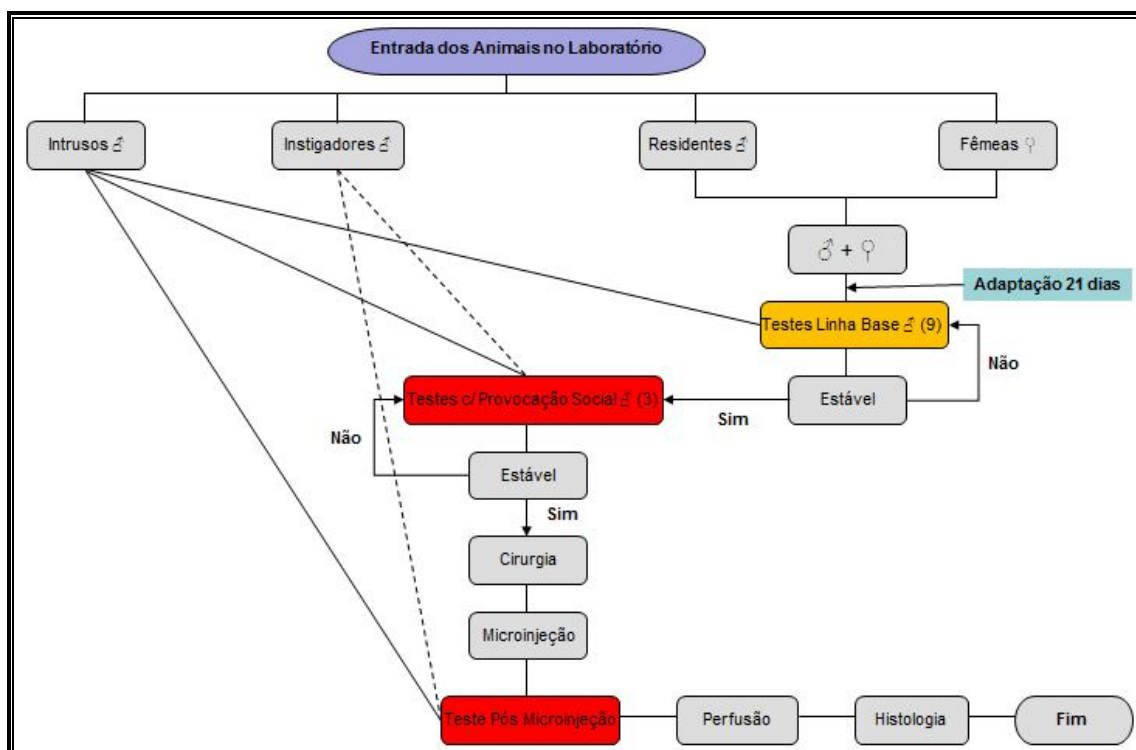
F15599 [3-cloro-4-fluorofenil-(4-flúor-4-[[5-metil]pirimidina-2-ilmetil)-amino]-metil}-piperidina-1-il)-metanona], Pierre Fabre, França, agonista seletivo dos receptores 5-HT<sub>1A</sub>, foi dissolvida em água destilada e mantida sob refrigeração no período em que não estava sendo utilizada.

#### **4.7 - Análise histológica para verificação da posição da cânula**

Após a realização dos experimentos, todos os camundongos machos residentes foram sacrificados em câmara de CO<sub>2</sub> e tiveram seu sistema circulatório “lavado” com solução salina 0,9% e paraformaldeído 4% tamponado, pelo processo de perfusão transcardíaca. Após

a perfusão, os encéfalos destes animais foram removidos e imersos em solução de paraformaldeído 4% tamponado, por pelo menos 7 dias. Posteriormente, foram cortados em vibrátomo em secções coronais de 80  $\mu\text{m}$  de espessura. As fatias de tecido resultantes foram montadas em lâminas histológicas previamente gelatinizadas, corados com a técnica HE (hematoxilina e eosina) e cobertas com lamínula.

A localização da posição da cânula guia e do local exato da microinjeção foi verificada através de imagens capturadas com o auxílio de uma câmera fotográfica digital acoplada a um microscópio óptico e do atlas estereotáxico do encéfalo de camundongo (Paxinos e Franklin, 2001). Somente os animais cuja microinjeção foi confirmada, através da análise histológica, na região VO PFC, foram considerados na análise estatística. Os animais cuja microinjeção ocorreu fora da região VO do CPF serviram de controle anatômico e foram analisados separadamente.



**Figura 5** – Fluxograma de atividades com os sujeitos experimentais.

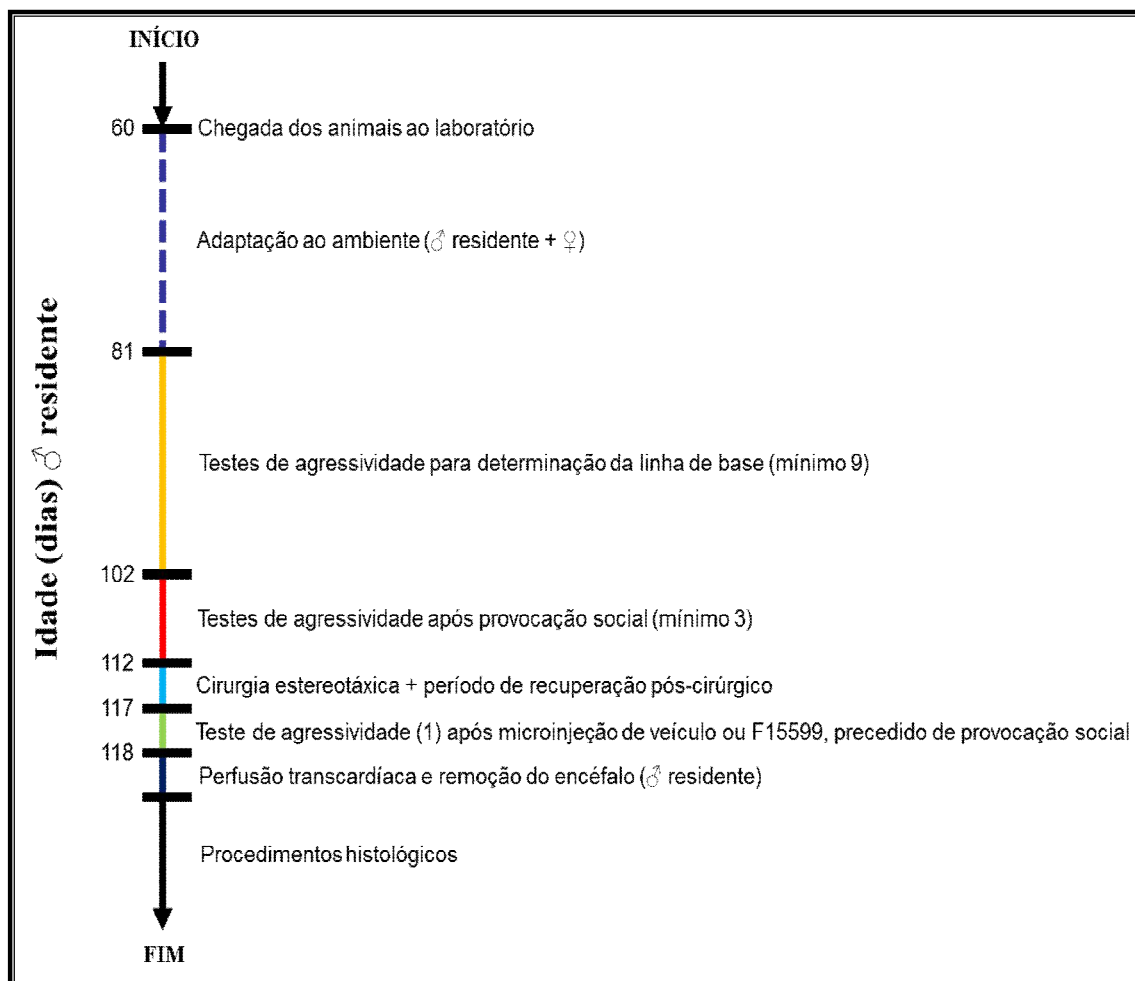


Figura 6 – “Linha do tempo” para os procedimentos com os animais.

#### 4.8 - Local de realização dos experimentos

Todos os procedimentos com os animais vivos, coloração das lâminas e análise dos comportamentos foram realizados nos laboratórios de Neurociências e Histologia da Unidade de Ensino Ciências da Saúde da Universidade do Vale do Rio dos Sinos – UNISINOS, em São Leopoldo – RS. A parte histológica de corte dos encéfalos e montagem das lâminas foi realizada no laboratório de Histologia do Instituto de Ciências Básicas da Saúde da Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS – Porto Alegre – RS.

#### 4.9 - Análise Estatística

Todos os dados foram expressos por média  $\pm$  erro padrão da média (EPM). O efeito das diferentes doses do agonista (F15599) foi analisado utilizando a comparação entre os grupos experimentais através de uma análise da variância (ANOVA) de uma via. Para os comportamentos onde ocorreram diferenças estatisticamente significativas para o valor de F ( $p \leq 0,05$ ), foi aplicado o teste *post hoc* de Newman-Keuls, comparando os grupos tratados com o grupo controle (veículo). Todas as análises estatísticas foram feitas utilizando o programa *Statistica* edição '99.

## 5 – RESULTADOS

Os resultados deste trabalho foram analisados de forma a comparar o efeito da microinjeção do agonista F15599 na região VO em diferentes doses quanto aos elementos agressivos e quanto aos elementos não agressivos do comportamento. Em seguida, foram comparados estes mesmos elementos comportamentais em relação ao local da microinjeção, quando ocorreram na região alvo (VO) e em outra região não-alvo (IL). Para efeitos de confirmação da correta localização da microinjeção do veículo e do agonista foram feitas análises histológicas.

### 5.1 – Efeito da microinjeção de diferentes doses de F15599 na região VO do CPF sobre os elementos agressivos do comportamento após provocação social

A microinjeção do agonista dos receptores 5-HT<sub>1A</sub>, F15599, na região VO do CPF de camundongos machos, não promoveu alterações significativas na latência para primeira mordida, comparando os grupos tratados com o grupo controle (Veículo) (Fig 7, Tabela 1). No entanto, reduziu significativamente a frequência do número de ataques com mordida nas doses de 0,03 µg ( $F(4,39) = 4,49$ ;  $p = 0,036$ ) Fig. 8, Tabela 1) e 0,1 µg ( $F(4,39) = 4,49$ ;  $p = 0,027$ ) Fig. 8, Tabela 1), quando comparados ao grupo controle. Para os animais dos grupos que receberam microinjeções das demais doses do agonista (0,3 e 1,0 µg), este comportamento permaneceu inalterado (Fig. 8, Tabela 1). A frequência dos demais elementos comportamentais relacionados à agressividade como ataque lateral (Fig. 9, Tabela 1), perseguir o intruso, cheirar o intruso e sacudir a cauda (Tabela 1), não sofreu alterações significativas, quando comparados ao grupo controle.

### **5.2 – Efeito da microinjeção de diferentes doses de F15599 na região VO do CPF sobre os elementos não agressivos do comportamento após provocação social**

Em relação aos elementos comportamentais não relacionados à agressividade, a microinjeção de diferentes doses (0,03; 0,1; 0,3 e 1,0 µg) do agonista dos receptores 5-HT<sub>1A</sub>, F15599, não afetou significativamente a duração de caminhar (Fig. 10, Tabela 1) e *rearing* (Fig. 12, Tabela 1). Já para o elemento comportamental *grooming* (Fig. 11, Tabela 1), houve diferença significativa mostrando um aumento na duração deste comportamento para o grupo de animais que recebeu a dose de 0,03 µg do agonista ( $F(4,39) = 4,49$ ;  $p = 0,027$ ), quando comparado ao grupo controle.

### **5.3 – Efeito da microinjeção de diferentes doses de F15599 na região não-alvo (IL) do CPF sobre os elementos agressivos do comportamento após provocação social**

A microinjeção do agonista dos receptores 5-HT<sub>1A</sub>, F15599, na região não-alvo (IL) do CPF de camundongos machos, em diferentes doses (0,1 e 1,0 µg), não promoveu alterações significativas na agressividade para todos os elementos comportamentais analisados (morder o intruso, ataque lateral, perseguir, cheirar e sacudir a cauda), quando comparados ao grupo controle (Veículo) microinjetado na mesma região (Fig. 13, Tabela 2).

### **5.4 – Efeito da microinjeção de diferentes doses de F15599 na região não-alvo (IL) do CPF sobre os elementos não agressivos do comportamento após provocação social**

Em relação aos elementos comportamentais não relacionados à agressividade, a microinjeção de diferentes doses do agonista F15599 (0,1 e 1,0 µg) demonstrou não alterar significativamente os comportamentos de caminhar, *grooming* e *rearing* (Tabela 2), quando comparados ao grupo controle.

### **5.5- Verificação histológica**

A análise histológica dos encéfalos dos animais que foram submetidos às microinjeções mostrou que, entre todos os sujeitos testados, 44 puderam ser considerados alvo para a região VO (Fig. 14). Um grupo significativo de animais (N=16) recebeu a microinjeção na região IL (Fig. 15), e estes animais serviram de controle anatômico, tendo seus dados comparados aos da região VO (Fig. 13 e Tabela 2). Os dados dos demais animais microinjetados nas adjacências da região VO (N=20) não foram analisados, pois o número de animais microinjetado em cada sub-região não permitiu uma comparação com os animais microinjetados na região-alvo.



## 5.6 – Tabelas

**Tabela 1** – Latência (em segundos) para primeira mordida, frequência de elementos agressivos e duração (em segundos) de elementos não agressivos do comportamento, após microinjeção de veículo ou F15599 (agonista dos receptores 5-HT<sub>1A</sub>) em diferentes doses, na região ventro-orbital (VO) do córtex pré-frontal (CPF).

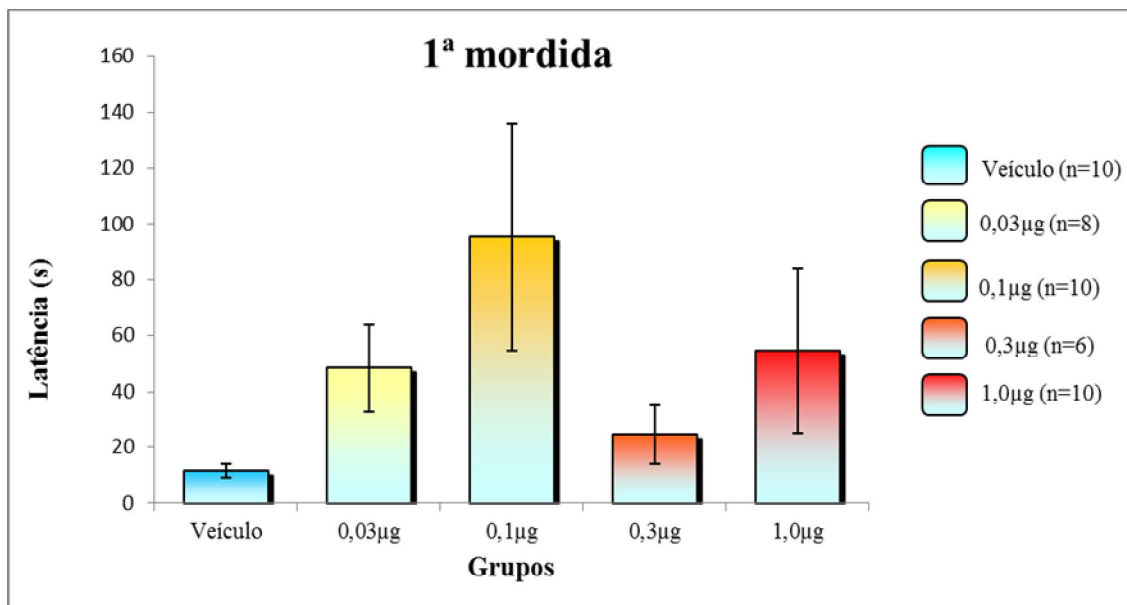
Elemento Comportamental	Veículo 0,2 µl (n=10)	Doses de F15599 (µg/0,2µl)			
		0,03 (n=8)	0,1 (n=10)	0,3 (n=6)	1,0 (n=10)
<i>Latência</i>					
Primeira mordida	11,6 ± 2,4	48,5 ± 15,6	95,3 ± 40,9	24,7 ± 10,7	54,6 ± 29,6
<i>Frequência de elementos agressivos</i>					
Ataque c/ mordida	20,9 ± 2,3	10,5 ± 2,0 *	9,0 ± 1,9 *	21,7 ± 2,8	18,7 ± 4,0
Ataque lateral	23,4 ± 2,7	11,1 ± 2,2	10,7 ± 2,9	18,0 ± 3,5	21,3 ± 4,8
Perseguir	0,4 ± 0,2	0,6 ± 0,3	0,1 ± 0,1	0,7 ± 0,7	1,0 ± 0,7
Cheirar	5,4 ± 1,2	6,4 ± 1,5	9,5 ± 2,3	11,2 ± 2,1	8,1 ± 1,8
Sacudir a cauda	25,0 ± 3,5	13,5 ± 2,0	15,8 ± 4,2	17,2 ± 3,0	24,0 ± 6,3
<i>Duração de elementos não agressivos</i>					
Caminhar (s)	71,2 ± 8,5	62,6 ± 6,3	57,3 ± 9,2	71,7 ± 5,3	52,9 ± 5,4
“Grooming” (s)	12,2 ± 2,3	35,3 ± 8,5 *	15,2 ± 5,4	20,3 ± 2,9	17,7 ± 4,1
“Rearing” (s)	24,9 ± 8,5	18,9 ± 6,3	40,2 ± 13,0	17,0 ± 4,7	17,2 ± 4,6

**Tabela 1** - Dados expressos em média ± EPM. \* p<0,05, em relação ao grupo controle (Veículo).

**Tabela 2** – Latência (em segundos) para primeira mordida, frequência de elementos agressivos e duração (em segundos) de elementos não agressivos do comportamento, após microinjeção de veículo ou F15599 (agonista dos receptores 5-HT<sub>1A</sub>) em diferentes doses, na região infra-límbica (IL) do córtex pré-frontal (CPF).

Elemento Comportamental	Veículo 0,2 µl (n=6)	Doses de F15599 (µg/0,2µl)	
		0,1 (n=4)	1,0 (n=6)
<i>Latência</i>			
Primeira mordida	12,2 ± 1,3	7,5 ± 1,7	13,0 ± 2,3
<i>Frequência de elementos agressivos</i>			
Ataque c/ mordida	21,2 ± 3,4	26,3 ± 3,0	16,7 ± 3,6
Ataque lateral	18,8 ± 1,4	25,4 ± 4,1	15,5 ± 3,8
Perseguir	2,2 ± 1,4	1,3 ± 0,8	0,8 ± 0,5
Cheirar	6,3 ± 1,6	8,3 ± 1,4	6,0 ± 1,1
Sacudir a cauda	16,5 ± 2,9	18,8 ± 3,1	19,5 ± 2,7
<i>Duração de elementos não agressivos</i>			
Caminhar (s)	61,5 ± 11,4	77,5 ± 14,8	59,7 ± 3,3
“Grooming” (s)	20,2 ± 6,7	27,5 ± 14,7	23,8 ± 7,9
“Rearing” (s)	15,0 ± 4,9	11,5 ± 3,5	10,0 ± 3,3

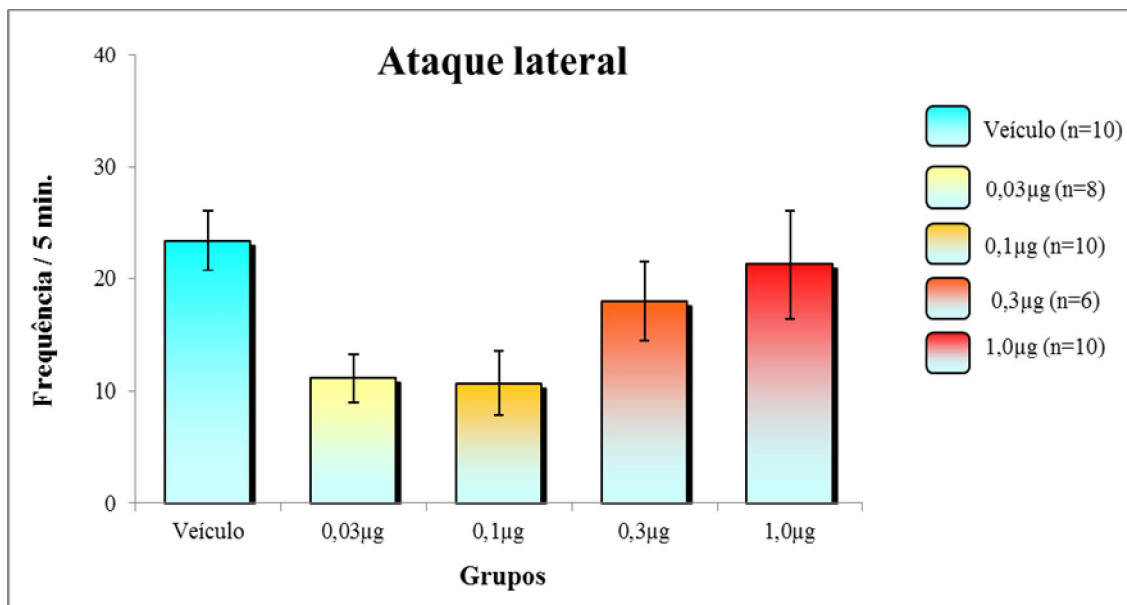
**Tabela 2** - Dados expressos em média ± EPM.



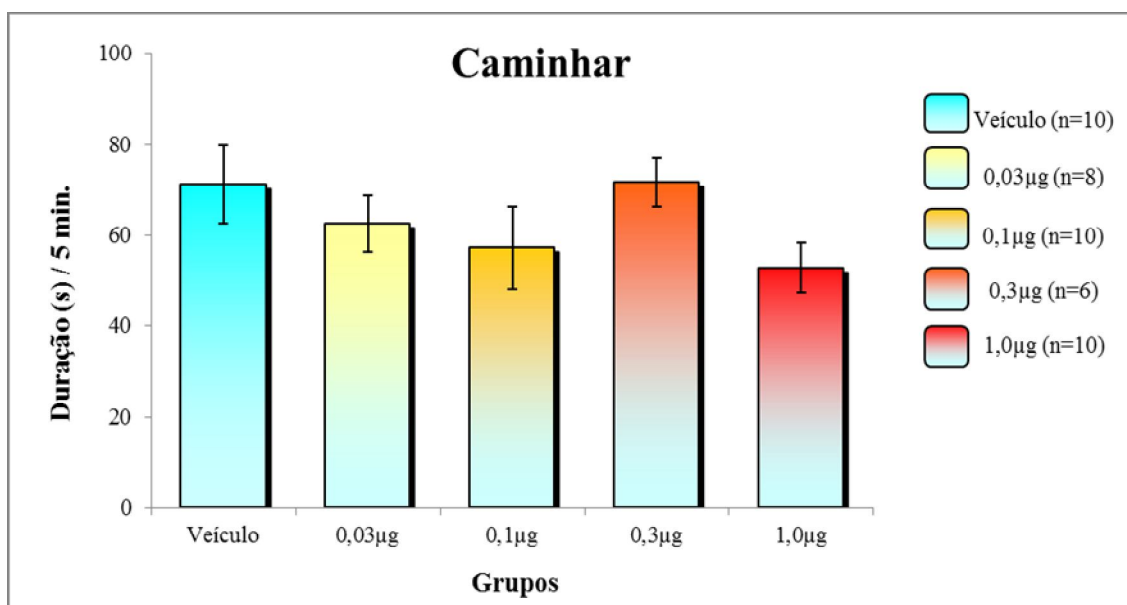
**Figura 7** – Média  $\pm$  EPM da latência para primeira mordida, após microinjeção de veículo e F15599 (agonista dos receptores 5-HT<sub>1A</sub>) em diferentes doses (0,03; 0,1; 0,3 e 1,0 µg/0,2µl), na região ventro-orbital (VO) do córtex pré-frontal (CPF) de camundongos machos provocados socialmente.



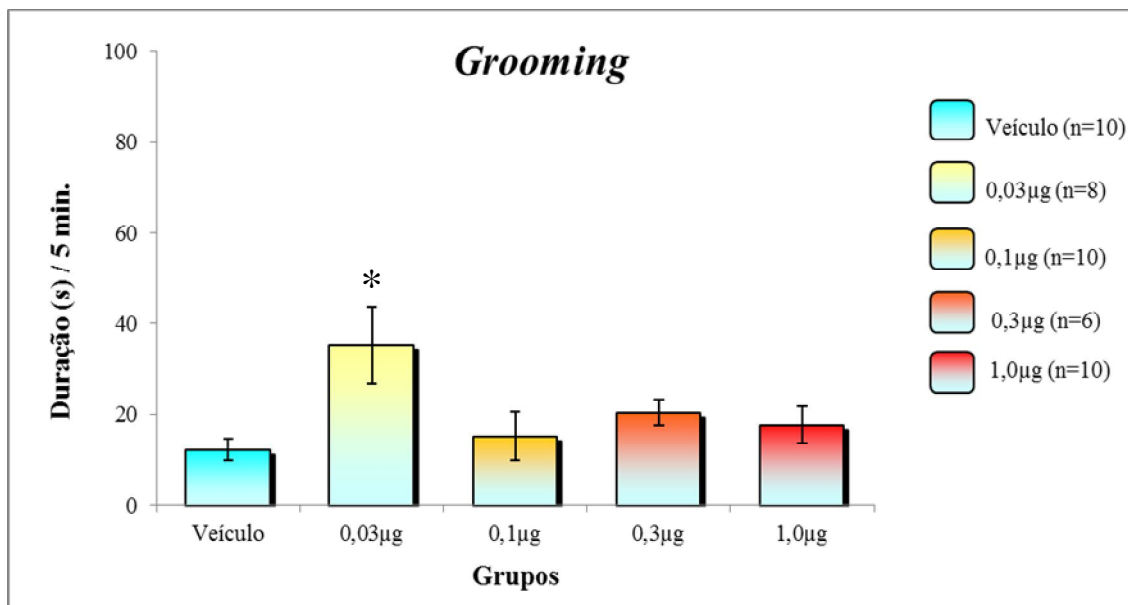
**Figura 8** – Média  $\pm$  EPM da frequência de mordidas, após microinjeção de veículo e F15599 (agonista dos receptores 5-HT<sub>1A</sub>) em diferentes doses (0,03; 0,1; 0,3 e 1,0 µg/0,2µl), na região ventro-orbital (VO) do córtex pré-frontal (CPF) de camundongos machos provocados socialmente. \*  $p \leq 0,05$ , em relação ao grupo controle.



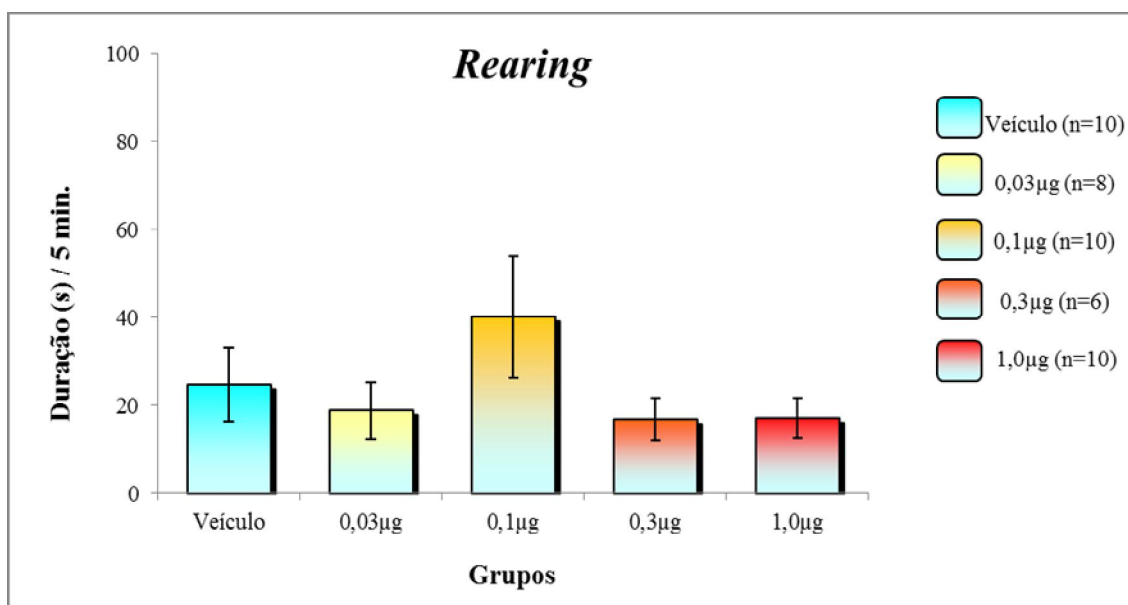
**Figura 9** – Média  $\pm$  EPM da frequência de ataques laterais, após microinjeção de veículo e F15599 (agonista dos receptores 5-HT<sub>1A</sub>) em diferentes doses (0,03; 0,1; 0,3 e 1,0 µg/0,2µl), na região ventro-orbital (VO) do córtex pré-frontal (CPF) de camundongos machos provocados socialmente.



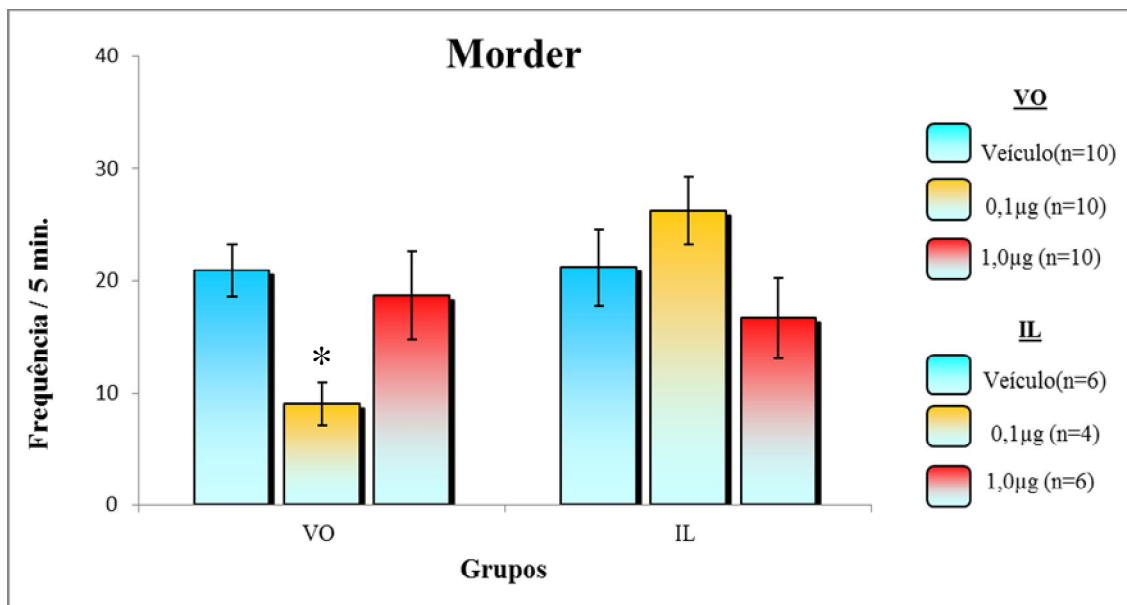
**Figura 10** – Média  $\pm$  EPM da duração do comportamento de caminhar, após microinjeção de veículo e F15599 (agonista dos receptores 5-HT<sub>1A</sub>) em diferentes doses (0,03; 0,1; 0,3 e 1,0 µg/0,2µl), na região ventro-orbital (VO) do córtex pré-frontal (CPF) de camundongos machos provocados socialmente.



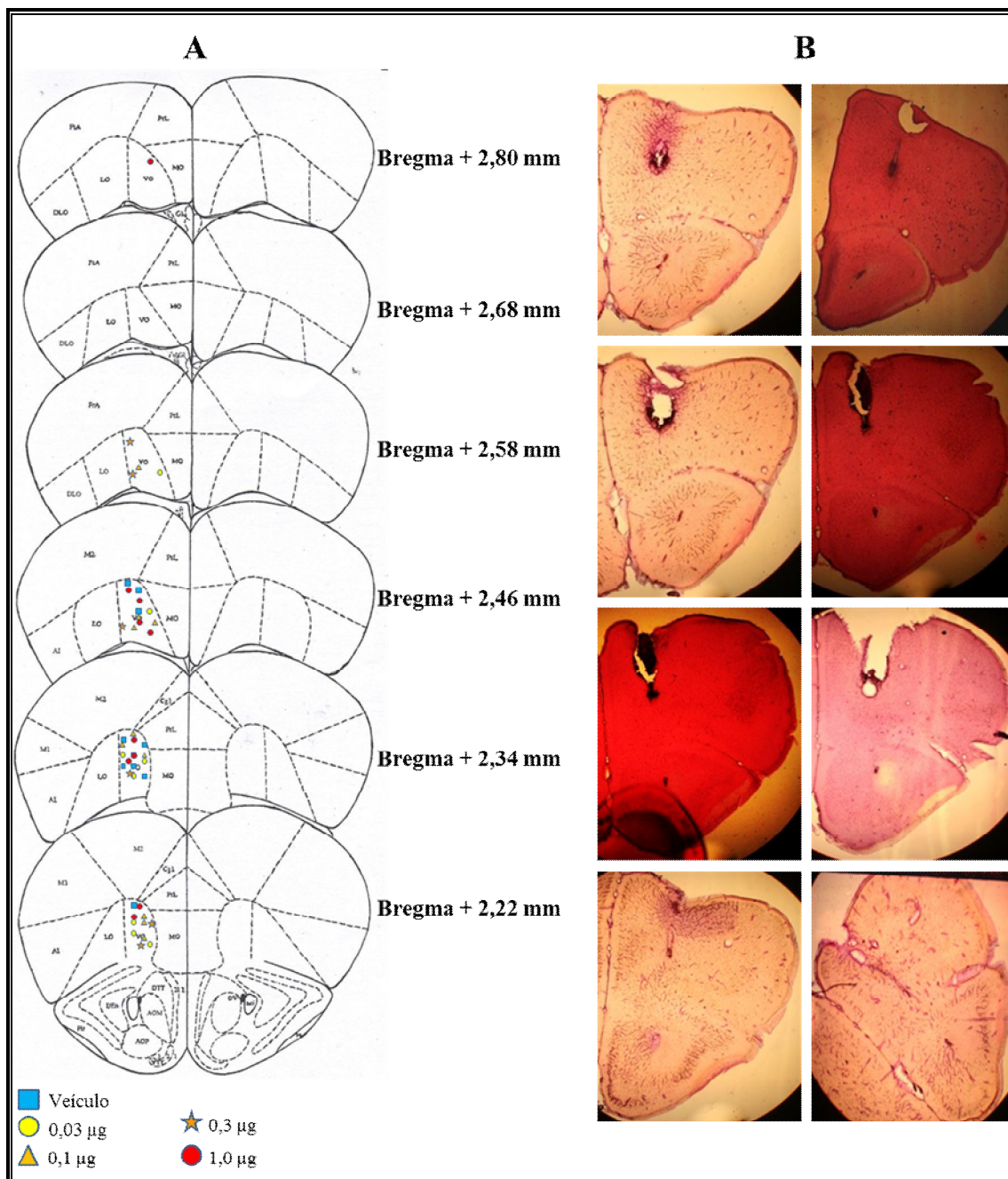
**Figura 11** – Média  $\pm$  EPM da duração do comportamento de *grooming*, após microinjeção de veículo e F15599 (agonista dos receptores 5-HT<sub>1A</sub>) em diferentes doses (0,03; 0,1; 0,3 e 1,0 µg/0,2µl), na região ventro-orbital (VO) do córtex pré-frontal (CPF) de camundongos machos provocados socialmente. \*  $p \leq 0,05$ , em relação ao grupo controle.



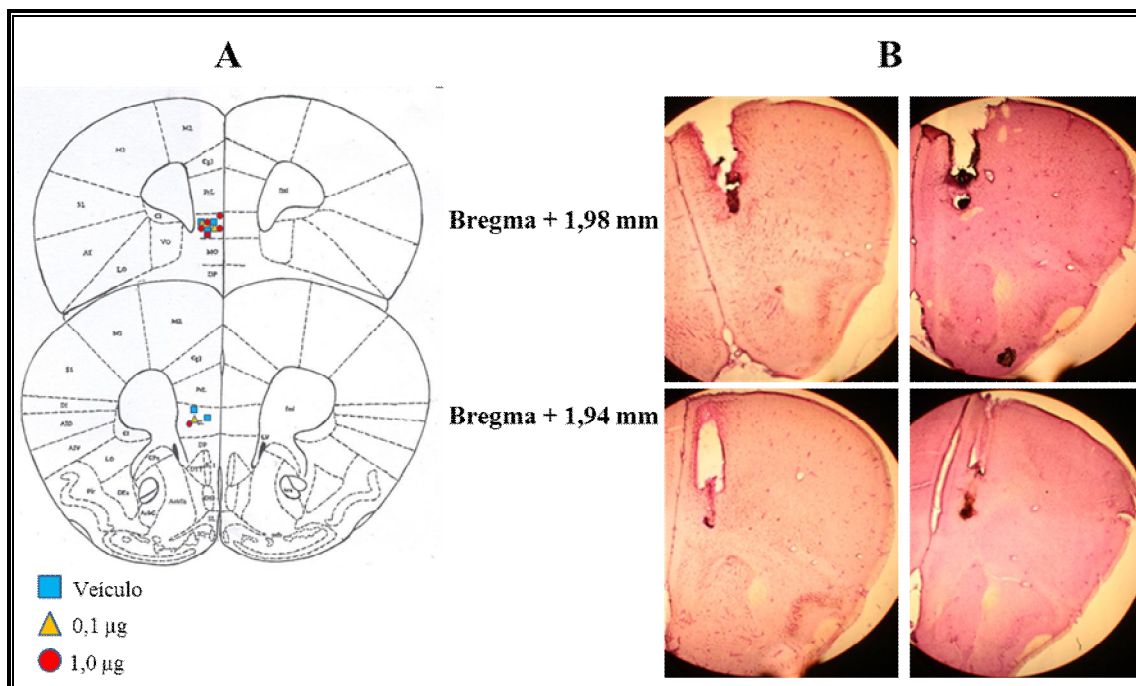
**Figura 12** – Média  $\pm$  EPM da duração do comportamento de *rearing*, após microinjeção de veículo e F15599 (agonista dos receptores 5-HT<sub>1A</sub>) em diferentes doses (0,03; 0,1; 0,3 e 1,0 µg/0,2µl), na região ventro-orbital (VO) do córtex pré-frontal (CPF) de camundongos machos provocados socialmente.



**Figura 13** – Média  $\pm$  EPM da frequência de mordidas, após microinjeção de veículo e F15599 (agonista dos receptores 5-HT<sub>1A</sub>) em diferentes doses (0,1 e 1,0  $\mu$ g/0,2 $\mu$ l), nas regiões ventro-orbital (VO) e infra-límbica (IL) do córtex pré-frontal (CPF) de camundongos machos provocados socialmente. \*  $p \leq 0,05$ , em relação ao grupo controle (Veículo).



**Figura 14** – Representação esquemática de sucessivas secções coronais (A) do encéfalo de camundongo mostrando o local da microinjeção de veículo e das doses 0,03 µg, 0,1 µg, 0,3 µg e 1,0 µg do agonista F15599, e foto micrografias (B) mostrando a correta localização da cânula guia e local da microinjeção na região VO do CPF.



**Figura 15** – Representação esquemática de sucessivas secções coronais (A) do encéfalo de camundongo mostrando o local da microinjeção de veículo e das doses 0,1 µg e 1,0 µg do agonista F15599, e foto micrografias (B) mostrando a correta localização da cânula guia e local da microinjeção na região IL do CPF.

## 6 – DISCUSSÃO

Os resultados do presente estudo demonstraram que o agonista seletivo dos receptores 5-HT<sub>1A</sub> pós-sinápticos, F15599, apresentou efeitos anti-agressivos importantes quando microinjetado na região VO do CPF de camundongos machos, no teste residente-intruso, após estes animais terem sido submetidos ao protocolo de provocação social para aumento da agressividade. Os grupos de animais que receberam as microinjeções com as doses mais baixas (0,03 e 0,1 µg) do agonista diminuíram significativamente a frequência de ataques com mordida quando comparados ao grupo de animais controle. Além disso, há uma tendência de diminuição da frequência de ataques laterais para o grupo que recebeu a dose de 0,03 µg do agonista, quando comparado ao grupo controle. A latência para primeira mordida e a frequência dos demais elementos comportamentais da agressividade analisados (perseguir o intruso, cheirar o intruso e sacudir a cauda), não diminuíram na mesma proporção que a frequência de ataques com mordida e ataques laterais. O tratamento reduziu significativamente apenas o elemento do comportamento agressivo, morder o intruso.

Em relação aos elementos não agressivos do comportamento, somente a duração de *grooming* sofreu alteração, com aumento para o grupo 0,03 µg, quando comparado ao grupo controle. Os demais elementos comportamentais (caminhar e *rearing*) são estatisticamente semelhantes se comparados ao grupo controle, para todos os grupos tratados.

É importante citar aqui que nenhum dos elementos comportamentais relacionados à agressividade (morder o intruso, ataque lateral, perseguir, cheirar e sacudir a cauda) sofreu alteração quando a microinjeção do agonista F15599 ocorreu na região (não-alvo) IL do CPF, mostrando que a região VO está mais relacionada e é particularmente importante na modulação deste comportamento.



O modelo animal para estudo da agressividade utilizado neste trabalho, camundongos machos que apresentam comportamento agressivo territorial no teste “residente-intruso”, mostrou-se eficaz, assim como anteriormente descrito por Miczek e O’Donnell (1978). Além disso, a indução de altos níveis de agressividade com a utilização do protocolo de provocação social, com o objetivo de aproximar o comportamento agressivo destes animais de padrões considerados violentos, utilizado em diversos trabalhos (Fish *et al.*, 1999; Olivier e Oorschot, 2005; Centenaro *et al.*, 2008) mostra-se importante na condução desta modalidade de estudo.

Assim como os trabalhos de de Boer e Koolhaas (2005) e Miczek *et al.* (2002) este trabalho confirma que o sistema serotoninérgico é essencial no controle da agressividade e possui um papel importante na neurobiologia deste comportamento. Estudos comprovando o envolvimento da 5-HT na agressividade foram conduzidos em diversas classes de animais, desde invertebrados (Kravitz e Huber, 2003) até vertebrados como répteis (Summers *et al.*, 2005), peixes (Overli *et al.*, 1999), aves (Ison *et al.*, 1996) e mamíferos (Miczek *et al.*, 2002), inclusive em seres humanos (Tuinier *et al.*, 1995; Berman *et al.*, 1997). O trabalho também provê sustentação às ideias de que a elevação dos níveis de 5-HT em certas regiões do encéfalo de indivíduos que apresentam fortes traços agressivos está frequentemente relacionada à diminuição da agressividade (de Almeida *et al.*, 2005; Ferrari *et al.*, 2005).

Além disso, o envolvimento de receptores da família 5-HT<sub>1</sub>, mais precisamente o subtipo de receptor 5-HT<sub>1A</sub>, na modulação deste comportamento, sugerido por Miczek *et al.* (2002) e Olivier (2004) fica confirmada com os resultados deste estudo. Claras evidências também existem na literatura relacionando outras famílias de receptores como 5-HT<sub>2</sub> (Miczek *et al.*, 2002; Olivier, 2004) e mais recentemente 5-HT<sub>3</sub> (McKenzie-Quirk *et al.*, 2005; Ricci *et al.*, 2004) com a agressividade. Estudos prévios demonstraram que a ativação dos receptores 5-HT<sub>1A</sub> em sítios pós-sinápticos, entre eles o córtex pré-frontal, tem efeito na redução de comportamentos agressivos, tanto o comportamento agressivo típico das espécies como

também o exacerbado (Sijbesma *et al.*, 1991; Mos *et al.*, 1992). Agonistas dos receptores 5-HT<sub>1A</sub> também reduzem o comportamento agressivo de machos que foram submetidos à provocação social (Veiga *et al.*, 2007). Porém, quando microinjetados nos NDR, agonistas deste subtipo de receptor promovem elevação da agressividade em fêmeas pós-parto, como descrito no trabalho de Veiga *et al.*, (2011).

Os receptores 5-HT<sub>1A</sub> são encontrados tanto pré-sinápticamente, nos neurônios serotoninérgicos dos núcleos da rafe, onde atuam como autoreceptores somatodendríticos, como pós-sinápticamente, em neurônios não serotoninérgicos, onde atuam como heteroreceptores inibitórios, em diversas regiões encefálicas, dentre elas as relacionadas à modulação do comportamento agressivo (Boschert *et al.*, 1994; Raid *et al.*, 2000; de Boer e Koolhaas, 2005). Por causa da múltipla localização destes receptores, os agonistas 5-HT<sub>1A</sub> têm duplo efeito sobre a neurotransmissão: quando se ligam aos autoreceptores 5-HT<sub>1A</sub> de neurônios serotoninérgicos inibem o disparo e em consequência a neurotransmissão destas células e, quando se ligam aos heteroreceptores 5-HT<sub>1A</sub> de neurônios não serotoninérgicos, mimetizam os efeitos da serotonina lançada na fenda sináptica, provocando a inibição destas células e consequentemente inibindo a liberação de outros neurotransmissores (de Boer e Koolhaas, 2005). Além deste comportamento, estes receptores também estão envolvidos em diversas outras funções como ansiedade (Parks *et al.*, 1998), apetite (Ebenezer, Arkle e Tite, 1998), impulsividade (Winstanley *et al.*, 2005), memória (Orgen *et al.*, 2008; Yasuno *et al.*, 2003), humor (Kennet, Dourish e Curzon, 1987), nocicepção (Bardin *et al.*, 2003), comportamento sexual (Popova e Amstislavskaya, 2002), sono (Monti e Jantos, 1992), termorregulação (Gudelsky, Koenig e Meltzer, 1986), entre outras.

Neste estudo os resultados apontam a efetividade do agonista F15599 na ativação dos receptores 5-HT<sub>1A</sub> como sugerido pelos trabalhos apresentados por Depoortère *et al.* (2010). Através da análise dos resultados, pode-se inferir que o agonista F15599, quando

microinjetado na região VO do CPF, pode estar mimetizando os efeitos da 5-HT na fenda sináptica, ligando-se aos heteroreceptores 5-HT<sub>1A</sub> e causando a inibição de neurônios não serotoninérgicos. Possivelmente este agonista agiu ativando os receptores 5-HT<sub>1A</sub> pós-sinápticos na região VO do CPF. A ativação destes receptores conduz a abertura de canais de potássio na membrana da célula, hiperpolarização da célula e cessação do disparo celular (Sprouse e Aghajanian, 1987; Ferreira e Menescal-de-Oliveira, 2009). Os receptores da família 5-HT<sub>1</sub>, assim como a maioria das famílias de receptores da serotonina, estão relacionados à modulação da adenilato ciclase ou do fosfoinositol via ativação de proteína G, ou seja, são receptores acoplados a proteínas G (Olivier e Oorschot, 2005).

Sabe-se que o CPF é a região encefálica responsável pelo controle do comportamento inibitório em geral (Blair, 2001) e que a sub-região órbito-frontal é particularmente importante no controle inibitório do comportamento agressivo e impulsivo (Blair, 2001; Seguin, 2004; Cardinal *et al.*, 2004; Spinella, 2004; Kheramin *et al.*, 2005; de Almeida *et al.*, 2006; Centenaro *et al.*, 2008). Além disso, a agressão impulsiva pode estar relacionada com uma disfunção das projeções inibitórias do córtex pré-frontal, mais especificamente das regiões orbital e medial para a amígdala, resultante de uma anormalidade neuroquímica envolvendo a 5-HT (Davidson, 2000; Best, Williams e Coccaro, 2002). O córtex pré-frontal que possui conexões com a amígdala e a região medial desta estrutura, através de projeções via estria terminal para o hipotálamo e deste último para a substância cinzenta periaquedutal dorsal é um circuito postulado como sendo importante na modulação da agressividade (Blair e Cipolotti, 2000). Sugere-se que a ativação dos receptores 5-HT<sub>1A</sub> na região VO do CPF com a utilização do agonista F15599 esteja levando a uma inibição das projeções para a amígdala, e desta forma agindo na redução do comportamento agressivo.

A ação do agonista F15599 no receptor indica uma relação com o comportamento agressivo. Estes dados condizem com vários outros estudos pré-clínicos que já demonstraram

que a ativação dos receptores 5-HT<sub>1A</sub> com a utilização de agonistas promoveu efeitos anti-agressivos importantes, como por exemplo, 8-OH-DPAT e flesinoxan (Bell e Hobson, 1994; de Boer e Koolhaas, 2005; Sperry *et al.*, 2003; Ten Eyck, 2008). Apesar de estes outros agonistas terem sido administrados sistemicamente, a microinjeção do F15599 na região VO do CPF confirmou o efeito dos agonistas 5-HT<sub>1A</sub> sobre o comportamento agressivo.

No presente estudo, o agonista F15599 mostrou-se significativamente eficaz na redução da agressividade nas concentrações mais baixas (0,03 e 0,1 µg). Outros trabalhos nos quais F15599 foi utilizado em estudos com depressão (Assié *et al.*, 2010; Meurel *et al.*, 2007), cognição (Depoortère *et al.*, 2010) e memória (Depoortère *et al.*, 2008), já demonstraram que este agonista é eficaz em doses muito baixas, incapazes de afetar comportamentos relacionados a atividade motora. F15599 (pK<sub>i</sub> = 8.5) liga-se preferencialmente aos receptores 5-HT<sub>1A</sub> pós-sinápticos no CPF, e esta seletividade regional distingue este agonista da maioria dos agonistas 5-HT<sub>1A</sub> previamente desenvolvidos, os quais ligam-se preferencialmente aos autoreceptores 5-HT<sub>1A</sub> somatodendríticos (Newman-Tancredi *et al.*, 2009; Lladó-Pelfort *et al.*, 2010). Os autores supracitados se valem da seletividade do agonista por esta população de receptores 5-HT<sub>1A</sub> como possível explicação do por que ocorrem efeitos mais significativos somente em doses baixas. Porém, a efetividade maior em doses baixas para este agonista ainda carece de uma explicação e permanece incerta. Segundo Depoortère *et al.* (2010), a seletividade por sub-populações de receptores que estão associadas a atividades terapêuticas, é importante para o desenvolvimento de fármacos específicos para diversas patologias que envolvem deficiências localizadas, tais como a esquizofrenia e a depressão.

Sugere-se que este agonista reduza a agressividade em uma estreita gama de ativação, como demonstrado pelo fato de que em doses altas (0,3 e 1,0 µg), não ocorreram alterações significativas em relação ao grupo controle, para os diversos elementos comportamentais relacionados à agressividade analisados. Resultados semelhantes com a microinjeção de outro

agonista (8-OH-DPAT) para este subtipo de receptor foram encontrados por Centenaro *et al.* (2008) e por de Almeida e Lucion (1997), em fêmeas pós-parto, os quais também não demonstraram haver uma clara curva dose-efeito.

Para a maioria dos agonistas 5-HT<sub>1A</sub> utilizados até o presente momento no estudo com comportamento agressivo, as doses mais efetivas em vertebrados vêm acompanhadas por efeitos não específicos como sedação, baixa atividade motora, comportamentos estereotipados e redução do interesse social (de Boer e Koolhaas, 2005; Olivier *et al.*, 1995; Mos *et al.*, 1993). Porém, em alguns estudos que utilizaram os agonistas alnespirona e S15535 os resultados mostraram que houve redução dos comportamentos agressivos sem afetar os comportamentos não agressivos (de Boer e Koolhaas, 2005; de Boer *et al.*, 1999, 2000). O presente estudo confirma a efetividade do agonista F15599 na agressividade sem afetar os elementos não agressivos do repertório comportamental, caminhar e *rearing*.

Os resultados de *grooming* apareceram significativamente elevados para o grupo 0,03 µg e podem ser observados como um tipo de comportamento deslocado. Grant e Mackintosh (1963, *apud* Salles, 1972) e Sevenster (1961) possuem trabalhos que consideram o *grooming* como comportamento deslocado, tendo o primeiro apontado a possibilidade de o *grooming* estar relacionado à agressividade frustrada. Outra relação de *grooming* com o comportamento agressivo é o *auto-grooming* visto em ratos vencedores de situações de combate por Van Iersel e Bol (1958). Mos *et al.* (1992) também encontraram aumento da duração do comportamento de *grooming* após injeção intracerebroventricular de TFMPP (1-(3-trifluoromethyl-phenyl)piperazine hydrochloride), um agonista misto dos receptores 5-HT<sub>1A, B, C</sub> no teste residente-intruso em ratos machos.

Além de confirmarem a região VO do CPF na modulação do comportamento agressivo, os dados deste estudo reforçam a afirmação de outros trabalhos, de que a região IL do CPF não apresenta um efeito semelhante ao da região VO na modulação da agressão.

Estudos prévios já demonstraram que esta região está mais associada com os efeitos da ansiedade e com funções cognitivas, como a atenção e memória (Wall e Messier, 2002; Dalley *et al.*, 2004).

## 7 – CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

Este é o primeiro estudo que utiliza o novo e seletivo agonista dos receptores 5-HT<sub>1A</sub>, F15599, no estudo do comportamento agressivo.

Os resultados apresentados aqui confirmam a importância do sistema serotoninérgico na modulação da agressividade. Mais especificamente, confirmam que a ativação dos receptores 5-HT<sub>1A</sub> pós-sinápticos da região VO do CPF é importante na redução deste comportamento.

A região ventro-orbital do córtex pré-frontal é uma área encefálica relacionada ao controle do comportamento agressivo exacerbado.

O agonista seletivo dos receptores 5-HT<sub>1A</sub>, F15599, é efetivo na ativação destes receptores em sítios pós-sinápticos, tais como o córtex pré-frontal, e reduz o comportamento agressivo com maior eficácia quando microinjetado em doses baixas na região VO.

Quando microinjetado na região VO do CPF, F15599 reduz o comportamento agressivo sem afetar os elementos não agressivos do repertório comportamental de camundongos machos, no teste “residente *versus* intruso”, precedido do protocolo de provocação social.

A ativação dos receptores 5-HT<sub>1A</sub> na região infra-límbica do CPF, com a microinjeção de F15599, não afeta o comportamento agressivo.

Futuros estudos são necessários para que seja confirmada a especificidade deste receptor, com a microinjeção prévia do antagonista WAY-100.635 na mesma região encefálica, antes da microinjeção do agonista, objetivando bloquear o efeito desta substância. A administração de outras doses do agonista pode contribuir para o estabelecimento de uma curva dose-efeito mais clara. Além disso, testar o comportamento agressivo de animais após

administração sistêmica do agonista F15599 é importante para uma comprovação da eficácia da substância sobre a agressividade. Com o propósito de verificar o efeito da administração da substância sobre a atividade motora dos animais, um teste de locomoção específico após o teste de agressividade faz-se necessário.



## 8 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aldegunde M., Soengas J. L., Rozas G. 2000. *Acute effects of L-tryptophan on tryptophan hydroxylation rate in brain regions (hypothalamus and medulla) of rainbow trout (Oncorhynchus mykiss)*. Journal of Experimental Zoology 286:131-135.
- Anderson S. W., Bechara A., Damasio H., Tranel D., Damasio A. R. 1999. *Impairment of social and moral behavior related to early damage in human prefrontal cortex*. Nature Neuroscience 2:1032-1037.
- Assié M. B., Bardin L., Depoortère R., Carilla-Durand E., Newman-Tancredi A. 2006. *F15599, a highly selective serotonin 5-HT<sub>1A</sub> receptor agonist: in vivo profile in neurochemical and behavioural models of serotonergic activity*. European Neuropsychopharmacology 18(4):S246.
- Assié M. B., Bardin L., Auclair A. L., Carilla-Durand E., Depoortère R., Koek W., Kleven M. S., Colpaert F., Vacher B., Newman-Tancredi A. 2010. *F15599, a highly selective post-synaptic 5-HT<sub>1A</sub> receptor agonist: in vivo profile in behavioural models of antidepressant and serotonergic activity*. International Journal of Neuropsychopharmacology 13:1285-1298.
- Badawy A. A. 1999. *Tryptophan metabolism in alcoholism*. Advances in Experimental Medicine and Biology 467:265-274.
- Bardin L., Tarayre J. P., Malfetes N., Koek W., Colpaert F. C. 2003. *Profound, non-opioid analgesia produced by the high-efficacy 5-HT<sub>1A</sub> agonist F13640 in the formalin model of tonic nociceptive pain*. Pharmacology 67(4):182-194.

- Barrat E. S. 1985. *Impulsiveness defined within a systems model of personality*. In: Speilburger E. P., Butcher J. N. (eds) *Advances in personality assessment*. v.5 Hillsdale, New Jersey: Lawrence Erlbaum Associates, 224p.
- Barrat E. S. 1994. *Impulsiveness and aggression*. In: Monahan J., Steadman H. (eds) *Violence and mental disorder: developments in risk assessment*. Chicago: University of Chicago, 324p.
- Barrat E. S., Stanfor M. S., Dowdy L., Liebman M. J., Kent T. A. 1999. *Impulsive and premeditated aggression: a factor analysis of self-report acts*. *Psychiatry Research* 86:163-173.
- Bechara A., Damasio H., Damasio A. R. 2000. *Emotion, decision making and the orbitofrontal cortex*. *Cerebral Cortex* 10:295-307.
- Bell R., Hobson H. 1994. *5-HT<sub>1A</sub> receptor influences on rodent social and agonistic behavior: a review and empirical study*. *Neuroscience Biobehavioural Reviews* 18:325:328.
- Bennet A. J., Lesch K. P., Heils A., Long J. C., Lorenz J. G., Shoaf S. E., Champoux M., Suomi S. J., Linnoila M. V. Higley J. D. 2002. *Early experience and serotonin transporter gene variation interact to influence primate CNS function*. *Molecular Psychiatry* 7:118-122.
- Berkowitz L. 1993. *Aggression: its causes, consequences and control*. Philadelphia Temple University Press, 485p.
- Berman M. E., Tracy J. I., Coccaro E. F. 1997. *The serotonin hypothesis of aggression revisited*. *Clinical Psychology Review* 17:651-665.
- Best M., Williams M., Coccaro E.F. 2002. *Evidence for a dysfunctional prefrontal circuit in patients with an impulsive aggressive disorder*. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 99:8448-8453.

- Blair R. J. R., Cipolotti L. 2000. *Impaired social response reversal: a case of “acquired sociopathy”*. Brain 123:1122-1141.
- Blair R. J. 2001. *Neurocognitive models of aggression, the antisocial personality disorders, and psychopathy*. Journal of Neurology Neurosurgery & Psychiatry 71:727-731.
- Blair R. J. R. 2004. *The roles of orbital frontal cortex in the modulation of antisocial behavior*. Brain and Cognition 55:198-208.
- Boschert U., Amara D.A., Segu L., Hen R. 1994. *The mouse 5-hydroxytryptamine 1B receptor is localized predominantly on axon terminals*. Neuroscience 58:167-182.
- Bouwknegt J. A., Hijzen T. H., van der GJ M., RA H. R., Olivier B., 2001. *Absence of 5-HT<sub>1B</sub> receptors is associated with impaired impulse control in male 5-HT<sub>1B</sub> knockout mice*. Biological Psychiatry 49:557-568.
- Cardinal R.M., Winstanley C.A., Robbins T.W., Everitt B.J. 2004. *Limbic corticostriatal systems and delayed reinforcement*. Annals of the New York Academy of Sciences, 1021:33-50.
- Celada P., Llado-Pelfort L., Assié M. B., Newman-Tancredi A. *et al.*, 2007. *F15599, a 5-HT<sub>1A</sub> agonist that preferentially targets post-synaptic receptors in the frontal cortex: (IV) Influence on the rat raphe and pyramidal neuronal activity and cortical dopamine release*. Neuroscience Meeting Planner. San Diego, C. A.: Society for Neuroscience. Online. 170,27.
- Centenaro L.A., Vieira K., Zimmermann N., Miczek K.A., Lucion A.B., De Almeida R.M.M. 2008 . *Social instigation and aggressive behavior in mice: role of 5-HT<sub>1A</sub> and 5-HT<sub>1B</sub> receptors in the prefrontal cortex*. Psychopharmacology 201:237-248.

- Clotfelter E. D., O'Hare E. P., Mcnitt M. M., Carpenter R. E., Summers C. H. 2007. *Serotonin decreases aggression via 5-HT<sub>1A</sub> receptors in the fighting fish Betta splendens*. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior* 87:222-231.
- Coccaro E.F., Siever L.J., Klar H.M., Maurer G., Cochrane K., Cooper T.B., Mohs R.C., Davis K.L. 1989. *Serotonergic studies in patients with affective and personality disorders. Correlates with suicidal and impulsive aggressive behavior*. *Archives of General Psychiatry* 46(7): 587-599.
- Crawley J. N., Schleidt W. M., Contrera J. F. 1975. *Does social environment decrease propensity to fight in male mice?* *Behavioral Biology* 15:73-83.
- Dalley J.W., Cardinal R.N., Robbins T.W. 2004. *Prefrontal executive and cognitive functions in rodents: neural and neurochemical substrates*. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 28:771-784.
- Daruna J. H., Barnes P. A. 1993. *A neurodevelopmental view of impulsivity*. In: McCown W. G., Johnson J. L., Shure M. B. (eds) *The impulsive client: theory, research and treatment*. Washington D. C.: American Psychological Association, 434p.
- Davidson R.J. 2000. *Disfunction in the neural circuitry of emotion rregulation – a possible prelude to violence*. *Science* 289: 591-594.
- De Almeida R. M. M., Lucion A. B. 1997. *8-OH-DPAT in the median raphe, dorsal periaqueductal gray and corticomедial amygdala nucleus decreases, but in the medial septal area it can increase maternal aggressive behavior in rats*. *Psychopharmacology* 134:392-400.
- De Almeida R. M. M., Miczek K. A. 2002. *Aggression escalated by social instigation or by discontinuation of reinforcement (“frustration”) in mice: inhibition by anpirtoline – a 5-HT<sub>1B</sub> receptor agonist*. *Neuropsychopharmacology* 27:171-181.

- De Almeida R.M.M., Giovenardi M., Silva S.P., Oliveira V.P., Stein D.J. 2005. *Maternal aggression in wistar rats: effect of 5-HT<sub>2A/2C</sub> receptor agonist and antagonist microinjected into the dorsal periaqueductal gray matter and medial septum.* Brazilian Journal of Medical and Biological Research 38:597-602.
- De Almeida R.M.M., Rosa M.M., Santos D.M., Saft D.M., Benini Q., Miczek K.A. 2006. *5-HT<sub>1B</sub> receptors, ventral orbitofrontal cortex and aggressive behavior in mice.* Psychopharmacology 185:441-450.
- De Almeida, J., Palacios J. M., Mengod G. 2008. *Distribution of 5-HT and DA receptors in primate pré-frontal cortex: implications for pathophysiology and treatment.* Progress in Brain Research, v.102, chapter 5, 102-115,
- De Boer S. F., Lesourd M., Mocaer E., Koolhaas J. M. 1999. *Selective anti-aggressive effects of alnespirone in resident-intruder test are mediated via 5-hydroxytryptamine<sub>1A</sub> receptors: A comparative pharmacological study with 8-hydroxy-2-dipropylaminotetralin, ipsapirone, buspirone, eltoprazine and WAY-100635.* Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics 288:1125-1133.
- De Boer S. F., Lesourd M., Mocaer E., Koolhaas J. M. 2000. *Somatodendritic 5-HT<sub>1A</sub> autoreceptors mediate the anti-aggressive actions of 5-HT<sub>1A</sub> receptor agonists in rats: An ethopharmacological study with S-15535, alnespirone and WAY-100635.* Neuropsychopharmacology 23:20-33.
- De Boer S.F., Koolhaas J.M. 2005. *5-HT<sub>1A</sub> and 5-HT<sub>1B</sub> receptor agonists and aggression: a pharmacological challenge of the serotonin deficiency hypothesis.* European Journal of Pharmacology. 526:125-139.
- De Bold J. F., Miczek K. A., 1981. *Sexual dimorphism in the hormonal control of aggressive behavior in rats.* Pharmacology, Biochemistry and Behavior 14:89-93.

- Depoortère R., Auclair A., Bardin L., Newman-Tancredi A. 2008. *F15599, a post-synaptic cortical preferential 5-HT<sub>1A</sub> agonist: II) Effect in rodent models of cognition memory deficits*. *European Neuropsychopharmacology* 18(4):S353.
- Depoortère R., Auclair A., Bardin L., Colpaert F. C., Vacher B., Newman-Tancredi A. 2010. *F15599, a preferential post-synaptic 5-HT<sub>1A</sub> receptor agonist: activity in models of cognition in comparison with reference 5-HT<sub>1A</sub> receptor agonists*. *European Neuropsychopharmacology* 20:641-654.
- Dolard J., Doob L., Miller N., Mowrer O., Sears R. 1939. *Frustration and aggression*. New Haven: Yale University Press, 209p.
- Ebenezer I. S., Arkle M. J., Tite R. M. 1998. *8-hydroxy-2-(di-n-propylamino)-tetralin inhibits food intake in fasted rats by an action at 5-HT<sub>1A</sub> receptors*. *Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology*. 29(4):269-272.
- Evenden J. 1999. *Impulsivity: a discussion of clinical and experimental findings*. *Journal of Psychopharmacology* 13(2):180-192.
- Fairbanks L. A., Fontenot M. B., Phillips-Conroy J. E., Jolly C. J., Kaplan J. R., Mann J. J. 1999. *CNS monoamines, age and impulsivity in wild grivet monkeys (*Cercopithecus aethiops aethiops*)*. *Brain, Behavior and Evolution* 53:305-312.
- Ferrari P. F., Palaza P., Parmigiani S., de Almeida R. M. M., Miczek K. A. 2005. *Serotonin and aggressive behavior in rodents and nonhuman primates: predispositions and plasticity*. *European Journal of Pharmacology* 526:259-273.
- Ferreira M. D., Menescal-de-Oliveira L. 2009. *Role of dorsal raphe nucleus 5-HT(1A) and 5-HT(2) receptors in tonic immobility modulation in guinea pigs*. *Brain Research* 1285:69-76.

Fish E.W., Faccidomo S., Miczek K.A. 1999. *Aggression heightened by alcohol or social instigation in mice: reduction by the 5-HT<sub>1B</sub> receptor agonist CP-94,253*. *Psychopharmacology* 146:391-399.

Gammie S. C., Garland Junior T., Stevenson S. A. 2006. *Artificial selection for increased maternal defense behavior in mice*. *Behavior Genetics* 36:713-722.

Grafmann J., Schwab K., Warden D., Pridgen B.S., Brown H.R. 1996. *Frontal lobe injuries, violence and aggression: a report of the Vietnam head injury study*. *Neurology* 46:1231-1238.

Grant E. C., Mackintosh A. 1963. *A comparison of the social postures of some common laboratory rodents*. *Behaviour* 21:260-281.

Gudelsky G. A., Koenig J. I., Meltzer H. Y. 1986. *Thermoregulatory responses to serotonin(5-HT) receptor stimulation in the rat: evidence for opposing roles of 5-HT<sub>2</sub> and 5-HT<sub>1A</sub> receptors*. *Neuropharmacology* 25(12):1307-1313.

Horn N. R., Dolan M., Elliot R., Deakin J. F. W., Woodruff P. W. R. 2003. *Response inhibition and impulsivity*. *Neuropsychologia* 41:1959-1966.

<http://www.cobea.org.br>

Ison M., Fachinelli C., Rodriguez Echandia E. L. 1996. *Effect of the i.c.v. injection of 5,7-dihydroxytryptamine on the aggressive behavior of dominant and submissive pigeons (Columba livia)*. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior* 53:951-955.

Kennett G. A., Dourish C. T., Curzon G. 1987. *Antidepressant-like action of 5-HT<sub>1A</sub> agonists and conventional antidepressants in an animal model of depression*. *European Journal of Pharmacology* 134(3):265-274.

- Kheramin S., Body S., Herrera F.M.; Bradshaw C.M., Szabadi E., Deakin J.F., Anderson I.M. 2005. *The effect of orbital prefrontal cortex lesions on performance on a progressive ratio schedule: implications for models of inter-temporal choice*. Behavioural Brain Research 156:145-152.
- Kolb B., Robbins T. 2003. *The rodent prefrontal cortex*. Behavioural Brain Research 145:1-2.
- Kravitz E. A., Huber R. 2003. *Aggression in invertebrates*. Current Opinion in Neurobiology 13:736-743.
- Lagerspetz K., Hautojarvi S. 1967. *The effect of prior aggressive or sexual arousal on subsequent aggressive or sexual reactions in male mice*. Scandinavian Journal of Psychology 8:1-6.
- Lemoine L., Verdurand M., Vacher B., Blanc E., Le Bras D., Newman-Tancredi A., Zimmer L. 2010. *[18F]F15599, a novel 5-HT<sub>1A</sub> receptor agonist, as a radioligand for PET neuroimaging*. European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging 37:594-605.
- Linnoila M., Virkkunen M., Scheinin M., Nuutila A., Rimon R., Goodwin F.K. 1983. *Low cerebrospinal fluid 5-hydroxyindoleacetic acid concentration differentiates impulsive from nonimpulsive violent behavior*. Life Sciences 33:2609-2614.
- Lladó-Pelfort L., Assié M.B., Celada P., Newman-Tancredi A., Artigas F. 2008. *F15599, a post-synaptic cortical preferential 5-HT<sub>1A</sub> agonist: III) Electrophysiology and microdialysis*. European Neuropsychopharmacology 18(4):S246.
- Lonstein J. S., Gammie S. C. 2002. *Sensory, hormonal and neural control of maternal aggression in laboratory rodents*. Neuroscience & Biobehavioral Reviews 26:869-888.
- Lucion A. B., de Almeida R. M. M. 1996. *On the dual nature of maternal aggression in rats*. Aggressive Behavior 22:365-373.



- Malick J. B. 1979. *The pharmacology of isolation-induced aggressive behavior in mice*. In: Essman W. E. (ed.). *Current developments in psychopharmacology*. SP Medical and Scientific Books, New York, 1-27.
- Maurel J. L., Autin J. M., Funes P., Newman-Tancredi A., Colpeart F., Vacher B. 2007. *High-efficacy 5-HT<sub>1A</sub> agonists for antidepressant treatment: a renewed opportunity*. *Journal of Medicinal Chemistry* 50:5024-5033.
- McAlonan K., Brown V. J., 2003. *Orbital prefrontal cortex mediates reversal learning and not attentional set shifting in the rat*. *Behavioural Brain Research* 146:97-103.
- McKenzie-Quirk S. D., Girasa K. A., Allan A. M., Miczek K. A. 2005. *5-HT<sub>3</sub> receptors, alcohol and aggressive behavior in mice*. *Behavioural Pharmacology* 16:163-170.
- Miczek K.A., O'Donnell J.M. 1978. *Intruder-evoked aggression in isolated and nonisolated mice: effects of psychomotor stimulants and L-dopa*. *Psychopharmacology* 57:47-55.
- Miczek K.A. 2001. *Research on animal aggression: emerging successes for understanding determinants of human violence*. In: Carrol M.E, Overmier, J.B (eds) *Animal research and human health: advancing human welfare through behavioral science*. American Psychological Association, Washington, D. C.
- Miczek K. A., de Almeida R. M. M. 2001. *Oral drug self-administration in the home cage of mice: alcohol-heightened aggression and inhibition by the 5-HT<sub>1B</sub> agonist anpirtoline*. *Psychopharmacology* 157:421-429.
- Miczek K. A., Fish E. W., De Bold, J. F., de Almeida R. M. M. 2002. *Social and neural determinants of aggressive behavior: pharmacotherapeutic targets at serotonin, dopamine and gamma-aminobutyric acid systems*. *Psychopharmacology* 163:434-458.

- Miczek K. A., Faccidomo S., de Almeida R. M. M., Bannai M., Fish E. W., De Bold J. F. 2004. *Escalated aggressive behavior: new pharmacotherapeutic approaches and opportunities*. Annals of the New York Academy of Sciences 1036:336-355.
- Monti J. M., Jantos H. 1992. *Dose-dependent effects of the 5-HT<sub>1A</sub> receptor agonist 8-OH-DPAT on sleep and wakefulness in the rat*. Journal of Sleep Research 1(3):169-175.
- Morgan M. A., Schulkin J., LeDoux J. E. 2003. *Ventral medial prefrontal cortex and emotional preservation: the memory for prior extinction training*. Behavioural Brain Research 146:121-130.
- Mos J., Olivier B., Poth M., Aken H. 1992. *The effects of intraventricular administration of eltoprazine, 1-(3-trifluoromethylphenyl), piperazine, hydrochloride and 8-OH-DPAT on resident-intruder aggression in the rat*. European Journal of Pharmacology 212:295-298.
- Mos J., Olivier B., Poth M., Van Oorschot R., Van Aken H. 1993. *The effects of dorsal raphe administration of eltoprazine, TFMP and 8-OH-DPAT on resident aggression in the rat*. European Journal of Pharmacology 238:411-415.
- Nelson, R. J. 2006. *Biology of aggression*. Oxford University Press. Oxford. 512p.
- Newman-Tancredi A., Assié M.B., Cosi C., Bruins Slot L., Cussac D., Martel J.C. 2006a. *F15599, a highly selective serotonin 5-HT<sub>1A</sub> receptor agonist: in vitro affinity and efficacy profile at native rat and recombinant human 5-HT<sub>1A</sub> receptors*. European Neuropsychopharmacology 16(4):S232-S233.
- Newman-Tancredi A., Martel J.C., Buritova J., Lauressergues E., Assié M.B., Bruins Slot L., Cosi C., Heusler P., Cussac D. 2006b. *F15599, a post-synaptic cortical preferential 5-HT<sub>1A</sub> agonist: I) functionally-selective signal transduction profile*. European Neuropsychopharmacology 18(4):S353.

- Newman-Tancredi A., Martel J. C., Assié M. B., Buritova J., Laressergues E., Cosi C., Heusler P., Brunis Slot L., Colpaert F. C., Vacher B., Cussac D. 2009. *Signal transduction and functional selectivity of F15599, a preferential post-synaptic 5-HT<sub>1A</sub> receptor agonist*. British Journal of Pharmacology 156:338-353.
- Olivier B., Mos J., Van Oorschot R., Hen R. 1995. *Serotonin receptors and animal models of aggressive behavior*. Pharmacopsychiatry 28:80-90.
- Olivier B. 2004. *Serotonin and aggression*. Annals of the New York Academy of Sciences 1036:382-392.
- Olivier B., Oorschot R. V. 2005. *5-HT<sub>1B</sub> receptors and aggression: a review*. European Journal of Pharmacology 526:207-217.
- Orgen S. O., Eriksson T. M., Elvander-Tottie E., D'Addario C., Ekström J. C., Svenningsson P., Meister B., Kehr J., Stiedl O. 2008. *The role of 5-HT<sub>1A</sub> receptors in learning and memory*. Behavioural Brain Research 195(1):54-77.
- Overli O., Harris C. A., Winberg S. 1999. *Short-term effects of fights for social dominance and the establishment of dominant-subordinate relationships on brain monoamines and cortisol in rainbow trout*. Brain, Behavior and Evolution 54:263-275.
- Palanza P., Della Seta D., Ferrari P. F., Parmigiani S. 2005. *Female competition in wild house mice depends upon timing of female/male settlement and kinship between females*. Animal Behaviour 69:1259-1271.
- Parks C. L., Robinson P. S., Sibille E., Shenk T., Toth M. 1998. *Increased anxiety of mice lacking of serotonin 1A receptor*. Proceedings of the National Academy of Sciences - U S A. 195 (18):10734-10739.
- Paxinos G., Franklin K. B. J. 2001. *The mouse brain in stereotaxic coordinates*. 2<sup>nd</sup> ed. Academic Press, New York. CD-Rom.

- Popova N. K. 2000. *Genetic knockout – the first steps and perspectives for the neurophysiology of behavior*. Usp. Fiziol. Nauk. 31(2):3-13.
- Popova N. K., Amstislavskaya T. G. 2002. *Involvement of the 5-HT<sub>1A</sub> and 5-HT<sub>1B</sub> serotonergic receptor subtypes in sexual arousal in male mice*. Psychoneuroendocrinology 27(5):609-618.
- Popova N. K. 2004. *Genetic knockout mice of MAO A: neurotransmitter metabolism in brain structures and behavior*. Ross Fiziol. Zh. Im I. M. Sechenova 90(8):342-348.
- Popova N. K., Gilinskii M. A., Amstislavskaya T. G., Morozova E. A. 2004. *Effects of genetic knockout of monoamine oxidase A on catecholamines and serotonin in brain structures in mice*. Neurokhimiya 21/1:34-38.
- Popova, N. K. 2006. *From genes to aggressive behavior: the role of serotonergic system*. Wiley Periodicals. BioEssays 28:495-503.
- Popova N. K. 2008. *From gene to aggressive behavior: the role of brain serotonin*. Neuroscience and Behavioral Physiology 38/5:471-475.
- Plutchik R. Van Praag H. 1989. *The measurement of suicidality, aggressivity and impulsivity*. Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry 13(1):23-34.
- Plutchik R., Van Praag H. 1995. *The nature of impulsivity: definitions, ontology, genetics and relations to aggression*. In: Hollander E., Stein D. (eds) *Impulsivity and aggression*. Oxford, England 7-24. 372p.
- Potegal M., Tenbrink L., *Behavior of attack-primed and attack-satiated female golden hamsters (Mesocricetus auratus)*. Journal of Comparative Psychology 98:65-75.
- Potegal M. *Attack priming and satiation in female golden hamsters: tests of some alternatives to the aggression arousal interpretation*. Aggressive Behavior 17:327-335.

- Raid M., Garcia S., Watkins K. C., Jodoin N., Doucet E., Langlois X., el Mestikawy S., Hamon M., Descarries L. 2000. *Somatodendritic localization of 5-HT<sub>1A</sub> and preterminal axonal localization of 5-HT<sub>1B</sub> serotonin receptors in adult rat brain*. Journal of Comparative Neurology 417:181-194.
- Raine A., Buchsbaum M. S., Stanley J., Lottenberg S., Abel L., Stoddard J. *Selective reductions in prefrontal glucose metabolism in murderers*. 1994. Biological Psychiatry 36:365-373.
- Ricci L. A., Grimes J. M., Melloni H. R. Jr. 2004. *Serotonin type 3 receptors modulate the aggression stimulating effects of adolescent cocaine exposure in Syrian hamsters (Mesocricetus auratus)*. Behavioural Neuroscience 118: 1097-1110.
- Salles, G. D. 1972. *Ultrasound and aggressive behavior in rats and other small mammals*. Animal Behaviour 20:88-100.
- Sandnabba N. K. 1996. *Selective breeding for isolation-induced intermale aggression in mice: associated responses and environmental influences*. Behavior Genetics 26:477-488.
- Sari Y. 2004. *Serotonin<sub>1B</sub> receptors: from protein to physiological function and behavior*. 2004. Neuroscience & Biobehavioral Reviews 28:565-582.
- Seguin J.R. 2004. *Neurocognitive elements of antisocial behavior: relevance of an orbitofrontal cortex account*. Brain and Cognition 55:185-197.
- Sevenster P. 1961. *A casual analysis of a displacement activity*. Behaviour (9):1-170.
- Sijbesma H., Schipper J., de Kloet E. R., van Aken H., Olivier B. 1991. *Postsynaptic 5-HT<sub>1</sub> receptors and offensive aggression in rats: a combined behavioural and autoradiographic study with eltoprazine*. Pharmacology, Biochemistry and Behavior 38:447-458.

- Sperry T. S., Thompson C. K., Wingfield J. C. 2003. *Effects of acute treatment with 8-OHODPAT and fluoxetine on aggressive behavior in male song sparrows (Melospiza melodia morphna)*. Journal of Neuroendocrinology 14:150-160.
- Spinella M. 2004. *Neurobehavioral correlates of impulsivity: evidence of prefrontal involvement*. International Journal of Neuroscience 114:95-104.
- Sprouse J. S., Aghajanian G. K. 1987. *Electrophysiological responses of serotonergic dorsal raphe neurons to 5-HT<sub>1A</sub> and 5-HT<sub>1B</sub> agonists*. Synapse 1:3-9.
- Stoff D. M., Vitiello B. 1996. *Role of serotonin in aggression of children and adolescents: biochemical and pharmacological studies*. In: Stoff D. M. (ed) *Aggression and Violence: genetic, neurobiological and biosocial perspectives*. Lawrence Erlbaum Associates, Mahwah, 101-123.
- Stowers L., Holy T. E., Meister M., Dulac C., Koentges G. 2002. *Loss of sex discrimination and male-male aggression in mice deficient for TRP2*. Science 295:1493-1500.
- Summers C. H., Korsan W. J., Lukkes J. L. Watt M. J., Forster G. L., Overli O., Hoglund E., Larson E. T., Ronan P. J., Matter J. M., Summers T. R., Renner K. J., Greenberg N. 2005. *Does serotonin influence aggression? Comparing regional activity before and during social interaction*. Physiological and Biochemical Zoology 78:679-694.
- Takahashi, A., Quadros, I. M., de Almeida, R. M. M., Miczek, K. A. 2011. *Brain serotonin receptors and transporters: initiation vs. termination of escalated aggression*. Psychopharmacology 213:183-212.
- Ten Eyck G. R. 2008. *Serotonin modulates vocalizations and territorial behavior in an amphibian*. Behavioral Brain Research, 193:144-147.
- Thompson T., Bloom W. 1966. *Aggressive behavior and extinction-induced response rate increase*. Psychonomic Science 5:335-336.

- Tuinier S., Verhoeven W. M., Van Praag H. M. 1995. *Cerebrospinal fluid 5-hydroxyindoleacetic acid and aggression: a critical reappraisal of the clinical data.* International Clinical Psychopharmacology 10:147-156.
- Van Erp A. N. M., Miczek K. A. 1997. *Increased aggression after ethanol self-administration in male resident mice.* Psychopharmacology 131:287-295.
- Van Iersel J. J. A., Bol A. C. 1958. *Preening of two tern species: a study on displacement activities.* Behaviour 13:1-88.
- Veenema A. H., Neumann I. D. 2007. *Neurobiological mechanisms of aggression and stress coping: a comparative study in mouse and rat selection lines.* Brain, Behavior and Evolution 70:274-285.
- Veiga C. P., Miczek K. A., Lucion A. B., de Almeida R. M. M. 2007. *Effect of 5-HT<sub>1B</sub> receptor agonists injected into the prefrontal cortex on maternal aggression in rats.* Brazilian Journal of Medical and Biological Research 40:825-830.
- Veiga C. P., Miczek K. A., Lucion A. B., de Almeida R. M. M. 2011. *Social instigation and aggression in postpartum female rats: role of 5-HT<sub>1A</sub> and 5-HT<sub>1B</sub> receptors in the dorsal raphe nucleus and prefrontal cortex.* Psychopharmacology 213:475-487.
- Virkkunen M., Kallio E., Rawlings R., Tokola R., Poland R.E., Guidotti A., Nemroff C., Bissette G., Kalogeras K., Karoben S.L., Linnoila M. 1994. *Personality profiles and state aggressiveness in Finnish alcoholic, violent offenders, fire setters and healthy volunteers.* Archives of General Psychiatry 51:28-33.
- Vitiello B., Stoff D. M. 1997. *Subtypes of aggression and their relevance to child psychiatry.* Journal of the American Academy of Child and Adolescent Psychiatry 36:307-315.
- Volavka, J. 1995. *Neurobiology of Violence.* American Psychiatric Press. Washington. 1 ed. 397p.

- Volavka J., Czobor P., Citrome L., McQuade R. D., Carson W. H., Kostic D., Hardy S., Marcus S. 2005. *Efficacy of aripiprazole against hostility in schizophrenia and schizoaffective disorder: data from 5 double-blind studies*. Journal of Clinical Psychiatry 66:1362-1366.
- Wall P. M., Messier C. 2002. *Infralimbic kappa opioid and muscarinic M1 receptor interactions in the concurrent modulation of anxiety and memory*. Psychopharmacology 160:233-244.
- Winslow J. T., Miczek K. A. 1984. *Habituation of aggressive behavior in mice: a parametric study*. Aggressive Behavior 10:103-113.
- Winstanley C. A., Theobald D. E., Dalley J. W., Robbins T. W. 2005. *Interactions between serotonin and dopamine in the control of impulsive choice in rats: therapeutic implications for impulse control disorders*. Neuropsychopharmacology. 30(4):669-682.
- World Health Organization (WHO). 2008. *World Report on Violence and Health*. Geneva.
- Yasuno F., Suhara T., Nakayama T., Ichimiya T., Okubo Y., Takano A., Ando T., Inoue M., Maeda J., Suzuki K. 2003. *Inhibitory effect of hippocampal 5-HT<sub>1A</sub> receptors in human explicit memory*. American Journal of Psychiatry 160 (2):234-240.
- Yen C. Y., Stanger R. L., Millman N. 1959. *Ataratic suppression of isolation-induced aggressive behavior*. Arch. Int. Pharmacodyn Thér. 123:179-185.