

## 8

### Experimento 2

**Efeito de Lesões Eletrolíticas no Córtex Cingulado Anterior Rostral sobre o Comportamento Defensivo eliciado pela Estimulação Elétrica da Matéria Cinzenta Periaquedutal Dorsal.**

#### 8.1

##### Sujeitos

Os sujeitos foram 26 machos *wistar* entre 200 e 340g. Os animais foram colocados em grupos de cinco a sete indivíduos em gaiola viveiro (18 x 31 x 38 cm<sup>3</sup>) com acesso a água e comida *ad libitum*. A temperatura da sala era controlada ( $24 \pm 1^\circ\text{C}$ ), com ciclo de claro e escuro de 12h/12h (07:00-19:00h). O experimento foi conduzido durante a fase clara do ciclo. Os procedimentos experimentais foram desenvolvidos de acordo com a sociedade brasileira de neurociência e comportamento, que se baseia no United States National Institutes of Health Guide for the Care and Use of Laboratory Animals (revisado em 1996).

#### 8.2

##### Cirurgia

O procedimento cirúrgico no experimento 2 foi conduzido da mesma maneira que o experimento 1.

#### 8.3

##### Material

O experimento 2 foi conduzido na mesma caixa experimental (25 x 20 x 20 cm<sup>3</sup>) do experimento 1.

#### 8.4

##### Procedimento

Sete dias após a cirurgia, os dois grupos de animais (lesados e não lesados) foram colocados na caixa experimental, já tendo passado por 3 dias de manipulação (3 minutos cada animal) seguidos. Cinco minutos depois, os limiares de congelamento e fuga foram determinados através de um estimulador elétrico (insight equipamentos, Brasil), a corrente elétrica foi conduzida através de um fio ligado a uma peça de eletrodo móvel (PlasticsOne Inc) conectada a uma cânula guia e direcionada a MCPD. A estimulação cerebral (AC, 60Hz, 15s) foi apresentada em intervalos de 1 min com intensidade da corrente iniciando a partir de 10 $\mu$ A e aumentando 5 $\mu$ A a cada nova tentativa. O limiar de congelamento foi operacionalmente definido como a menor intensidade de corrente a produzir não observância de movimento com exceção da respiração, acompanhada de pelo menos duas respostas autonômicas: defecação, piloereção, exoftalmia e micção. A intensidade da corrente que produzisse comportamentos de corrida e pulos foi considerada o limiar de fuga. A estimulação elétrica da MCPD era interrompida quando o limiar para o comportamento de fuga era atingido. Para investigar o comportamento de congelamento que se iniciava após o término da estimulação elétrica da MCPD para o limiar de fuga, os animais permaneciam na caixa experimental por mais 12 min sem qualquer estimulação. Durante este período, o comportamento de congelamento era avaliado a cada 2s por um observador treinado.

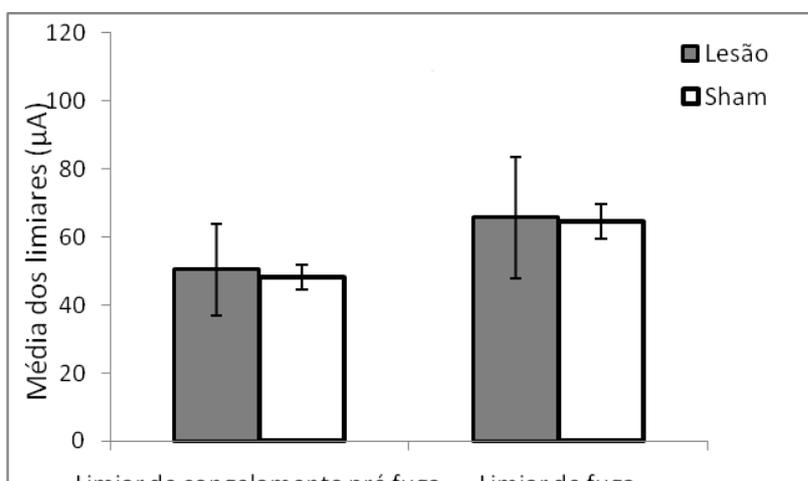
## 8.5

### Resultados

Uma primeira ANOVA de duas vias de medidas repetidas foi utilizada para avaliar as diferenças nos limiares aversivos (congelamento e fuga) dos animais lesados e não lesados. Uma segunda ANOVA de duas vias de medidas repetidas foi utilizada para avaliar as diferenças no CPF entre os animais lesados, não lesados e os 12 minutos de análise a que os mesmos foram submetidos. Para os dados significativos da segunda ANOVA foi utilizado o teste de Newman Keuls como *post hoc*. Valores de  $p < 0.05$  foram considerados estatisticamente significativos. Análises histológicas das partes cerebrais indicaram que todas as pontas dos eletrodos estavam localizadas dentro da MCPD. O grupo utilizado no

trabalho final ficou estabelecido desta forma: Lesados,  $n = 13$ ; Não lesados,  $n = 13$ .

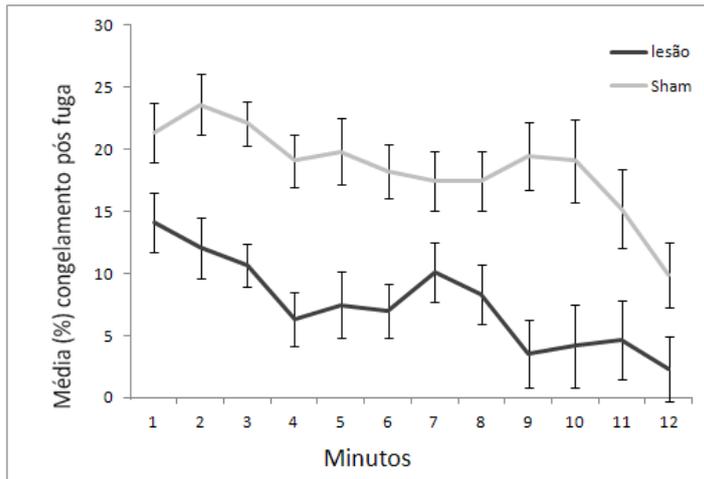
A figura 11. mostra a média ( $\pm SEM$ ) do limiar de corrente elétrica necessária para acionar os comportamentos de congelamento e fuga em animais lesados e não lesados. A primeira ANOVA de duas vias de medidas repetidas revelou um efeito principal para os limiares aversivos ( $F[1,24] = 88.70$ ,  $p < 0.01$ ), mas não para os grupos lesados e não lesados ( $F[1,24] = 0.12$ ,  $p = 0.74$ ). Nenhuma interação entre limiares aversivos e os grupos foi encontrada ( $F[1,24] = 0.03$ ,  $p > 0.8$ ).



**Figura 11.** Média ( $\pm SEM$ ) dos limiares de congelamento e fuga determinados através do procedimento de estimulação elétrica da MCPD nos animais lesados e não lesados no CCAr.

A figura 12. mostra a média ( $\pm SEM$ ) de porcentagem de tempo que os animais lesados e não lesados tiveram de CPF após o término da estimulação elétrica na MCPD. A segunda ANOVA de duas vias de medidas repetidas mostrou efeito significativo para os grupos lesados e não lesados ( $F[1,24] = 30.95$ ,  $p < 0.001$ ), efeito de tempo ( $F[1,24] = 15.73$ ,  $p < 0.001$ ) e não houve interação entre os grupos e tempo no CPF durante os 12 minutos ( $F[1,24] = 0.93$ ,  $p = 0.51$ ) de análise.

A análise *post hoc* indicou que os animais lesados mostraram uma frequência menor de CPF comparado com os animais não lesados durante os 12 minutos de análise ( $p < 0.05$ ) menos nos minutos 1 ( $p = 0.22$ ), 7 ( $p = 0.31$ ) e 12 ( $p = 0.12$ ).



**Figura 12.** Média ( $\pm$  SEM) dos limiares de congelamento dos animais lesados e não lesados no CCAr durante o período de 12 minutos após a interrupção da estimulação elétrica aplicada na MCPD para eliciação do comportamento de fuga.