



Universidade do Estado do Rio de Janeiro
Centro Biomédico
Faculdade de Ciências Médicas

Jefferson Pires Galvanho da Costa

A participação dos receptores D2 e 5-HT2 e a influência do ambiente sobre a resposta locomotora induzida por cetamina

Rio de Janeiro

2016

Jefferson Pires Galvanho da Costa

**A participação dos receptores D2 e 5-HT2 e a influência do ambiente sobre a
resposta locomotora induzida por cetamina**

Tese apresentada como requisito parcial para a
obtenção do título de Doutor ao Programa de
Pós-graduação em Fisiopatologia Clínica e
Experimental da Universidade do Estado do
Rio de Janeiro.

Orientadora: Prof^a Dra. Yael de Abreu Villaça

Rio de Janeiro

2016

CATALOGAÇÃO NA FONTE
UERJ/REDE SIRIUS/BIBLIOTECA CB-A

G182 Galvanho, Jefferson Pires.

A participação dos receptores D2 e 5-HT2 e a influência do ambiente sobre a resposta locomotora induzida por cetamina. / Jefferson Pires Galvanho. - 2016.

107 f.

Orientadora: Yael de Abreu Villaça.

Tese (Doutorado) – Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Faculdade de Ciências Médicas. Pós-graduação em Fisiopatologia Clínica e Experimental.

1. Cetamina- Teses. 2. Racioprida. 3. Receptores 5-HT2 de Serotonina
4. Atividade motora. I. Villaça, Yael de Abreu. II. Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Faculdade de Ciências Médicas. III. Título.

CDU 616.72-002

Autorizo apenas para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta tese desde que citada a fonte.

Assinatura

Data

Jefferson Pires Galvanho da Costa

A participação dos receptores D2 e 5-HT2 e a influência do ambiente sobre a resposta locomotora induzida por cetamina

Tese apresentada como requisito parcial para a obtenção do título de Doutor ao Programa de Pós-graduação em Fisiopatologia Clínica e Experimental da Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

Aprovada em 29 de fevereiro de 2016.

Banca Examinadora:

Prof.^a Dra. Yael de Abreu Villaça (Orientadora)
Faculdade de Ciências Médicas – UERJ

Prof.^a Dra. Marinete Pinheiro Carrera
Univeridade do Norte Fluminense Darcy Ribeiro

Prof. Dr. Pablo Pandolfo
Universidade Federal Fluminense

Prof.^a Dra. Penha Cristina Barradas Daltro Santos
Faculdade de Ciências Médicas - UERJ

Prof. Dr. Anderson Ribeiro Carvalho
Faculdade de Formação de Professores – UERJ

Rio de Janeiro

2016

DEDICATÓRIA

Dedico esta tese a minha mãe, que durante todo o tempo que estamos vivos nessa Terra nunca perdeu seu senso maternal e soube contemplar tudo aquilo que a palavra mãe significa.

AGRADECIMENTOS

A Olodumare, por ter criado a mim e a tudo que existe. A baba Ajalá por ter feito a minha cabeça a cabeça de todo o ser humano, o que nos possibilitou o desenvolvimento científico e tecnológico. A Ori (cabeça) por existir com toda sua particularidade em minha cabeça, preservando-a e mantendo minha personalidade. E finalmente ao meu pai Logunedé e meu pai Ogum, com os quais tive o privilégio de ter em dobro na vida espiritual o que pouco tive na carnal, e a minha mãe Inhaçã (Oya).

A minha orientadora, Professora Doutora Yael de Abreu Vilaça, por ter acreditado no meu trabalho desde o início e ter me dado todo o apoio e suporte para trabalharmos com uma nova linha de pesquisa no laboratório de Neurofisiologia da UERJ.

Aos professores Doutores Claudio Carneiro Filgueiras, Alex Christian Manhães, Anderson Ribeiro Carvalho e Thomas Eichenberg Krahe, que colaboraram para a realização desta tese.

Às alunas de pós-doutorado Gabriela Skinner e Fernanda Nunes, a aluna de doutorado Ana Cristina Chagas Carvalho da Silva e a aluna de iniciação científica Joyce de Melo Silva, por terem participado diretamente nos experimentos desta tese.

Ao nosso bioterista Ulisses R. Siqueira, que cuida exemplarmente dos nossos animais.

Aos técnicos administrativos Marlene Vieira, Andréa Velasco, Gloria Bermudez e Henrique Rosental Zalmon, que ao longo de todo o meu doutorado tanto me ajudaram em questões administrativas quanto me apoiaram amigavelmente no que podiam.

Ao curso de Pós-graduação em Fisiopatologia Clínica e Experimental pela oportunidade de realizar o curso de doutorado.

Ao professor de espanhol e atual amigo Fernando Legón Galindo, que por acreditar na educação e na sua importância me deu aulas particulares alguns meses antes de ir a Espanha para a realização de um estágio no exterior.

À FAPERJ por ter financiado minhas bolsas de doutorado pleno no Brasil e à CAPES por financiar minha estadia no estágio de doutorado sanduíche no exterior.

A professora Marinete Pinheiro Carrera pelos bons conselhos pessoais e acadêmicos.

À amiga Carla Soares De Lima Prieto por ter me recebido no laboratório de Neurofisiologia, me integrado à equipe e ter me apoiado.

Ao escritor e historiador José Beniste por atenciosamente ter fornecido-me uma de suas frases no idioma yorubá para a epígrafe desta tese, juntamente com a respectiva tradução para o português.

Aos amigos Mabel Carneiro Fraga e Sylvio Cláudio Neto por terem me ajudado em momentos de adaptação em um novo ambiente de trabalho.

Aos amigos, Felipe Alves Rodrigues, Fabiano Gomes Caetano e Joelson Fernandes de Paula por terem me ajudado em quanto amigos e indiretamente também para a realização deste trabalho.

Aos amigos de Barcelona, Leonardo Gandolfo Junior, Miquel Àngel S. Beltràn, Elk Kossatz, Eva Correia de Moraes e Sueli Mendonça Netto, que me deram incentivo e apoio em momentos difíceis.

A todos os companheiros do laboratório de Neurofisiologia que de alguma forma colaboraram também com a realização deste trabalho.

Má fi ogolóro fún láyò torí ayò kọ ni léérí.

Não use drogas para ser feliz, porque a felicidade não é uma droga.

José Beniste

RESUMO

GALVANHO, Jefferson Pires. **A participação dos receptores D2 e 5-HT2 e a influência do ambiente sobre a resposta locomotora induzida por cetamina.** 2016. 107 f. Tese (Doutorado em Fisiopatologia Clínica e Experimental) – Faculdade de Ciências Médicas, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2016.

O antagonista não competitivo de receptores NMDA, cetamina, teve seu uso restrito na medicina humana devido aos seus efeitos secundários, atribuídos a doses subanestésicas. Atualmente além dessa droga ser utilizada como modelo experimental da esquizofrenia, também é usada de forma recreativa. Visto a contribuição da sensibilização comportamental ao estudo de efeitos antipsicóticos e da drogadição, o presente trabalho objetivou: no experimento 1 (exp1) avaliar o desenvolvimento e a expressão da sensibilização comportamental induzida por doses subanestésicas (30 e 50 mg/kg) de cetamina; nos experimentos 2 e 3 (exp2 e exp3), respectivamente, investigar o papel dos antagonistas D2, racloprida, e 5-HT2, cetanserina; e, por último, no experimento 4 (exp4) avaliar a habilidade da cetamina em produzir resposta locomotora tanto condicionada quanto contextualmente sensibilizada. Para isso, camundongos suíços adultos foram submetidos a 3 dias consecutivos de habituações no campo aberto por 60 (exp1) ou 20 (exp2-3-4) minutos. Após a fase de habituação, cada experimento seguiu seus procedimentos específicos. No exp1, 7 dias consecutivos de exposição a 30 ou 50 mg/kg de cetamina mostraram que a dose de 30 mg/kg desenvolveu uma resposta locomotora sensibilizada e após 5 dias de retirada essa mesma dose expressou também uma resposta locomotora sensibilizada. Devido ao sucesso dessa dose e a não diferença entre os sexos, adotou-se utilizar animais machos e a dose de 30 mg/kg nos demais experimentos. No exp2, o tratamento por 7 dias consecutivos de cetamina antecedida por racloprida mostrou que o bloqueio de D2 preveniu tanto o desenvolvimento quanto a expressão da sensibilização comportamental produzida por cetamina, mesmo a racloprida *per se* não diminuindo a locomoção. Consistentemente, o exp3 mostrou prevenção de ambas as respostas quando a cetamina foi precedida pelo antagonista 5-HT2, cetanserina. Por fim, o exp4, com o esquema de 7 repetições diárias de injeções não associadas e associadas ao ambiente teste, mostrou que a cetamina administrada de forma associada produziu locomoção condicionada mediante ao desafio de salina após dois dias de retirada. Além disso, foi mostrado que a cetamina administrada de forma associada produziu sensibilização dependente do contexto ambiental. Em suma, a cetamina na dose de 30 mg/kg desenvolveu e expressou uma resposta locomotora sensibilizada, a qual foi prevenida tanto pelo antagonismo de D2 quanto pelo de 5-HT2. Curiosamente a mesma dose interagiu com fatores ambientais, resultando numa locomoção condicionada e numa sensibilização dependente do contexto. Portanto, o presente trabalho sugere um papel fundamental tanto dos receptores D2 e 5-HT2 quanto do contexto ambiental na evocação da sensibilização comportamental produzida por cetamina.

Palavras-chave: Cetamina. Sensibilização comportamental. Receptor dopaminérgico D2. Racloprida. Receptor serotoninérgico 5-HT2. Cetanserina. Locomoção condicionada. Sensibilização comportamental dependente do contexto.

ABSTRACT

GALVANHO, Jefferson Pires. **Role of D2 and 5-HT2 receptors and the environmental influence on the locomotor response to ketamine**. 2016. 107 f. Tese (Doutorado em Fisiopatologia Clínica e Experimental) – Faculdade de Ciências Médicas, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2016.

Ketamine, a non-competitive NMDA receptor antagonist had its use restricted in human medicine because of its side effects attributed to subanesthetic doses. Currently, this drug is used as an experimental model of schizophrenia and also recreationally. Considering the contribution of behavioral sensitization to the study of antipsychotic effects and drug addiction, the present study was subdivided into 4 experiments. Experiment 1 (exp1) aimed to evaluate the development and expression of behavioral sensitization induced by subanesthetic doses (30 and 50 mg/kg) of ketamine. In experiments 2 and 3 (exp2 and exp3), the objectives were to investigate the role of the D2 and the 5-HT2 antagonists, raclopride and ketanserin, respectively. Finally, experiment 4 (exp4) aimed to evaluate the ability of ketamine to produce both conditioned and contextually sensitized locomotor responses. Initially, adult Swiss mice were submitted to 3 consecutive days of habituation in the open field for 60 (exp1) or 20 (exp2-3-4) minutes each day. After the habituation phase, each experiment followed its specific procedures. As for exp 1, seven consecutive days of exposure to 30 or 50 mg/kg ketamine demonstrated that 30 mg/kg produced the development of a sensitized locomotor response and, after 5 days of withdrawal, this same dose expressed a sensitized locomotor response. Based on these effects and on the lack of differences between males and females, for the next set of experiments we selected 30 mg/kg of ketamine to be administered in males. In exp2, 7 consecutive days of ketamine preceded by raclopride exposure indicated that the D2 blockade prevented both the development and expression of ketamine-induced behavioral sensitization, even in the absence of raclopride locomotor effects. Consistently, exp3 showed that the prevention of both responses occurred when ketamine was preceded by the 5-HT2 antagonist, ketanserin. Finally, in exp 4, the experimental protocol that included 7 consecutive days of injections unpaired and paired to the test environment demonstrated that ketamine paired to the open field produced a conditioned locomotor response following a challenge with saline, even after 2 days of ketamine withdrawal. In addition, it was shown that ketamine, when paired to the open field produced context-dependent behavioral sensitization. In summary, 30 mg/kg of ketamine developed and expressed a sensitized locomotor response, which was inhibited both by D2 and 5-HT2 antagonism. Interestingly the same dose interacted with environmental factors, resulting in a conditioned locomotor response and a context-dependent sensitization. Therefore, this study suggests a key role of both D2 and 5-HT2 receptors and the environmental context in the ketamine-induced behavioral sensitization

Keywords: Ketamine. Behavioral sensitization. D2 dopamine receptor. Raclopride. 5-HT2 serotonin receptor. Ketanserin. Conditioned locomotion. Context-dependent behavioral sensitization.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 –	Curva de efeitos anestésicos da cetamina nas doses de 30, 50, 100 e 150.....	18
Figura 2 –	Linha temporal do experimento 1.....	40
Figura 3 –	Efeitos das administrações de cetamina (i.p.) sobre a atividade locomotora no campo aberto.....	42
Figura 4 –	Efeitos das administrações de cetamina (i.p.) sobre o comportamento de levantamento no campo aberto.....	44
Figura 5 –	Efeitos das administrações de cetamina (i.p.) sobre o tempo de autolimpeza no campo aberto.....	46
Figura 6 –	Efeitos das administrações de cetamina (i.p.) sobre os eventos de autolimpeza no campo aberto.....	46
Figura 7 –	Efeitos das administrações de cetamina (i.p.) sobre a rotação no campo aberto.....	49
Figura 8 –	Efeitos das administrações de cetamina (i.p.) sobre a queda no campo aberto.....	50
Figura 9 –	Linha temporal do experimento 2.....	60
Figura 10 –	Linha temporal do experimento 3.....	61
Figura 11 –	Efeitos das administrações de cetamina antecedidas por administrações de racloprida sobre a atividade locomotora no campo aberto.....	64
Figura 12 –	Efeitos do desafio de cetamina, em animais coadministrados com racloprida e cetamina na fase de indução, sobre a atividade locomotora no campo aberto.....	66
Figura 13 –	Efeitos das administrações de cetamina antecedida por administrações de cetanserina ou veículo sobre a atividade locomotora no campo aberto.....	69
Figura 14 –	Efeitos do desafio de cetamina, em animais coadministrados com cetanserina e cetamina na fase de indução, sobre a atividade locomotora no campo aberto.....	71

Figura 15 –	Linha temporal do experimento 4.....	78
Figura 16 –	Efeitos das administrações de cetamina de forma associada ou não associada ao ambiente sobre a atividade locomotora no campo aberto.....	80
Figura 17 –	Efeitos do desafio de salina em animais que receberam cetamina de forma associada ou não associada ao ambiente na fase de indução, sobre a atividade locomotora no campo aberto.....	81
Figura 18 –	Efeitos do desafio de cetamina em animais que receberam cetamina de forma associada ou não associada ao ambiente na fase de indução, sobre a atividade locomotora no campo aberto.....	83

SUMÁRIO

	INTRODUÇÃO.....	13
1	OBJETIVOS	34
1.1	Objetivo geral	34
1.2	Objetivos específicos	34
2	MATERIAL E MÉTODOS	35
2.1	Sujeitos.....	35
2.2	Ambiente experimental.....	35
2.3	Drogas.....	36
2.4	Procedimentos.....	36
2.5	Quantificação comportamental.....	37
2.6	Análise estatística.....	38
3	EXPERIMENTO 1: O DESENVOLVIMENTO E A EXPRESSÃO DA SENSIBILIZAÇÃO COMPORTAMENTAL INDUZIDA PELA CETAMINA NAS DOSES DE 30 E 50 MG/KG.....	39
3.1	Procedimento específico.....	39
3.2	Resultados.....	41
3.2.1	<u>Atividade locomotora (figura 3)</u>	41
3.2.2	<u>Levantamento (figura 4)</u>	43
3.2.3	<u>Autolimpeza (figuras 5 e 6)</u>	44
3.2.4	<u>Rotação (figura 7)</u>	48
3.2.5	<u>Queda (figura 8)</u>	49
3.3	Discussão.....	51
4	EXPERIMENTOS 2 E 3: A PARTICIPAÇÃO DOS SISTEMAS DOPAMINÉRGICO E SEROTONINÉRGICO SOBRE A RESPOSTA LOCOMOTORA DESENVOLVIDA E SENSIBILIZADA POR CETAMINA.....	59
4.1	Procedimento específico.....	59
4.2	Resultados do experimento 2: O papel do antagonista D2, racloprida, sobre o desenvolvimento e expressão da sensibilização comportamental induzida por cetamina.....	62

4.2.1	<u>Fase de indução (figura 11)</u>	62
4.2.2	<u>Teste de sensibilização (figura 12)</u>	64
4.3	Resultados do experimento 3: O papel do antagonista 5HT-2, cetanserina, sobre o desenvolvimento e expressão da sensibilização comportamental induzida por cetamina	67
4.3.1	<u>Fase de indução (figura 13)</u>	67
4.3.2	<u>Teste de sensibilização (figura 14)</u>	69
4.4	Discussão	72
5	EXPERIMENTO 4: OS EFEITOS DA CETAMINA SOBRE A RESPOSTA LOCOMOTORA CONDICIONADA E A SENSIBILIZAÇÃO COMPORTAMENTAL DEPENDENTE DO CONTEXTO	76
5.1	Procedimento específico	76
5.2	Resultados	78
5.2.1	<u>Fase de indução (figura 16)</u>	78
5.2.2	<u>Teste de condicionamento (figura 17)</u>	80
5.2.3	<u>Teste de sensibilização (figura 18)</u>	82
5.3	Discussão	83
6	DISCUSSÃO GERAL	88
	CONCLUSÕES	91
	REFERÊNCIAS	93

INTRODUÇÃO

Um breve histórico

A cetamina, 2-(2-clorofenil)-2-(metilamino)-ciclohexanona, foi sintetizada por Calvin Stevens no ano de 1962 (COHEN et al., 2011) e aprovada para o uso clínico em 1970 (ARONI et al., 2009). Desde essa aprovação até a década de 80, há relatos de que a cetamina foi largamente empregada na clínica em doses acima daquelas recomendadas hoje em dia para produzir anestesia, enquanto que na década de 90 seu emprego passou a ser limitado a casos emergenciais (GREEN; COTÉ, 2009). Pode-se dizer que a restrição da cetamina na prática anestésica tenha ocorrido devido a vários efeitos pós-anestésicos relatados, dentre eles se destacam a elevação do humor, a euforia, distorções visuais e auditivas, sensações eróticas, impressão de flutuar sobre o próprio corpo, entre outros (LUFT; MENDES, 2005). Interessantemente o intervalo entre o início da utilização terapêutica e do uso abusivo foi relativamente muito pequeno, sendo descrito que o uso recreativo da cetamina tenha tido início no ano de 1971 (SIEGEL, 1978).

A epidemiologia

Esta droga se popularizou em muitos lugares do mundo como "Special K", "Super K" ou simplesmente "K - key" (MASON et al., 2010) e em alguns lugares do Brasil é chamada de Keyla pelos seus usuários ("Keyla, K - QUE DROGA É ESSA?"). Além disso, pode ser constantemente encontrada em *raves* e outras festas noturnas de música eletrônica, juntamente com a cocaína, o 3,4-metilenodioximetanfetamina (MDMA - *ecstasy*), o gama-hidroxi-butirato (GHB), o flunitrazepam, a metanfetamina e o ácido lisérgico (LSD), os quais se enquadram num grupo conhecido como *club drugs* (MORO; FERRAZ; MÓDOLO, 2006). Sua

combinação com cocaína é conhecida por usuários e afins como Calvin Klein, devido à concordância com as iniciais C e K (CHAKRABORTY; NEOGI; BASU, 2011). Segundo relatos encontrados na internet (“Que Droga - Informações e esclarecimentos”), a mistura com cocaína parece ser muito forte, preferindo os usuários coadministrarem cetamina e ecstasy, justificando que enquanto o ecstasy agita o key desacelera (“Ecstasy”).

Com base nesse contexto, é notória a gradativa popularização da cetamina, o que a torna um expressivo elemento de preocupação para a saúde pública (DEGENHARDT; COPELAND; DILLON, 2005). Por exemplo, nos Estados Unidos 1,7% e 1,5% dos estudantes do 12º ano relataram ter usado a cetamina nos anos de 2011 e 2014, respectivamente (JOHNSTON et al., 2014). No Reino Unido o número de pessoas que se apresentaram para o tratamento da adição a cetamina aumentou nos últimos anos (2005/06 a 2012/13) e, conseqüentemente, em 2014 esta foi reclassificada de uma droga classe C a uma droga classe B, a qual inclui, entre outras, drogas como anfetaminas, cannabis e sintéticos canabinóides (HM GOVERNMENT, 2010; CORKERY, 2014). Na China, um estudo revelou que o número de usuários de cetamina ultrapassou os de MDMA (BAO et al., 2015).

Evidências também indicam que o uso dessa droga tem aumentado na França e Itália (EUROPEAN MONITORING CENTRE FOR DRUGS AND DRUG ADDICTION, 2015a, 2015b). A epidemiologia do abuso da cetamina ainda não é bem estabelecida, pois os estudos ocorrem de forma isolada nos países. Enquanto alguns estudos identificam baixa frequência de uso/abuso, outros estudos indicam o oposto. Assim, por exemplo em Hong Kong, ela é a segunda droga mais utilizada, perdendo apenas para heroína. Apesar das divergências, há de se convir que a prevalência do uso recreativo da cetamina aumentou admiravelmente nas últimas duas décadas (KALSI, 2011).

A farmacologia da cetamina e o receptor n-metil-d-aspartato (NMDA)

Principais dados farmacológicos

A farmacocinética da cetamina foi sugerida assemelhar-se a do tiopental, ou seja, tanto em humanos quanto em roedores ela apresenta uma biodisponibilidade relativamente curta, provavelmente devido a sua elevada lipossolubilidade, refletindo em uma rápida exibição dos seus efeitos (WHITE et al., 1976; LUFT; MENDES, 2005). O metabolismo da cetamina ocorre em células hepáticas através do sistema citocromo P450, gerando o metabólito norcetamina (NOPPERS et al., 2011), que por sua vez é excretado pelo rim (LUFT; MENDES, 2005). Devido a sua alta lipossolubilidade, a cetamina ultrapassa-a barreira hematoencefálica e interage com seus alvos no sistema nervoso central.

Nesse sentido é bem estabelecido na literatura que a cetamina é um clássico antagonista não competitivo de receptores glutamatérgicos do tipo N-metil-d-aspartato (NMDA) (DOMINO; CHODOFF; CORSSSEN, 1965; LAUTERBACH, 2011).

O receptor NMDA

O glutamato é um aminoácido proteico que atua como neurotransmissor tanto em invertebrados quanto em vertebrados (NISTRÍ; CONSTANTÍ, 1979). Evidências apontam que além de ser o mais abundante, também é o principal neurotransmissor excitatório em mamíferos (JOHNSON, 1972; FITSANAKIS; ASCHNER, 2005). Os efeitos glutamatérgicos, seja pela ação de um agonista endógeno ou exógeno, se dá normalmente através da interação com seus receptores, que são ácido alfa-amino-3-hidróxi-5-metil-4-isoxazol-propionato (AMPA), cainato, 2-amino-4-fosfonobutanóico (AP4), trans-1-amino-ciclopentano-1,3-dicarboxílico (ACPD) e n-metil-d-aspartato (NMDA). Um dos efeitos atribuídos a essa ativação está relacionado aos processos de aprendizagem e memória (MCENTEE; CROOK, 1993). Além disso, o glutamato desempenha um papel importante como principal neurotransmissor excitatório,

repositor de metabólitos intermediários do ciclo de Krebs e precursor do neurotransmissor GABA (JOHNSON, 1972).

O receptor N-metil-D-aspartato recebeu o mesmo nome do seu agonista exógeno, sendo comumente conhecido pela sigla, NMDA. Este receptor ionotrópico é um tetrâmero (GIELEN et al., 2009) constituído por um par de subunidades GluN1 e outro par de GluN2 ou GluN3 (KOTERMANSKI; JOHNSON, 2009), que também são conhecidas como NR1, NR2 e NR3, respectivamente (LEE; GOUAUX, 2011). As subunidades combinadas do receptor NMDA se dispõem através da membrana citoplasmática formando um canal iônico dependente de ligantes. A ligação concomitante do glutamato (agonista endógeno) com o seu co-agonista, glicina, é fundamental para uma plena ativação do receptor, o que resulta na permeabilidade de cátions monovalentes e principalmente de cálcio (PETRENKO et al., 2003).

Ainda que todo o canal iônico seja apresentado como o receptor NMDA, existem sequências de aminoácidos específicas que apresentam afinidade pelos ligantes, valendo ressaltar que diferentes ligantes poderão não se ligar ao mesmo sítio. Por exemplo, glicina se liga a um sítio localizado na subunidade GluN1, enquanto que o glutamato se liga a outro sítio localizado na subunidade GluN2 (KOTERMANSKI; JOHNSON, 2009). Embora a cetamina também interaja com a subunidade GluN2, seu sítio é distinto do glutamato e é chamado de sítio da fenciclidina (*PCP-site*), caracterizando seu bloqueio como não competitivo ao glutamato (WHITE; RYAN, 1996). Por se ligarem a sítios distintos do sítio de ligação do glutamato, a fenciclidina, a cetamina e o MK-801 são chamados de antagonistas não competitivos de receptores NMDA.

Relatos da literatura tem elucidado importantes propriedades do receptor NMDA através do seu bloqueio, utilizando fenciclidina ou cetamina. Assim, tem sido mostrado que o antagonismo do receptor NMDA via fenciclidina ou cetamina pode produzir desordens no pensamento, disfunção sensorial e também sintomas muito semelhantes aos da esquizofrenia (JAVITT, 2004). Além disso, alterações neuroplásticas no receptor NMDA estão relacionadas largamente ao uso compulsivo de drogas (TRUJILLO; AKIL, 1995). Nesse sentido também tem sido mostrado o envolvimento do NMDA no processo de dependência a outras drogas (TRUJILLO; AKIL, 1991). É possível afirmar que o estudo do receptor NMDA, poderá levar a valiosas descobertas para a compreensão, ou até mesmo tratamento, de transtornos neuropsiquiátricos e dependência a drogas.

Cetamina, comportamentos e seus testes em animais

Existem testes comportamentais em animais de laboratório que possibilitam comparações com a realidade humana. Alguns deles, por exemplo, específicos a transtornos neuropsiquiátricos e outros a dependência de drogas. Para ambos, existe uma convergência no que diz respeito aos comportamentos e substratos neuroanatômicos (SELF; NESTLER, 1998; KELLER; DELIUS; ACERBO, 2002; BECKER et al., 2003; FOLL; GOLDBERG, 2005; BIAŁA; BUDZYŃSKA, 2010; HUANG et al., 2015).

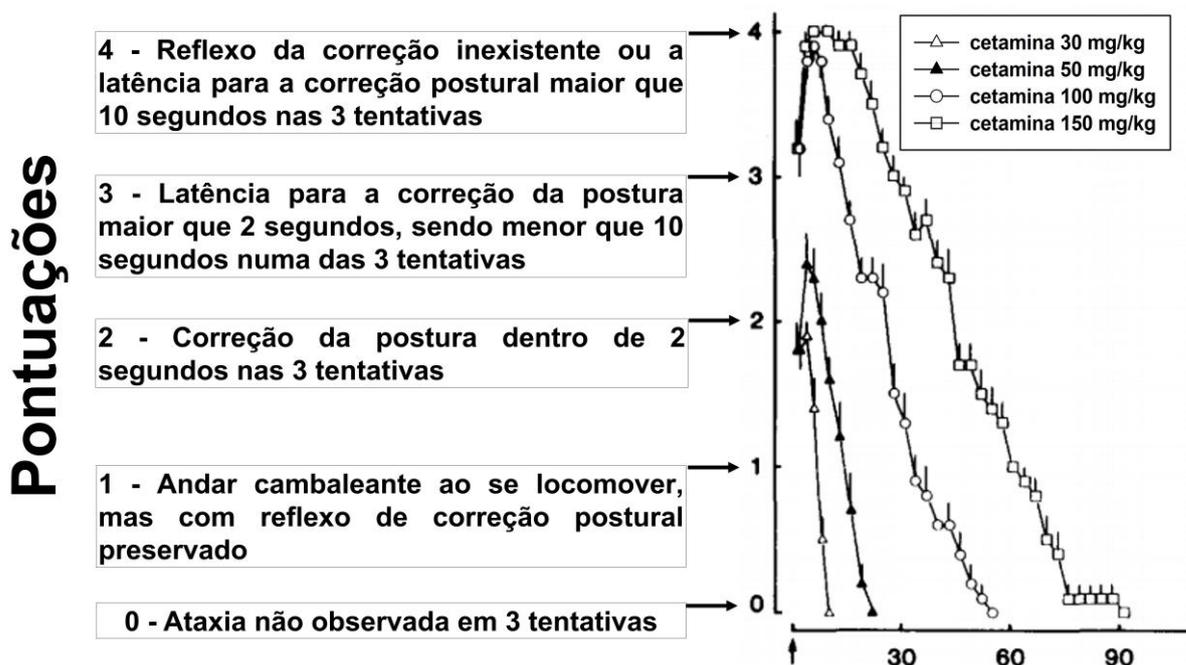
Dentre os testes para se avaliar os efeitos de drogas de abuso está, por exemplo, o teste de preferência condicionada ao local (PCL). Tal teste consiste em expor diária e repetidamente o animal a uma dada substância em um dos dois compartimentos do PCL, de modo que se o animal preferir permanecer no compartimento pelo qual experimentou esta substância, significa que ela produziu um reforço positivo, indicando um potencial aditivo (TZSCHENTKE, 2007). O inverso é visto por drogas que produzem um reforço negativo, ou seja, aquelas que produzem um estímulo negativo (TZSCHENTKE, 2007). Suzuki e colaboradores (2000) mostraram pela primeira vez que a cetamina sozinha foi capaz de produzir preferência condicionada ao local, o que permite sugerir seu potencial em produzir reforço positivo e dependência.

Desenvolvido pela primeira vez como um modelo animal de emocionalidade (HALL, 1938). O teste do campo aberto vem sendo utilizado como ferramenta para avaliação comportamental de várias drogas de abuso, entre elas a, nicotina, etanol, (ABREU-VILLAÇA et al., 2013), anfetamina (GOLD; SWERDLOW; KOOB, 1988; SUKHANOV et al., 2016), cocaína (BRODERICK et al., 2004; CAREY; DEPALMA; DAMIANOPOULOS, 2005), MDMA (BALL; BUDREAU; REBEC, 2006) e THC (DREW; MILLER; WIKLER, 1972; PANLILIO et al., 2006), por exemplo.

Assim como as drogas já mencionadas, a fenciclidina e a cetamina também são estudadas no campo aberto e comumente apresentam efeitos hiperlocomotores produzidos por doses subanestésicas (IRIFUNE; SHIMIZU; NOMOTO, 1991; IRIFUNE et al., 1998). Dentre as doses (3, 10, 20, 30, 50, 100, 150 mg/kg) utilizadas no trabalho de Irifune e colaboradores (1991), foram consideradas subanestésicas aquelas iguais e inferiores a 50 mg/kg. Tais autores mostram que a cetamina nas

doses de 30 e 50 mg/kg produziram leves alterações na correção de postura dos animais (dentro de 2 segundos), as quais só ocorreram nos primeiros minutos de teste (figura 1). Em contrapartida, essas mesmas doses foram capazes de produzir um robusto aumento da atividade locomotora de camundongos (IRIFUNE; SHIMIZU; NOMOTO, 1991). Outro estudo posterior também considerou a dose de 50 mg/kg de cetamina como subanestésica (UCHIHASHI et al., 1993).

Figura 1 – Curva de efeitos anestésicos da cetamina nas doses de 30, 50, 100 e 150



Legenda: Quadrados a esquerda descrevendo o que foi considerado para cada pontuação.

Nota: A partir da pontuação que cada animal recebeu, foi realizada a média para cada um dos grupos deste trabalho.

Fonte: Adaptada de IRIFUNE; SHIMIZU; NOMOTO, 1991.

O trabalho supracitado contribuiu na descrição de vários aspectos comportamentais produzidos pela cetamina. Além da avaliação dos efeitos anestésicos da cetamina, isso foi possível graças ao teste do campo aberto. Cabe mencionar que tal teste possibilita avaliar alterações comportamentais geradas não só pela cetamina, mas também por outras drogas de abuso, cujos efeitos vão além da atividade locomotora. Dentre outros comportamentos avaliados pode-se destacar o levantamento (*rearing*) e a autolimpeza (*grooming*) de roedores, os quais tem sido avaliados em resposta a administração de antagonistas NMDA, por exemplo (TRUJILLO; ZAMORA; WARMOTH, 2008).

A autolimpeza, evolutivamente falando, é um traço comportamental relativamente antigo, podendo ser constatado em diversas famílias de animais. Tal comportamento constituído pela limpeza das patas e restante do corpo pela lambertura e limpeza do rosto, pode variar em função do contexto no qual o animal está inserido. É sugerido que este comportamento tenha como função, além da limpeza, minimizar a irritabilidade do animal, termorregular, estabelecer sinalização social, aumentar ou diminuir a excitação e auto-estimular (SACHS, 1988). A autolimpeza tem sido relacionada a hiperatividade produzida por outros psicoestimulantes. Inclusive, já foi mostrada ser inversamente proporcional a locomoção (CAREY; DAMIANOPOULOS; SHANAHAN, 2008), o que sugere a existência de competição entre os comportamentos de autolimpeza e locomoção.

A competição comportamental também é vista entre a locomoção e o comportamento de levantamento, pois também é visto em alguns trabalhos como tendo seus eventos diminuídos em detrimento a uma exacerbada atividade locomotora (BLOISE; CAREY; CARRERA, 2007). Este comportamento também é chamado por alguns autores de ambulância vertical ou atividade locomotora vertical (ITZHAK; MARTIN, 1999). O levantamento, como o próprio nome sugere, é caracterizado pela conduta do animal erguer-se, desprendendo os membros anteriores ao ar ou à parede do ambiente (BLOISE; CAREY; CARRERA, 2007). No que tange o sistema glutamatérgico, Melendez e colaboradores (2004) mostraram que um ambiente “empobrecido” (que impediu a exibição do comportamento de levantamento) resultou na significativa redução da capacidade do agonista de receptores mGluR1 e mGluR5, 3,5-dihidroxifenilglicina (DHPG), em aumentar os níveis de glutamato extracelular. Além disso, Popik e colaboradores (2008) e Akillioglu e colaboradores (2012) mostraram que administrações de cetamina diminuíram a exibição dos eventos de levantamento. Portanto uma hipofuncionalidade glutamatérgica parece ser proporcional a exibição da atividade locomotora vertical.

Além dos comportamentos já mencionados, experimentos prévios do nosso laboratório levaram a observação de mais dois outros comportamentos especificamente em animais administrados com cetamina (dados não publicados de experimentos pilotos). O primeiro foi por nós chamado de rotação e se baseia na conduta estereotipada do animal em girar em torno do seu próprio eixo. O segundo

nomeamos como, simplesmente, queda, a qual se estabeleceu na perda da postura, caindo o animal lateralmente e em seguida retomando a sua postura normal.

As observações tomadas a partir destes experimentos prévios parecem ser consistentes com achados da literatura consultados *a posteriori*. Por exemplo, ainda que coadministrada com medetomidina, a cetamina foi mostrada por Gerritsmann e colaboradores (2012) causar o comportamento de queda em Lebres (*Lepus europaeus*). Nesse mesmo cenário um trabalho mais antigo mostrou que a cetamina (50 mg/kg) produziu ataxia com o animal caindo lateralmente (HETZLER; SWAIN WAUTLET, 1985). Hetzler e Wautlet (1985) também mostraram que o animal se movia balançando a cabeça e o corpo e girava em torno de si, caracterizando o comportamento de rotação. Concordando com o trabalho supra citado no que diz respeito ao comportamento rotatório, Myslobodsky e colaboradores (1979) sugeriram que os mecanismos relacionados a rotação induzida por cetamina eram dopaminérgicos, o que é consistente com estudos anteriores que associam o sistema dopaminérgico e rotação (KOKKINIDIS; ANISMAN, 1977, 1979).

Em suma é notório o destaque que a atividade locomotora produzida por antagonistas NMDA possui na literatura científica. Porém, mais estudos envolvendo os comportamentos de levantamento, autolimpeza, rotação e queda fazem-se necessários para melhor compreensão do arquétipo comportamental produzido por antagonistas NMDA como a cetamina.

A sensibilização comportamental

Farmacologicamente falando, dois processos podem resultar da repetição contínua do uso de agentes farmacológicos. O primeiro, chamado de tolerância, ocorre quando o uso repetido de uma droga acarreta a redução de sua eficácia. O segundo, é inverso a tolerância, consistindo no aumento do efeito da droga mediante seu uso repetido (STEWART; BADIANI, 1993). No caso, quando o efeito sensibilizado trata-se de um comportamento, dá-se o nome de sensibilização comportamental (CADOR; BJIJOU; STINUS, 1995).

A sensibilização comportamental por definição é caracterizada por um aumento progressivo do comportamento mediante repetidas administrações de

psicoestimulantes; sua natureza é duradoura, persistindo mesmo após cessação do tratamento (CADOR; BJIJOU; STINUS, 1995). Dessa forma e uma vez sensibilizados, os animais podem manter-se hipersensíveis ao efeito da droga psicoestimulante durante meses ou até mesmo anos (ROBINSON; BECKER, 1986). Evidências indicam que possivelmente dois substratos neurais estejam implicados no processo da sensibilização comportamental. Um deles seria a área do tegumento ventral, responsável pela iniciação (também chamada de indução ou desenvolvimento) desse fenômeno. Enquanto que o outro seria o núcleo acumbente, responsável pela expressão do comportamento sensibilizado (KALIVAS; STEWART, 1991; CADOR; BJIJOU; STINUS, 1995).

Adicionalmente, a sensibilização comportamental é um modelo bem estabelecido em investigações relacionadas a drogadição. De fato, sua neuroquímica e seus substratos neurais convergem com os substratos envolvidos na auto-administração de drogas de abuso (VEZINA, 2004). Assim, alterações neuroplásticas relacionadas a sensibilização levariam ao desenvolvimento do desejo pela droga, compulsão na sua ingestão e recaída (SEGAL; KUCZENSKI, 1992).

Algumas investigações já revelaram que a cetamina possui a capacidade de produzir sensibilização comportamental em roedores (IRIFUNE; SHIMIZU; NOMOTO, 1991; UCHIHASHI et al., 1993; IRIFUNE et al., 1998). Contudo, o desenho experimental utilizado nestes estudos, difere em alguns aspectos daqueles classicamente usados com outras drogas de abuso como a cocaína, anfetamina, morfina, nicotina e álcool (KALIVAS; DUFFY, 1987; SHAHAM; STEWART; KELSEY, 1995; ITZHAK; MARTIN, 2000; ABRAHAO et al., 2013; BLANCO et al., 2014; HAMILTON et al., 2014; JONES et al., 2014; LIU et al., 2014; MACASKILL; CASSEL; CARTER, 2014; STEINKELLNER et al., 2014). Isso porque, nos estudos com cetamina, não houve habituação dos animais ao campo aberto antes do período de administração da droga, sendo a habituação restrita a alguns minutos antes do início dos testes comportamentais, o que pode ter interferido no padrão dos resultados identificados. Adicionalmente, não houve uma completa avaliação de comportamentos, além da atividade locomotora, os quais podem ser afetados pela cetamina. Finalmente, uma vez que um estudo anterior mostrou que outro antagonista NMDA (fenciclidina), foi capaz de produzir sensibilização não só para a atividade locomotora, mas também para os comportamentos de levantamento e estereotipia (XU; DOMINO, 1994), esta ampla investigação de comportamentos no

campo aberto permite esclarecer se processos neuropsicofarmacológicos como a sensibilização comportamental podem interagir com a locomoção e com outros comportamentos potencialmente afetados pela cetamina.

Diante das evidências apresentadas, numa primeira etapa desta tese (experimento 1), escolhemos 2 doses subanestésicas de cetamina (30 ou 50 mg/kg) a serem administradas em um desenho experimental diferenciado dos desenhos utilizados anteriormente. Baseados em resultados obtidos com outras drogas de abuso, verificamos o desenvolvimento e expressão da sensibilização comportamental com o acréscimo de um período de habituação anteriormente aos testes comportamentais e verificamos se uma das duas doses utilizadas teria mais êxito em desenvolver e expressar a sensibilização comportamental. Finalmente, a sensibilização comportamental foi investigada não somente para a atividade locomotora, mas também para os demais comportamentos mencionados (levantamento, autolimpeza, rotação e queda).

Esquizofrenia e suas hipóteses neuroquímicas

O estudo de comportamentos sensibilizados assume grande importância no que tange o desenvolvimento de diversas patologias comportamentais. Por exemplo, se em uma face os estímulos farmacológicos sensibilizam animais de laboratório, o que pode ser visualizado através do aumento progressivo e alterações duradouras do comportamento locomotor, em outra, estímulos relevantes à natureza psíquica, como por exemplo o estresse, podem sensibilizar seres humanos. As consequências dessas alterações neuroplásticas muitas vezes não são tão notáveis quanto o aumento da locomoção em animais, porém, são significativas ao ponto de desencadear transtornos comportamentais em humanos, como o estresse pós-traumático, a doença do pânico e até mesmo a esquizofrenia (ROBINSON; BECKER, 1986; ANTELMAN, 1988). Nesse mesmo cenário humano, a sensibilização comportamental vem sendo cogitada no desenvolvimento de eventos psicóticos paranóicos, havendo uma tendência em pessoas com histórico de abuso de droga a rescindirem um quadro psicótico quanto novamente expostas ou a droga

ou a uma situação de estresse, inclusive tendo passando meses ou anos de abstinência da droga (CADOR; BJIJOU; STINUS, 1995).

Dentre os transtornos psiquiátricos citados acima, a esquizofrenia é um dos mais estigmatizantes de todos os tempos. A esquizofrenia é uma doença crônica que atinge cerca de 1% da população mundial (TAJIMA-POZO et al., 2015), representando uma das mais frequentes psicoses – distúrbios em que o indivíduo perde o juízo da realidade. Os portadores de psicoses apresentam distúrbios do pensamento como delírios de perseguição e perda da conexão lógica de ideias; distúrbios da percepção, principalmente alucinações auditivas; emoções embotadas ou incongruentes com a situação ambiental; excessiva timidez, isolamento social e alterações de mobilidade como agitação ou, ao contrário, imobilidade (GRAEFF e BRANDÃO, 1993).

Os sintomas característicos dessa doença são divididos em duas categorias: sintomas positivos e negativos. Dentre os sintomas positivos incluem-se delírios, alucinações e distúrbios do pensamento como consequência de uma ativação excessiva de funções psíquicas normais. Em contrapartida, os sintomas negativos resultam da perda de funções psíquicas normais e incluem abulia (carência de energia), anedonia (carência de prazer) e embotamento afetivo (ANDREASEN NC, 1982; ANDREASEN NC et al., 1990).

A comunidade científica tenta explicar a patogênese da esquizofrenia através de algumas teorias. Apesar da hipótese serotoninérgica da esquizofrenia ser a menos embasada, há evidências tanto associando sintomas de esquizofrenia a baixos níveis de 5-hidroxiindolacético, principal metabólito da serotonina, no líquido cefalorraquidiano quanto mostrando que fármacos psicotogênicos diminuem a atividade serotoninérgica e aumentam a dopaminérgica no sistema mesocorticolímbico (GRAEFF e BRANDÃO, 1993). Contudo as hipóteses dopaminérgica e glutamatérgica da esquizofrenia parecem ser mais consistentes.

A hipótese dopaminérgica defende que a gênese desta enfermidade se encontre na exacerbada atividade dopaminérgica (ARARIPE NETO et al., 2007). Neste mesmo sentido a cocaína e as anfetaminas, que agem principalmente aumentando os níveis intracerebrais de dopamina, podem tanto mimetizar efeitos comportamentais da esquizofrenia como exacerbar sintomas de pacientes esquizofrênicos (SNYDER, 1973; POST, 1975). O hipofuncionamento do sistema dopaminérgico do córtex pré-frontal pode ser o responsável pelo desenvolvimento

de sintomas negativos, enquanto os sintomas positivos poderiam ser atribuídos ao aumento da atividade dopaminérgica no sistema límbico (VASCONCELOS et al., 2005).

Por outro lado, a diminuição do neurotransmissor glutamato é o ponto chave para hipótese glutamatérgica. Kim e colaboradores (1980), em um estudo sobre a esquizofrenia, sugeriram que pessoas que apresentam essa patologia apresentavam uma diminuição na concentração de glutamato no líquido cefalorraquidiano. Segundo Olney e Farber (1995) a hipofunção do receptor NMDA por si só pode ser um possível mecanismo para explicar a esquizofrenia. Além disso, a cetamina, um antagonista não competitivo de receptores NMDA, assim como a fenciclidina é considerada um modelo experimental para o estudo da esquizofrenia em animais de laboratório (JEEVAKUMAR et al., 2015).

Apesar de serem pensadas separadamente, existem alguns pontos que convergem ambas as teorias. Por exemplo, a revisão de Vasconcelos e colaboradores (2005) mostra alguns. Primeiro, antagonistas do receptor NMDA aumentam o disparo de neurônios dopaminérgicos em roedores. Segundo, estudos de PET medindo a ocupação dos receptores dopaminérgicos após a administração de cetamina sugeriram que antagonistas NMDA aumentam a liberação de dopamina no núcleo estriado em humanos. Além disso, Becker e colaboradores (2003) demonstraram que a cetamina administrada por cinco dias causa alterações nas neurotransmissões dopaminérgica, glutamatérgica e serotoninérgica, produzindo aumento do receptor D2 no hipocampo, redução do receptor glutamatérgico, NMDA, no córtex frontal, aumento do transportador da dopamina no estriado e do transportador da serotonina no estriado, hipocampo e córtex frontal. Por último, drogas antipsicóticas podem reverter um padrão similar a esquizofrenia tanto em animais que receberam um agonista dopaminérgico quanto nos que receberam um antagonista NMDA (ROBINSON e BECKER, 1986; IRIFUNE et al., 1991; O'NEILL e SHAW, 1999; BOSCHEN, 2015).

Os antipsicóticos e seus alvos farmacológicos

Os antipsicóticos foram introduzidos na clínica médica psiquiátrica nos anos 50, revolucionando tanto o tratamento de pacientes esquizofrênicos quanto a visão que se tinha sobre os manicômios. Tal classe de fármaco é capaz de trazer considerado alívio relacionado a alterações de funções psicológicas e dano do juízo da realidade (GRAEFF, 1989). Os antipsicóticos podem ser divididos em típicos (primeiros agentes implementados na clínica) e atípicos (agentes mais recentes).

Os antipsicóticos típicos, como por exemplo o haloperidol, a clorpromazina e a loxapina, são frequentemente utilizados para controlar sintomas positivos, mas parecem não possuir eficácia sobre os negativos e déficits cognitivos presentes em pacientes esquizofrênicos. Sua ação se dá principalmente pelo antagonismo de receptores dopaminérgicos do tipo D2, resultando na inatividade dopaminérgica proencefálica (KARL et al., 2006).

Quanto aos antipsicóticos atípicos, como por exemplo a clozapina e a risperidona, são mostrados possuir eficácia tanto para sintomas positivos quanto negativos da esquizofrenia (KARL et al., 2006). Estando estes pouco relacionados ao desenvolvimento de transtornos extrapiramidais (MELTZER, 2004). A ação farmacológica da risperidona, por exemplo, baseia-se mais no bloqueio de 5-HT2 e baixo bloqueio de D2 (KARL et al., 2006).

O receptor D2

Os efeitos da dopamina no sistema nervoso central são mediados pela sua ligação e conseqüentemente ativação de receptores do tipo D1 e D2, os quais diferem em propriedades bioquímicas e farmacológicas e em funções fisiológicas (KEBABIAN; CALNE, 1979; STOOFF; KEBABIAN, 1981). Através do avanço de técnicas moleculares foram descobertos os receptores dopaminérgicos D3, D4 e D5. Atualmente os receptores são agrupados quanto a similaridade, em duas famílias de receptores, pertencendo D1 e D5 a família D1-*like* e D2, D3 e D4 a família D2-*like* (SIBLEY; MONSMA, 1992; STRANGE, 1996).

Todos os receptores dopaminérgicos são do tipo metabotrópicos, sendo a família *D1-like* associada a proteína G estimulatória e a família *D2-like* associada a G inibitória. Em outras palavras, D2 inibe a adenilato ciclase, reduzindo os níveis de AMP cíclico e comprometendo todo o sistema dependente dele (como a ativação de PKA), enquanto que D1 produz mecanismos intracelulares inversos a D2, estimulando a adenilato ciclase. Embora existam neurônios com somente D1 e outros com somente D2, é frequente a presença de ambos em um mesmo neurônio, o que sugere a existência de um antagonismo fisiológico (NEVE; SEAMANS; TRANTHAM-DAVIDSON, 2004; BONCI; HOPF, 2005). Assim parece haver um paradoxo que dificulta a explicação da evocação do comportamento locomotor mediado pela sinalização de D1 e D2, uma vez que estes receptores produzem respostas intracelulares opostas no que tange a ativação da adenilato ciclase.

Contudo o trabalho de Lee e colaboradores (2002), utilizando camundongos nulos para a adenilato ciclase do tipo 5 revelou achados interessantes para a compreensão dessa aparente inconsistência. Primeiramente, os referidos autores mostraram que o haloperidol foi incapaz de inibir a atividade locomotora de animais mutantes. Em segundo lugar, tanto o SKF quanto o DHX, ambos agonistas D1, produziram um aumento da atividade locomotora de animais mutantes quando comparados ao seu controle e aos animais selvagens, mesmo a ativação de D1 sendo dependente de adenilato ciclase. Tais autores sugeriram que a via envolvendo a adenilato ciclase 5 é fundamental na evocação da resposta locomotora mediada por D2, mas não por D1 (LEE et al., 2002). Talvez a via de sinalização para geração do comportamento locomotor seja diferente para cada um desses receptores, e o papel do receptor D1 no comportamento locomotor não esteja ligado a adenilato ciclase (GNANALINGHAM et al., 1995).

O receptor D2 está presente principalmente no estriado, tubérculo olfatório e núcleo acumbente (MISSALE et al., 1998). É possível constatar sua transcrição na área do tegumento ventral e na substância negra, estruturas que são pontos de partida das vias mesolímbica e nigroestriatal, respectivamente (GINGRICH; CARON, 1993). Ao que tudo indica, o receptor dopaminérgico D2 tanto na área do tegumento ventral quanto no núcleo acumbente modula a atividade locomotora (BAKER et al., 1996; TASLIMI et al., 2012; BAIK, 2013). Sabe-se também que a ativação dopaminérgica mediada por este receptor no núcleo acumbente se correlaciona com recompensa e abuso de drogas (SPANAGEL et al., 1999; ABRAHAO et al., 2012).

Cabe notar que a sensibilização comportamental, expressada como um aumento da atividade locomotora com a exposição repetida a drogas de abuso, mostra claramente a associação entre locomoção e drogas de abuso. De fato, como já mencionado anteriormente, a área do tegumento ventral e o núcleo acumbente são regiões neurais chaves para o desenvolvimento e a expressão da resposta locomotora sensibilizada, respectivamente (CADOR; BJIJOU; STINUS, 1995).

Com base no descrito acima, podemos sugerir que existe uma grande possibilidade do receptor dopaminérgico D2 estar envolvido na hiperatividade locomotora produzida por cetamina. Um interessante achado que corrobora essa ideia foi a capacidade do antagonista D2, racloprida, ter inibido o aumento da liberação de dopamina produzido por administrações tanto de fenciclidina quanto de cetamina (KAPUR; SEEMAN, 2002). Além disso a cetamina mostrou afinidade para o receptor D2 comparável ao NMDA, sendo a resposta do receptor D2 consistente com agonismo. Essa mesma interação agonista foi vista entre a cetamina e o receptor serotoninérgico 5-HT₂ (KAPUR; SEEMAN, 2002).

O receptor 5-HT₂

Atualmente é conhecida a existência de 7 famílias e 14 subtipos de receptores da 5-hidroxitriptamina (5-HT; serotonina) em espécies de mamíferos. São estas a família 5-HT₁ que apresenta os subtipos A, B, D, E e F; a família 5-HT₂ A, B e C; os receptores 5-HT₃ e 5-HT₄; a família 5-HT₅ que apresenta os subtipos A e B e os receptores 5-HT₆ e 5-HT₇, nos quais a serotonina exerce seus efeitos. Dentre todos estes receptores somente o 5-HT₃ é ionotrópico, sendo todos os demais metabotrópicos. A serotonina pode atuar de maneira diferente sobre cada um dos receptores, de forma que, por exemplo, a ativação de 5-HT₁ está associada a inibição, enquanto que a ativação de 5-HT₂ a uma sinalização excitatória (BARNES; SHARP, 1999).

A ativação do receptor 5-HT₂ pela serotonina foi mostrada produzir despolarização de neurônios no núcleo acumbente (NORTH; UCHIMURA, 1989), que também estar relacionado à expressão da sensibilização comportamental (CADOR; BJIJOU; STINUS, 1995). Adicionalmente, trabalhos apontam a ativação

serotoninérgica, via 5-HT₂, como um mecanismo importante ao comportamento locomotor. Já Sławińska e colaboradores (2014) sugeriram que os receptores 5-HT₂ e 5-HT₇ são os mais importantes para o comportamento locomotor. Para Liu e Jordan (2005) a locomoção produzida por estimulação de neurônios serotoninérgicos no tronco cerebral de ratos neonatos teve a participação de receptores 5-HT₂.

Outros dados envolvendo diversos agentes farmacológicos também apontam para um real papel de 5-HT₂ no comportamento locomotor. Um estudo mostrou que o antagonista 5-HT₂, cetanserina, não só alterou a atividade locomotora, mas como também bloqueou o desenvolvimento da sensibilização comportamental a cocaína (FILIP; NOWAK; PAPLA, 2001). Por outro lado Zaniewska e colaboradores (2009) mostraram que o agonista 5-HT_{2A}, DOI, tanto aumentou a atividade basal de ratos quanto exacerbou a hiperatividade locomotora induzida por nicotina. Ao que tudo indica existe uma forte relação entre o receptor em questão e a atividade locomotora, incluindo aquelas evocadas por antagonistas NMDA. Nesse mesmo sentido Maurel-Remy e colaboradores (1995) concluíram em seu estudo que a hiperatividade locomotora induzida pela fenciclidina era dependente de 5-HT_{2A}. Adicionalmente, Su e colaboradores (2007) mostraram que a risperidona, provavelmente por mecanismos envolvendo somente o bloqueio de 5-HT₂, atenuou a hiperatividade locomotora induzida pelo antagonista NMDA, MK-801.

A influência de efeitos antipsicóticos via D2 e 5-HT2 sobre respostas sensibilizadas a cetamina

Como já tem sido dito, a atividade locomotora é um comportamento em parte mediado pelo receptor D2 (BAKER et al., 1996; LEE et al., 2002; TASLIMI et al., 2012; BAIK, 2013) e ao que tudo indica existe uma participação do receptor 5-HT₂ nesse processo (FILIP; NOWAK; PAPLA, 2001; LIU; JORDAN, 2005; SŁAWIŃSKA; MIAZGA; JORDAN, 2014). Com a sensibilização comportamental, que se pode dizer ser um fenômeno psicofarmacológico mais complexo envolvendo a atividade locomotora em modelos animais, também existe a participação desses receptores. Assim, existem trabalhos onde tanto o receptor D2 (MATTINGLY; ROWLETT, 1989;

ABRAHAO et al., 2012) quanto o 5-HT₂ (FILIP; NOWAK; PAPLA, 2001; FILIP; BUBAR; CUNNINGHAM, 2004) são capazes de intervir no desenvolvimento e/ou na expressão da sensibilização comportamental produzida por agonistas dopaminérgicos.

Adicionalmente, há relatos de que antagonistas D₂ (MEYER; PHILLIPS, 2003) e 5-HT₂ (MAUREL-REMY; BERVOETS; MILLAN, 1995; SU et al., 2007) previnem a hiperatividade induzida por antagonistas NMDA. Contudo, apesar de evidências que indicam que, além ser um antagonista NMDA, a cetamina também interage de forma agonística com os receptores D₂ e 5-HT₂, não encontramos estudos com objetivo de investigar o envolvimento destes receptores na atividade locomotora desenvolvida e expressada pela cetamina. Por esse motivo, um dos objetivos desta tese (experimentos 2 e 3) foi verificar se o tratamento prévio com antagonistas D₂ (racloprida) e 5-HT₂ (cetanserina), iria prevenir o desenvolvimento e a expressão da sensibilização comportamental a cetamina. Os resultados desse objetivo podem contribuir para a compreensão dos efeitos antipsicóticos mediados, separadamente, por D₂ e 5-HT₂ dentro do modelo experimental glutamatérgico da esquizofrenia induzido por cetamina.

Dentro desse mesmo cenário que diz respeito aos efeitos antipsicóticos, um interessante estudo mostrou que ocorre um aumento progressivo desses efeitos, o que os autores chamam de sensibilização antipsicótica, a qual ao que tudo indica pode ser dependente do contexto (ZHANG; LI, 2012). Por outro lado, anterior a isso já tem sido visto que drogas que servem de modelo experimental para esquizofrenia, como a anfetamina a cetamina, parecem interagir com fatores ambientais. Por exemplo, já é estabelecido na literatura que a anfetamina tem seus efeitos maximizados por fatores ambientais (TILSON; RECH, 1973; SUKHANOV et al., 2016). Nesse mesmo sentido, embora não tenham explorado especificamente esse campo, Trujillo e colaboradores (2008) sugeriram que os efeitos comportamentais da cetamina estariam envolvidos com dicas ambientais. Visto isso, talvez seja possível que os efeitos psicomiméticos de antagonistas NMDA também estejam relacionados ao ambiente.

A resposta locomotora condicionada

A aprendizagem é um fenômeno complexo que não se restringe a apenas uma nova habilidade ou absorção de conhecimento, nela também há o desenvolvimento da interação social, emocionalidade e até mesmo da personalidade do indivíduo. Nesse processo ocorre a aquisição de novas informações do meio, resultando dessa experiência a modificação do comportamento (BRANDÃO, 2004). Tal processo apresenta-se de variadas formas, desde a mais simples como a habituação até a mais complexa que é o ensino. Dentre os processos de aprendizagem, vale ressaltar o condicionamento clássico, ou também conhecido como pavloviano (SALVADOR, 2014).

O estudo do condicionamento clássico foi iniciado em princípios do século XX por Ivan Petrovitch Pavlov. Pode-se dizer que é largamente conhecido o experimento da “campainha” de Pavlov. Com esse teste foi mostrado que a associação entre um estímulo neutro (ruído da campainha) e um estímulo incondicionado (apresentação da comida), transformava o estímulo neutro em estímulo condicionado, capaz de causar uma resposta condicionada (o ruído da campainha passa a funcionar como um estímulo condicionado gerador de resposta condicionada - salivação - mesmo na ausência do estímulo incondicionado - comida). Assim, a resposta originalmente incondicionada (salivação) se transforma em condicionada (salivação mediante o toque da campainha) (ATKINSONS et al., 1995).

Outro experimento menos conhecido foi o teste de condicionamento feito por Pavlov com administrações de apomorfina. Segundo mencionado por Carey (1988), Pavlov verificou que a administração subcutânea de apomorfina resultou em aumento da salivação, inquietação e propensão ao vômito em animais experimentais. Essas respostas foram incondicionadas, pois embora tenham sido evocadas pela apomorfina são fisiológicas. Sendo assim, após sucessivas repetições de associação entre o ruído de uma campainha (estímulo neutro) e injeções de apomorfina (estímulo incondicionado) foi gerada uma resposta condicionada (salivação, inquietação e propensão ao vômito) eliciada pelo estímulo condicionado (ruído da campainha). Portanto, Pavlov foi o primeiro pesquisador a revelar que a associação entre efeito da droga e ambiente no qual ela é

experimentada, é capaz de consolidar o condicionamento, sendo o ambiente uma rica fonte de estímulo condicionado, capaz de desencadear efeitos fisiológicos (DREW; GLICK, 1988).

Mais para frente Tilson e Rech (1973) constataram que o psicoestimulante dopaminérgico, anfetamina, associado ao contexto de um ambiente experimental foi capaz de produzir uma resposta locomotora condicionada. Atualmente pode-se dizer que os experimentos envolvendo drogas avançaram significativamente, pois tem sido demonstrado que várias drogas produzem uma resposta locomotora condicionada, como por exemplo, a anfetamina (GOLD; SWERDLOW; KOOB, 1988), a cocaína (BROWN; FIBIGER, 1992), a apomorfina (DIAS; CAREY; CARRERA, 2006), a quimpirola (EINAT et al., 1996) e o MDMA (GOLD; KOOB, 1989).

Assim, está estabelecido que, os efeitos de drogas de abuso não se limitam a fatores fisiológicos, eles interagem com dicas contextuais e podem condicionar os indivíduos, de modo que a simples exposição a tais dicas pode eliciar uma resposta similar a droga (SELF; NESTLER, 1998). Isso justifica a importância de estudos utilizando o condicionamento pavloviano na perspectiva do campo aberto. A associação entre o teste do campo aberto e a administração de drogas de abuso em animais experimentais permite um paralelo com o que ocorre em indivíduos usuários de drogas de abuso, os quais usam as drogas em ambientes específicos. Este tipo de desenho experimental possibilita a investigação do porquê da exposição a dicas ambientais (por ex. o contexto de uma *rave* onde a droga normalmente foi experimentada) resultar no intenso desejo de fazer novamente uso da droga (SELF; NESTLER, 1998)

A sensibilização comportamental dependente do contexto

Outro fenômeno dependente do contexto e que pode estar relacionado ao condicionamento pavloviano (a resposta locomotora condicionada) é a sensibilização comportamental dependente do contexto (HINSON; POULOS, 1981). Desde a década de 70 já tem sido mostrado que além de repetidas administrações de psicoestimulantes exacerbarem progressivamente o comportamento locomotor,

este efeito é maximizado pela influência do contexto ambiental e, por isso, esse específico fenômeno da sensibilização comportamental é chamado de dependente do contexto (TILSON; RECH, 1973). Diversos psicoestimulantes tem revelado produzir sensibilização dependente do contexto, como por exemplo, a quimpirola (EINAT et al., 1996), a cocaína (WOOD et al., 1998), a apomorfina (KELLER; DELIUS; ACERBO, 2002), a metanfetamina (ITZHAK et al., 1998) e o MDMA (BALL; BUDREAU; REBEC, 2006).

Alguns trabalhos existentes na literatura têm relacionado locomoção condicionada à sensibilização dependente do contexto. Primeiro, existem trabalhos mostrando a exibição tanto da resposta locomotora condicionada quando da contextualmente sensibilizada no mesmo grupo de animais (HINSON; POULOS, 1981; WOLF; KHANSA, 1991; SUKHANOV et al., 2016). Segundo, dentre tais autores, os de citação mais antiga sugeriram que a sensibilização dependente do contexto recebia uma forte contribuição do condicionamento pavloviano para existir (HINSON; POULOS, 1981). Por outro lado Wolf e Khansa (1991) mostraram que a resposta locomotora tanto condicionada quanto contextualmente sensibilizada por anfetamina recebiam uma contribuição do receptor NMDA. Complementarmente, o trabalho de Sukhanov e colaboradores (2016) também verificou ambos os fenômenos em concomitância, sobre os quais a anfetamina produziu efeitos mais pronunciados em camundongos nulos para o gene do receptor TAAR. Estes mesmos animais mutantes também mostraram significativas alterações nos níveis de receptores NMDA (SUKHANOV et al., 2016). Com isso é possível sugerir que o sistema glutamatérgico também possa está implicado em ambas as respostas.

Assim, a repetida exposição a drogas pode levar tanto à consolidação de uma resposta locomotora condicionada quando contextualmente sensibilizada, sendo que ambas necessitam intrinsecamente de dicas ambientais. É bem estabelecido que drogas com características psicoestimulantes são as que possuem a capacidade de evocar tais respostas comportamentais. Contudo, embora já tenha sido mostrado que a cetamina produz tanto hiperatividade locomotora quanto sensibilização comportamental a semelhança de outros psicoestimulantes (IRIFUNE; SHIMIZU; NOMOTO, 1991; UCHIHASHI et al., 1993; IRIFUNE et al., 1998; TRUJILLO; ZAMORA; WARMOTH, 2008), atualmente apenas um trabalho demonstrou os efeitos da cetamina sozinha sobre a preferência condicionada ao local (SUZUKI et al., 2000). Até o momento, não há estudos com foco nas propriedades

condicionantes da cetamina na perspectiva do campo aberto, tampouco com foco nas suas características contextualmente sensibilizantes. Diante do apresentado anteriormente, o último objetivo desta tese (experimento 4) foi verificar tais fenômenos ainda não investigados, acreditando que devido suas características comportamentais a cetamina irá gerar tanto a locomoção condicionada quanto a sensibilização comportamental dependente do contexto.

1 OBJETIVOS

1.1 Objetivo geral

Verificar a sensibilização comportamental induzida por cetamina, assim como sua interação com o ambiente e com receptores dopaminérgicos D2 e serotoninérgicos 5HT2.

1.2 Objetivos específicos

- a) **Experimento 1:** Avaliar o desenvolvimento e a expressão da sensibilização comportamental induzida pela cetamina nas doses de 30 e 50 mg/kg;
- b) **Experimento 2:** Investigar o papel do antagonista D2, racloprida, sobre o desenvolvimento e expressão da sensibilização comportamental induzida por cetamina;
- c) **Experimento 3:** Investigar o papel do antagonista 5HT-2, cetanserina, sobre o desenvolvimento e expressão da sensibilização comportamental induzida por cetamina;
- d) **Experimento 4:** Avaliar o potencial da cetamina 30 mg/kg em produzir resposta locomotora condicionada e sensibilização comportamental dependente do contexto ambiental.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Sujeitos

Todos os experimentos foram realizados com a aprovação do Comitê de Ética para Cuidados e Uso de Animais Experimentais do Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes da Universidade do Estado do Rio de Janeiro (CEA / 029 / 2014), em conformidade com a Declaração de Helsinki e com o Guia de cuidados e uso de animais de laboratório adotado e promulgado pelos Institutos Nacionais de Saúde.

Camundongos Swiss foram criados e mantidos no nosso biotério a uma temperatura de 21-22°C e um ciclo claro/escuro de 12 horas (luzes acesas às 01:00) com livre acesso à comida e água. Após o desmame (dia pós-natal 21 = PN21), os camundongos foram separados por sexo. Um macho e uma fêmea de cada ninhada foram atribuídos a cada grupo de tratamento e alojados em grupos de 3 a 4 animais. Quando atingiram idade entre PN75 e PN90, os animais foram submetidos ao protocolo experimental descrito abaixo.

2.2 Ambiente experimental

Todos os experimentos foram realizados na mesma sala de teste comportamental (Laboratório de Neurofisiologia / Departamento de Ciências Fisiológicas / IBRAG / UERJ), cuja iluminação era branca e a temperatura controlada à $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$. Neste ambiente experimental havia um campo aberto (32 x 32 x 32 cm) de madeira com paredes internas pintadas na cor preta. Um sistema de filmagem contendo uma webcam (Philips, Precision Lens F:2,6) foi posicionado 100 cm acima do campo aberto e conectado a um netbook (da marca HP), o qual capturou e armazenou as imagens para futuras análises. Como ruído de fundo contamos com o ar condicionado (Consul, ClasseA 18000), o qual foi ligado no início de cada sessão experimental e desligado ao término desta. Todos os experimentos foram conduzidos na fase clara entre às 9:00 e 12:00 horas.

2.3 Drogas

O cloridrato de cetamina (VETNIL[®] 10%, São Paulo, Brasil) foi administrado nas doses de 30 (cet30) ou 50 (cet50) mg/kg por via intraperitoneal. O tartarato de racloprida (Sigma-Aldrich, São Paulo – Brasil) e o tartarato de cetanserina (Sigma-Aldrich, São Paulo – Brasil) foram administrados nas doses de 0,5 (rac) e 3 (cts) mg/kg, respectivamente, ambos por via subcutânea. Vale lembrar que a cetanserina apesar de ter maior afinidade por 5-HT_{2A}, também possui moderada atividade por 5-HT_{2C} (HOYER et al., 1994). Devido a isso, o presente trabalho irá tratar o receptor como apenas antagonista 5-HT₂, do mesmo jeito que fez Sugino e colaboradores (2009) em seu trabalho. Todas as drogas tiveram a solução salina (NaCl 0,9 %) como veículo e um volume de administração igual a 5ml/kg.

2.4 Procedimentos

Os camundongos foram transferidos do biotério à sala de teste em uma gaiola preta (cor diferente de suas gaiolas moradias) e puderam se aclimatar ao novo ambiente por um período de 10 minutos. Somente após esse período foram iniciados os respectivos tratamentos, os quais variaram em função do experimento e/ou da fase experimental. Vale ressaltar que todos os animais foram introduzidos no campo aberto imediatamente após receberem seus respectivos tratamentos.

Todos os experimentos foram dotados das mesmas fases experimentais, ou seja, habituação, indução, retirada e teste de sensibilização. Os detalhes e particularidades dos procedimentos em cada um dos experimentos serão descritos em seus devidos capítulos, precedendo os resultados. De uma forma geral, os procedimentos das fases podem ser resumidos da seguinte forma:

- a) **Habituação (do 1º ao 3º dia):** os animais de todos os experimentos foram inicialmente habituados por 3 dias, sendo expostos a uma injeção de salina seguida de introdução imediata ao campo aberto. A duração do teste variou conforme o experimento. Tal fase objetivou

reduzir o estresse associado à injeção, ao manuseio dos animais e à exposição ao ambiente novo;

- b) **Indução (do 4º ao 10º dia):** um dia após o término da habituação, todos os animais foram submetidos aos seus respectivos tratamentos por 7 dias consecutivos. Isso permitiu conhecer tanto os efeitos da cetamina sobre o desenvolvimento da sensibilização quanto sua relação com o ambiente e com os receptores D2 (dopaminérgicos) e 5-HT2 (serotoninérgicos);
- c) **Retirada (do 11º ao 15º dia):** nesse período, os animais permaneceram no biotério sem receber qualquer tipo de tratamento. Os 5 dias de retirada serviram para verificar se os efeitos da cetamina, assim como de suas interações (com o ambiente ou com o antagonismo dos receptores D2 ou 5-HT2), iriam persistir. O período de retirada foi o mesmo em todos os experimentos, exceto para o experimento 4, que teve uma primeira retirada nos dias experimentais 11 e 12, um teste de condicionamento no dia 13 e uma segunda retirada nos dias 14 e 15 (mais detalhes podem ser vistos no capítulo do experimento 4);
- d) **Teste de sensibilização (16º dia):** os animais foram desafiados nesse dia com cetamina ou veículo para se verificar a persistência dos efeitos da cetamina ou de suas interações sobre a sensibilização comportamental.

2.5 Quantificação Comportamental

Os vídeos gerados nos experimentos foram lidos pelo software VLC Media Player e observados através de um monitor coberto por plástico *insufilm*, o qual permitiu dividir a área do campo aberto em 9 quadrados iguais. Com tais instrumentos foi possível quantificar o comportamento de locomoção (também chamado aqui de atividade locomotora ou locomoção horizontal). A locomoção foi quantificada por ser frequentemente utilizada para verificação da sensibilização comportamental. A análise da locomoção horizontal foi comum a todos os

experimentos. Contudo, no experimento 1 também foram quantificados o número de levantamentos (ou locomoção vertical), a autolimpeza, a rotação e a queda, os quais serão descritos em detalhe na seção 4. Visando a análise das medidas comportamentais ao longo do tempo, o experimento 1 foi dividido em 6 intervalos de 10 minutos (totalizando 60 min) e os experimentos 2, 3 e 4 em 8 intervalos de 2,5 minutos (totalizando 20 min). Todas as quantificações comportamentais foram realizadas no 1º, 4º e 7º dia da fase de indução (ind1, ind4 e ind7), no teste de condicionamento (exclusivo do experimento 2) e no teste de sensibilização (TS).

2.6 Análise estatística

Os dados são apresentados como Média e Erro Padrão da Média. Para reduzir a probabilidade de erros estatísticos do tipo 1 que possam resultar de repetidos testes do conjunto global de dados, os resultados foram avaliados por Análises de Variância para Medidas Repetidas (rANOVAs), analisando de forma global cada variável (atividade locomotora, levantamento, autolimpeza, rotação e queda). Os fatores TRATAMENTO e SEXO foram usados como fatores entre-sujeitos, enquanto DIA e INTERVALO foram considerados fatores intra-sujeitos. Sempre que TRATAMENTO interagiu com os outros fatores foi realizado o teste *post-hoc* de Duncan, considerado adequado $p < 0,05$.

O comportamento de cada grupo experimental ao longo dos dias e intervalos (análise longitudinal) foi avaliado por rANOVAs, para cada variável. SEXO foi usado como fator entre-sujeito, enquanto DIA e INTERVALO foram considerados fatores intra-sujeitos. Interações entre os fatores foram investigadas com o uso do teste *post-hoc* de Duncan, considerado adequado $p < 0,05$.

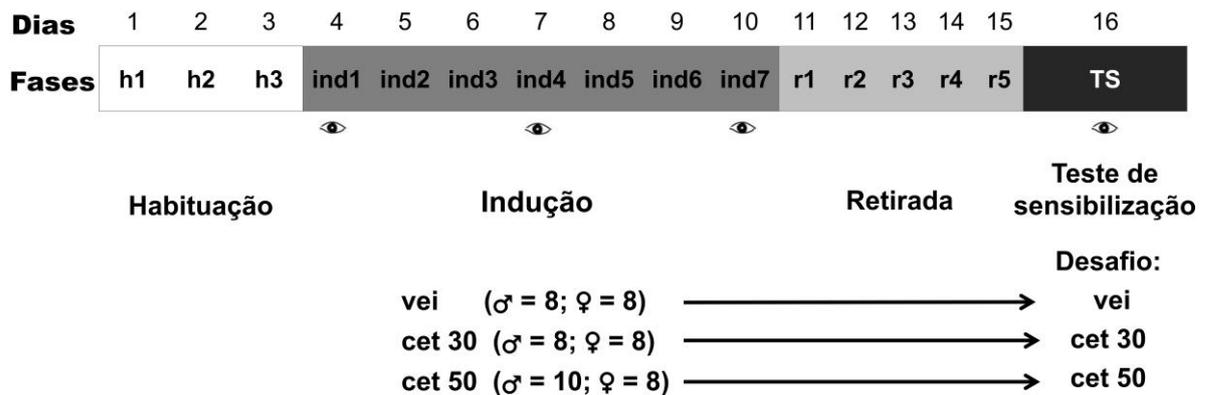
A esfericidade dos dados foi acessada pelo teste de Mauchly e sempre que a suposição de esfericidade foi violada, utilizou-se o parâmetro ϵ Greenhouse-Geisser, que ajusta os graus de liberdade (GREENHOUSE; GEISSER, 1959).

3 EXPERIMENTO 1: O DESENVOLVIMENTO E A EXPRESSÃO DA SENSIBILIZAÇÃO COMPORTAMENTAL INDUZIDA PELA CETAMINA NAS DOSES DE 30 E 50 MG/KG

3.1 Procedimento específico

Este experimento foi composto por 4 fases, sendo elas habituação (já descrita no item 2.4 do material e métodos), indução, retirada e teste de sensibilização (desafio a droga). Após a **habituação** (do dia 1 ao 3), iniciou-se a fase de **indução** (do dia 4 ao 10, chamados de ind1 a ind7, respectivamente), onde os camundongos receberam por 7 dias consecutivos uma injeção (i.p.) diária de cetamina 30 mg/kg (cet30; machos = 8 e fêmeas = 8), cetamina 50 mg/kg (cet50; machos = 10 e fêmeas = 8) ou veículo (vei; machos = 8 e fêmeas = 8). A indução foi seguida por um período de 5 dias de **retirada** (dias 11 a 15), durante o qual os animais permaneceram no biotério sem qualquer tipo de manipulação. Finalmente no 16º dia os animais receberam um desafio com o mesmo tratamento dado na indução. Esse último dia foi chamado de **teste de sensibilização** e teve como finalidade verificar a expressão da sensibilização comportamental. Em todas as fases, exceto na retirada, os animais receberam suas respectivas injeções e foram imediatamente colocados no centro do campo aberto por um período de 60 minutos (a linha temporal do experimento 1 está esquematizada na figura 2).

Figura 2 – Linha temporal do experimento 1



Legenda: vei = salina (i.p.); cet30 = cetamina 30 mg/kg (i.p.); cet50 = cetamina 50 mg/kg (i.p.); TS = Teste de sensibilização. 👁: Dias em que as atividades comportamentais foram quantificadas – dias 4 (ind1), 7 (ind4), 10 (ind7), correspondentes ao 1º, 4º e 7º dia da indução, respectivamente, e 16 (TS).

Fonte: O autor, 2016.

Para a quantificação comportamental do experimento 1, cada teste de 60 minutos foi dividido em 6 intervalos de 10 minutos. Foram analisados a atividade locomotora (ou locomoção horizontal), o levantamento (ou locomoção vertical), a autolimpeza, a rotação e a queda. A locomoção foi quantificada por ser frequentemente utilizada para verificação da sensibilização comportamental. Os comportamentos de levantamento e autolimpeza, por sua vez, por estarem correlacionados a atividade locomotora, ora por estarem competindo diretamente com esta ora por serem produzidos de forma dose-dependente pelas mesmas drogas que aumentam a atividade locomotora. A locomoção horizontal foi quantificada através do número de vezes que o animal passou de um quadrado para o outro com as 4 patas. O levantamento foi mensurado pelo número de vezes que o animal ficou somente sobre suas duas patas traseiras no centro ou nas laterais do campo aberto, tendo as patas dianteiras apoiadas ou não na parede do campo aberto. A autolimpeza foi registrada tanto pelo tempo (segundos) quanto pelo número de vezes em que o animal limpou o seu corpo e/ou a face com o auxílio da língua, das patas dianteiras, das patas traseiras ou de ambas as patas.

Adicionalmente, foi verificado em experimentos pilotos que animais expostos a cetamina apresentavam uma rotação estereotipada e uma queda lateralizada seguida de retomada da postura normal. Visto isso, o presente trabalho se inclinou a estabelecer parâmetros para quantificar esses comportamentos chamados aqui de

rotação e queda. Para a rotação foi considerado o número de vezes que o animal deu uma volta para esquerda ou para a direita em torno do próprio eixo. Para a queda foi considerado o número de vezes que o animal caiu para a esquerda ou direita e em seguida levantou-se.

3.2 Resultados

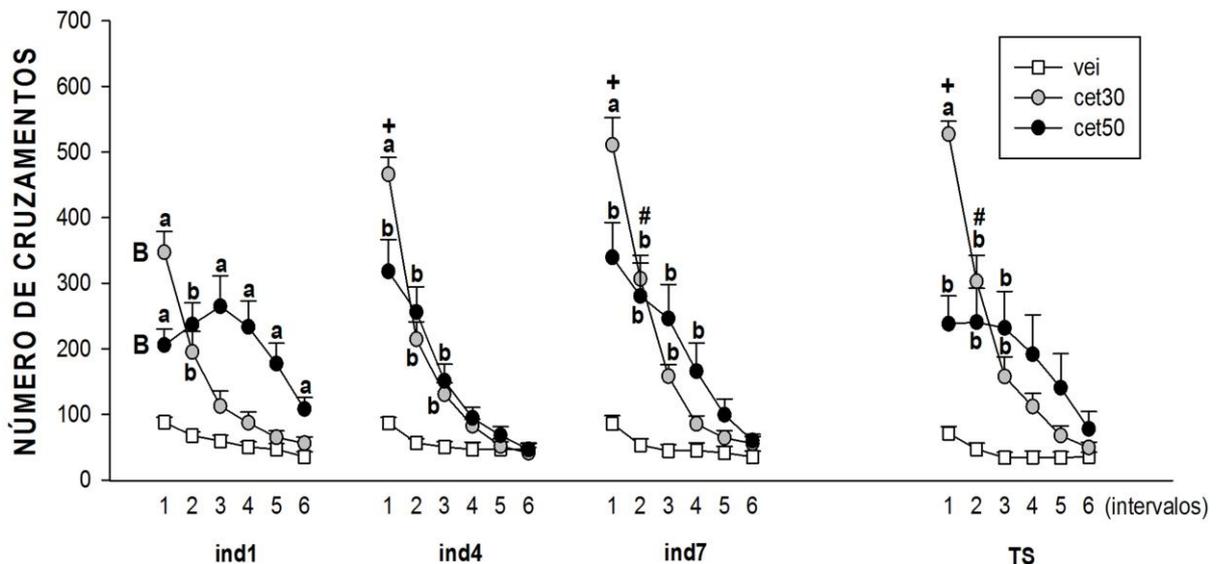
3.2.1 Atividade locomotora (figura 3)

A exposição a cetamina teve impacto marcante na atividade locomotora dos animais (rANOVA: TRATAMENTO – $F_{(2;44)} = 31,25$, $p < 0,001$), pois tanto animais cet30 quanto cet50 apresentaram aumento significativo da locomoção quando comparados a vei (cet30 > vei e cet50 > vei; Teste de Duncan, $p < 0,05$; indicado em **B** da figura 3). Além disso, os efeitos da cetamina variaram em função do dia e do intervalo (rANOVA: TRATAMENTO x DIA x INTERVALO – $F_{(12,2;267,8)} = 3,46$, $p < 0,001$; TRATAMENTO x INTERVALO – $F_{(4,3;93,8)} = 37,26$, $p < 0,001$). Os grupos cet30 e cet50 apresentaram elevada atividade locomotora nos primeiros intervalos da fase de indução e no TS quando comparados ao grupo vei. Esta atividade sofreu redução acentuada ao longo dos 60 minutos de cada dia de teste, de forma que as diferenças entre os grupos tende a se dissipar nos últimos intervalos. O grupo vei também apresentou redução da atividade locomotora, contudo a atividade inicial deste grupo foi menor em todos dias analisados, de forma que a redução de atividade foi menor em intensidade quando comparada aos grupos expostos a cetamina. Consistente com estes achados, o teste *post-hoc* de Duncan indicou que camundongos cet30 e cet50 no 1º intervalo de todos os dias analisados apresentaram maior atividade locomotora quando comparados a camundongos vei. As análises apontam também que a resposta locomotora gerada por cet30 foi mais intensa quando comparada a cet50. No 2º intervalo, em todos os dias analisados, não houve mais diferenças entre cet30 e cet50, no entanto, ambos os grupos apresentaram atividade locomotora maior que animais vei. Em geral, todas as diferenças haviam desaparecido nos últimos intervalos, exceto em ind1, onde o

grupo cet50 apresentou maior atividade locomotora quando comparado aos demais grupos do 3º ao 6º intervalo.

A análise longitudinal de cada grupo experimental ao longo dos dias quantificados indicou um aumento progressivo da resposta locomotora de animais cet30 (rANOVA: DIA x INTERVALO – $F_{(7,5;140,4)} = 4,67, p < 0,001$; DIA – $F_{(3;56)} = 3,24, p < 0,05$), mas não para animais vei e cet50 ($p > 0,05$). O teste *post-hoc* de Duncan indicou que a atividade locomotora de animais cet30 nos últimos dias superou a dos primeiros tanto no 1º intervalo (atividade de ind4, ind7 e TS maior que de ind1) quanto no 2º (atividade de ind7 e TS maior que de ind1 e ind4).

Figura 3 – Efeitos das administrações de cetamina (i.p.) sobre a atividade locomotora no campo aberto



Legenda: Quantificação obtida através do número de cruzamentos nos dias 1 (ind1), 4 (ind4) e 7 (ind7) da fase de indução e durante o teste de sensibilização (TS). Os 60 minutos de teste foram divididos em 6 intervalos de 10 min. vei = veículo, cet30 = cetamina 30 mk/kg e cet50 = cetamina 50 mk/kg. Comparação global entre os grupos: B = atividade locomotora maior que vei. Comparações entre os grupos a cada dia analisado: a = diferente de todos os outros grupos e b = diferente do grupo vei. Comparações de cada grupo ao longo dos dias analisados: + = cet30 diferente de ind1 nos intervalos marcados e # = cet30 diferente de ind1 e ind4 nos intervalos marcados. Valores representados em média \pm erro padrão da média. Diferenças reveladas pelo teste *post-hoc* de Duncan ($p < 0,05$).

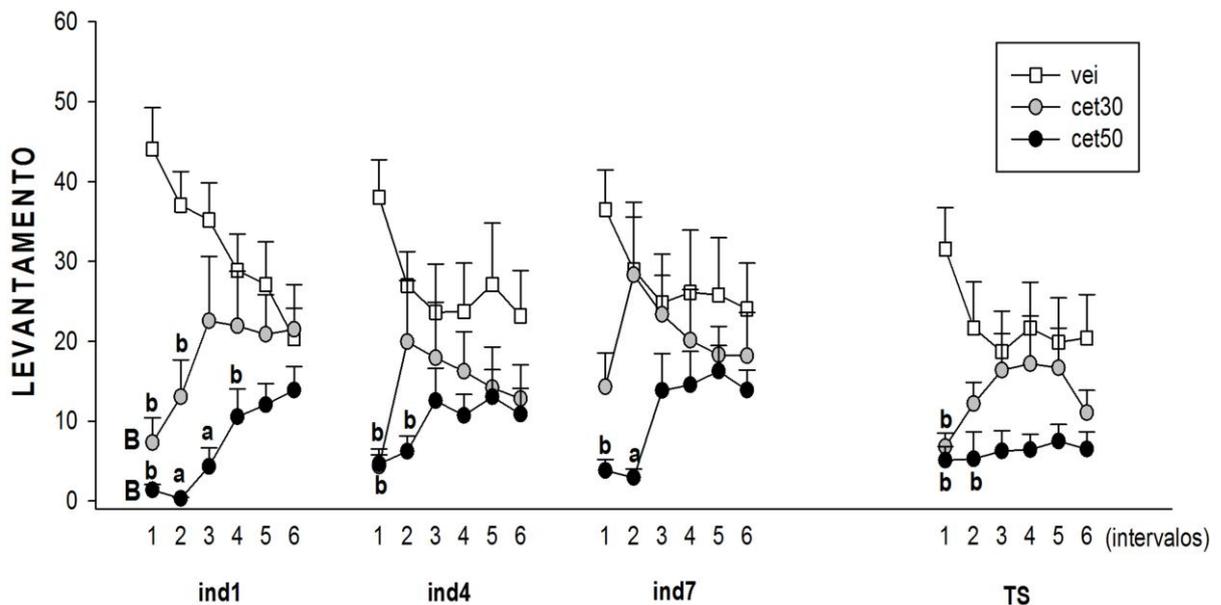
Fonte: O autor, 2016.

3.2.2 Levantamento (figura 4)

A exposição a cetamina afetou o comportamento de levantamento dos camundongos (rANOVA: TRATAMENTO - $F_{(2,44)} = 7,16, p < 0,01$), bloqueando tal atividade em ambas as doses (cet30 < vei e cet50 < vei; Teste de Duncan, $p < 0,05$; indicado em **B** da figura 4). Contudo, cabe ressaltar que este efeito variou em função do dia e do intervalo (rANOVA: TRATAMENTO x DIA x INTERVALO - $F_{(16,2;356,5)} = 2,43, p < 0,01$; TRATAMENTO x INTERVALO - $F_{(5,2;114,6)} = 11,54, p < 0,001$). De forma geral, a comparação entre os grupos cet30 e cet50 e o grupo vei indicou que os grupos expostos a cetamina apresentaram menor número de levantamentos no início dos testes seguido do aumento da atividade. Inversamente, o grupo vei apresentou acentuada redução no número de levantamentos ao longo do teste nos diferentes dias analisados. A análise *post-hoc* detalhada do comportamento ao longo dos intervalos a cada dia indicou que animais cet30 apresentaram uma diminuição do número de levantamentos quando comparados aos vei nos dois primeiros intervalos de ind1 e no primeiro intervalo de ind4. Apesar dessa diferença ter desaparecido em ind7, ela ressurge no primeiro intervalo do teste de sensibilização. A diminuição do levantamento foi mais pronunciada em camundongos cet50, os quais quando comparados aos vei apresentaram menor número de levantamento nos 4 primeiros intervalos de ind1 e nos dois primeiros intervalos de ind4, ind7 e TS.

A análise longitudinal de cada grupo experimental ao longo dos dias quantificados indicou que a cetamina não produziu alterações progressivas da atividade locomotora vertical.

Figura 4 – Efeitos das administrações de cetamina (i.p.) sobre o comportamento de levantamento no campo aberto



Legenda: Quantificação obtida através do número de levantamentos nos dias 1 (ind1), 4 (ind4) e 7 (ind7) da fase de indução e durante o teste de sensibilização (TS). Os 60 minutos de teste foram divididos em 6 intervalos de 10 min. vei = veículo, cet30 = cetamina 30 mk/kg e cet50 = cetamina 50 mk/kg. Comparação global entre os grupos: B = número de levantamentos menor que vei. Comparações entre os grupos a cada dia analisado: a = diferente de todos os outros grupos e b = diferente do grupo vei. Valores representados em média ± erro padrão da média. Diferenças reveladas pelo teste *post-hoc* de Duncan ($p < 0,05$).

Fonte: O autor, 2016.

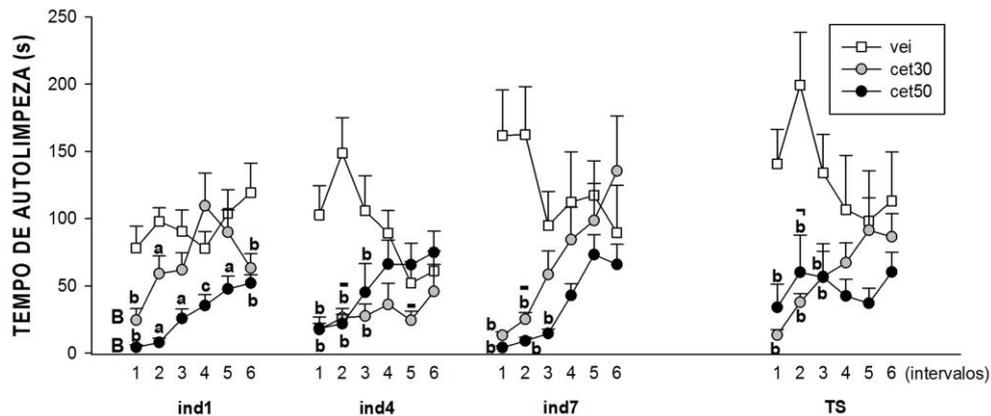
3.2.3 Autolimpeza (figura 5 e 6)

Os grupos cet30 e cet50 apresentaram menor tempo de autolimpeza que o grupo vei (rANOVA: TRATAMENTO $F_{(2;44)} = 17,50$, $p < 0,001$; cet30 < vei e cet50 < vei; Teste de Duncan, $p < 0,05$; indicado em **B** da figura 5). Contudo, o efeito da cetamina variou em função do dia e intervalo (rANOVA: TRATAMENTO x DIA x INTERVALO - $F_{(15,2;335,3)} = 1,89$, $p < 0,05$; TRATAMENTO x DIA - $F_{(6;132)} = 2,33$, $p < 0,05$; TRATAMENTO x INTERVALO - $F_{(7,7;170,1)} = 6,61$, $p < 0,001$). Embora tendo a menor autolimpeza, os grupos cet30 e cet50 tiveram o tempo de autolimpeza aumentado ao longo dos 60 minutos de cada teste. Exceto em ind1, o inverso foi identificado no grupo vei, de forma que as diferenças entre os grupos expostos a cetamina e o grupo vei foram reduzidas ou anuladas ao longo dos intervalos. A

análise *post-hoc* detalhada indicou que animais cet30 apresentaram menor tempo de autolimpeza quando comparados ao grupo vei durante os dois ou três primeiros intervalos de todos os dias observados, exceto no segundo intervalo de ind1, onde os animais cet30 apresentaram tempo de autolimpeza intermediário e foram diferentes dos demais grupos. Apesar dos animais cet50 terem apresentado tempo de autolimpeza menor que animais vei (1º e 6º intervalo de ind1 e 1º, 2º e 3º intervalo de ind4, ind7 e TS), em ind1 (2º, 3º e 5º intervalos), o tempo de autolimpeza foi menor que de todos os outros grupos, ou somente menor que animais cet30 (4º de ind1).

A análise longitudinal de cada grupo experimental, considerando o fator dia, indicou que a autolimpeza tanto dos animais cet30 (rANOVA: DIA x INTERVALO - $F_{(9,3;173,9)} = 2,34, p < 0,05$; DIA - $F_{(3;56)} = 3,96, p < 0,05$) quanto dos animais cet50 (rANOVA: DIA x INTERVALO - $F_{(9,8;209,6)} = 2,56, p < 0,01$) variou ao longo dos dias e intervalos de teste. A comparação entre cada intervalo nos diferentes dias de teste indicou diferenças pontuais em alguns intervalos (figura 5). O teste *post-hoc* de Duncan mostrou que dentro do grupo cet30 foi exibido menor tempo de autolimpeza no segundo intervalo de ind4 e ind7 quando comparados ao mesmo intervalos de ind1, além disso animais cet30 apresentaram menor tempo de autolimpeza no 5º intervalo de ind4 em comparação ao mesmo intervalo dos demais dias. Já o grupo cet50 exibiu aumentado tempo de autolimpeza no segundo intervalo do TS em comparação ao mesmo intervalo dos demais dias.

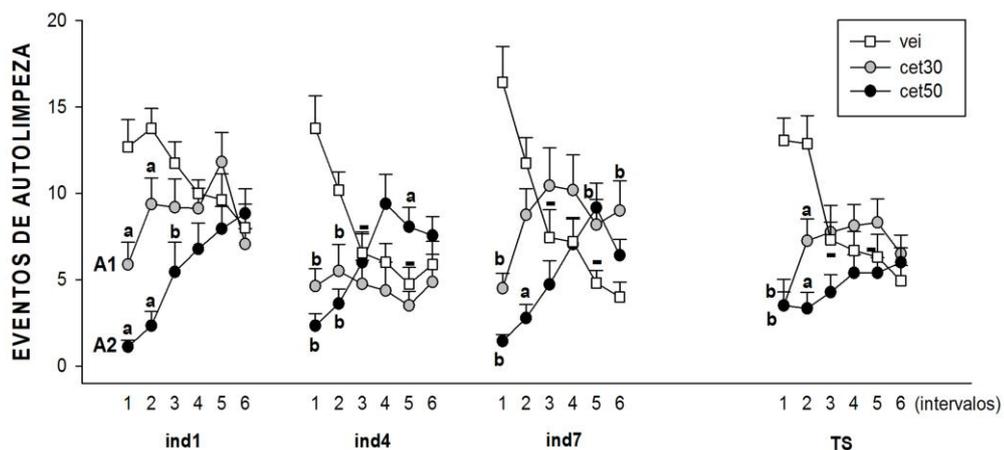
Figura 5 – Efeitos das administrações de cetamina (i.p.) sobre o tempo de autolimpeza no campo aberto



Legenda: Quantificação obtida através do tempo de autolimpeza exibida nos dias 1 (ind1), 4 (ind4) e 7 (ind7) da fase de indução e durante o teste de sensibilização (TS). Os 60 minutos de teste foram divididos em 6 intervalos de 10 min. ve = veículo, cet30 = cetamina 30 mk/kg e cet50 = cetamina 50 mk/kg. Comparação global entre os grupos: B = tempo de autolimpeza menor que ve. Comparações entre os grupos a cada dia analisado: a = diferente de todos os outros grupos, b = diferente do grupo ve e c = diferente do grupo cet30. Comparações de cada grupo ao longo dos dias analisados: - = cet30 diferente de ind1 nos intervalos marcados e - = cet50 diferente de ind1 e ind7 nos intervalos marcados. Valores representados em média \pm erro padrão da média. Diferenças reveladas pelo teste *post-hoc* de Duncan ($p < 0,05$).

Fonte: O autor, 2016.

Figura 6 – Efeitos das administrações de cetamina (i.p.) sobre os eventos de autolimpeza no campo aberto



Legenda: Quantificação obtida através do número de autolimpeza exibida nos dias 1 (ind1), 4 (ind4) e 7 (ind7) da fase de indução e durante o teste de sensibilização (TS). Os 60 minutos de teste foram divididos em 6 intervalos de 10 min. ve = veículo, cet30 = cetamina 30 mk/kg e cet50 = cetamina 50 mk/kg. Comparação global entre os grupos: A = todos os grupos são diferentes de todos, sendo que A1 possui média de eventos de autolimpeza superior a de A2. Comparações entre os grupos a cada dia analisado: a = diferente de todos os outros grupos e b = diferente do grupo ve. Comparações de cada grupo ao longo dos dias analisados: - = ve diferente de ind1 nos intervalos marcados. Valores representados em média \pm erro padrão da média. Diferenças reveladas pelo teste *post-hoc* de Duncan ($p < 0,05$).

Fonte: O autor, 2016.

Diferente do ocorrido no tempo de autolimpeza, onde cet30 e cet50 foram igualmente menores que o grupo vei, a análise global para os eventos de autolimpeza mostrou que todos os grupos se mostraram diferentes entre si (rANOVA: TRATAMENTO - $F_{(2;44)} = 11,56, p < 0,001$). Os grupos cet30 e cet50 apresentaram menos eventos de autolimpeza que o grupo vei, enquanto que cet30 apresentou mais eventos que cet50 (cet50 < cet30 < vei; Teste de Duncan, $p < 0,05$).

Os eventos de autolimpeza também variaram em função do dia e do intervalo (rANOVA: TRATAMENTO X DIA X INTERVALO - $F_{(19,8;434,9)} = 2,20, p < 0,005$; TRATAMENTO X DIA - $F_{(6;132)} = 2,78, p < 0,05$; TRATAMENTO x INTERVALO - $F_{(6,0;132,6)} = 25,15, p < 0,001$). Nos intervalos iniciais os grupos cet30 e cet50 apresentaram menos eventos de autolimpeza que o grupo vei. Contudo, ambos os grupos expostos a cetamina tiveram seus eventos de autolimpeza retomados ao longo dos 60 minutos de cada teste. O inverso foi identificado no grupo vei que apresentou redução dos eventos de autolimpeza em todos os dias analisados. A análise *post-hoc* detalhada indicou que camundongos cet30 apresentaram eventos de autolimpeza intermediário e diferente dos outros grupos nos dois primeiros intervalos de ind1. Embora o grupo cet30 tenha mostrado menor número de eventos de autolimpeza quando comparado a vei nos dois primeiros intervalos de ind4 e no primeiro intervalo de ind7, ele novamente apresenta os mesmos níveis intermediários e diferentes dos outros grupos no segundo intervalo do TS. O grupo cet50 apresentou uma diminuição dos eventos de autolimpeza quando comparado ao vei no 3º intervalo de ind1, no 1º e 2º intervalo de ind4 e no 1º intervalo de ind7 e TS. Houve uma exceção no 5º intervalo de ind7, no qual os eventos de autolimpeza do grupo cet50 superaram os de vei. O grupo cet50 exibiu menos eventos de autolimpeza quando comparado a todos os grupos nos dois primeiros intervalos de ind1 e no 2º intervalo de inde7 e TS. Houve outra exceção, só que no 5º intervalo de ind4, onde os eventos de autolimpeza do grupo cet50 superaram todos os outros grupos.

A análise de cada grupo experimental ao longo dos dias quantificados revelou para alguns intervalos um decréscimo dos níveis de evento de autolimpeza exibido por camundongos vei (rANOVA: DIA x INTERVALO - $F_{(11,5;215,3)} = 1,81, p < 0,05$; DIA - $F_{(3;56)} = 2,84, p < 0,05$). O teste *post-hoc* de Duncan mostrou que camundongos vei apresentaram uma diminuição dos eventos de autolimpeza tanto no 3º quanto no 5º intervalo de ind4, ind7 e TS quando comparados aos mesmos intervalos de ind1.

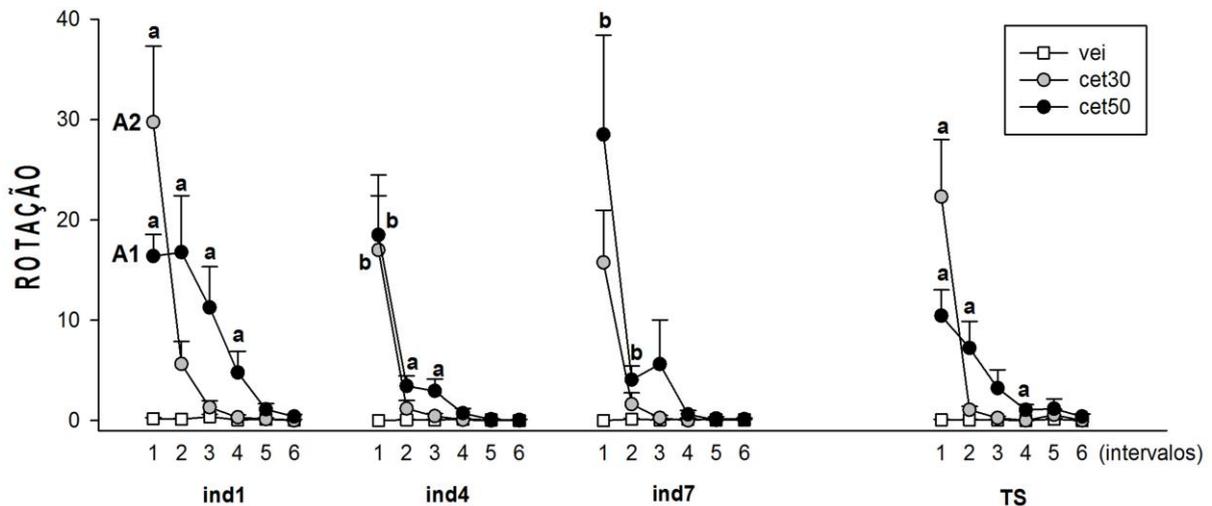
3.2.4 Rotação (figura 7)

Enquanto o grupo *vei* raramente apresentou rotação em torno do próprio eixo, os grupos *cet30* e *cet50* apresentaram um aumento de tal comportamento, sendo que o número de rotações exibido por animais *cet50* superou o de animais *cet30* (rANOVA: TRATAMENTO - $F(2;44) = 27,92$, $p < 0,001$; $\text{cet50} > \text{cet30} > \text{vei}$; Teste de Duncan, $p < 0,05$).

Os efeitos da cetamina sobre a rotação também variaram em função do dia e do intervalo (rANOVA: TRATAMENTO x DIA x INTERVAL - $F_{(7,5;165,2)} = 2,08$, $p < 0,05$; TRATAMENTO x INTERVALO - $F_{(3,2;70,1)} = 14,55$, $p < 0,001$). Este comportamento foi observado nos primeiros intervalos de cada dia de teste, mas sua frequência foi reduzida ao longo dos intervalos até atingir os níveis identificados em animais *vei*. De fato, o teste *post-hoc* de Duncan indicou que camundongos *cet30* apresentaram eventos de rotação em *ind1*, *ind4* e *TS* apenas no primeiro intervalo. A diferença estatística de *cet30* quando comparada a todos os outros grupos aparece em *ind1*, se iguala ao grupo *cet50* em *ind4* (*cet30* apresenta diferenças somente com relação ao *vei*), desaparece em *ind7* e ressurge no primeiro intervalo de *TS* com níveis de rotação que diferenciam *cet30* de todos os outros grupos novamente. Os animais *cet50* pareceram exibir eventos de rotação de forma mais persistente que animais *cet30*. Isso porque embora o grupo *cet50* tenha apresentado atividade menor que *cet30* no primeiro intervalo de *ind1* e *TS* (menor, porém diferente de *vei*), ele exibiu os maiores eventos de rotação no 2º, 3º e 4º intervalo de *ind1*, no 2º e 3º intervalo de *ind4* e no 2º e 4º intervalo do *TS*.

A análise longitudinal de cada grupo experimental ao longo dos dias quantificados indicou que a cetamina não produziu alterações progressivas no comportamento de rotação.

Figura 7 – Efeitos das administrações de cetamina (i.p.) sobre a rotação no campo aberto



Legenda: Quantificação obtida através do número de rotações exibida nos dias 1 (ind1), 4 (ind4) e 7 (ind7) da fase de indução e durante o teste de sensibilização (TS). Os 60 minutos de teste foram divididos em 6 intervalos de 10 min. vei = veículo, cet30 = cetamina 30 mk/kg e cet50 = cetamina 50 mk/kg. Comparação global entre os grupos: A = todos os grupos são diferentes de todos, sendo que A1 apresentou número de rotações superior a A2. Comparações entre os grupos a cada dia analisado: a = diferente de todos os outros grupos e b = diferente do grupo vei. Valores representados em média \pm erro padrão da média. Diferenças reveladas pelo teste *post-hoc* de Duncan ($p < 0,05$).

Fonte: O autor, 2016.

3.2.5 Queda (figura 8)

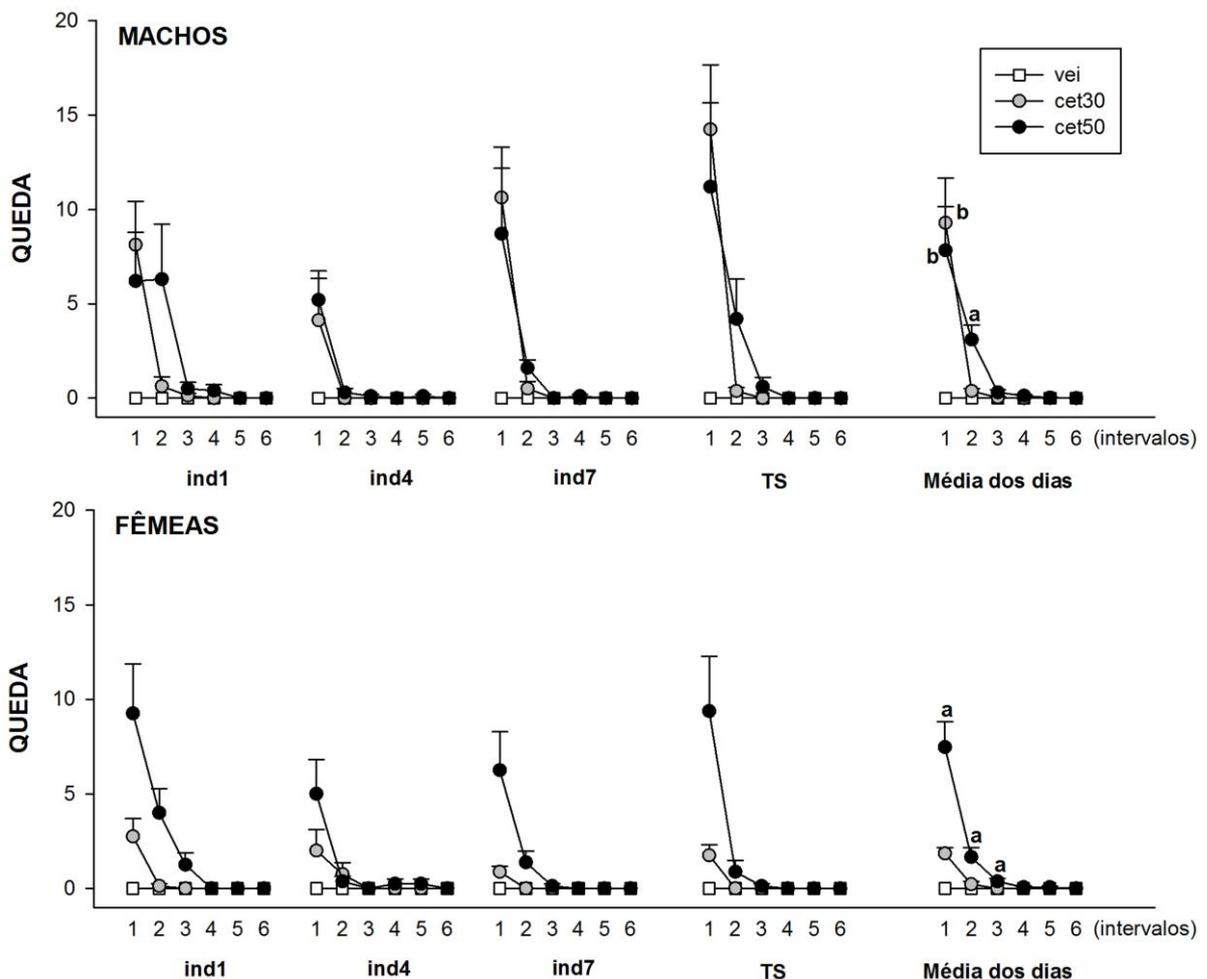
Ambas as doses de cetamina induziram comportamento de queda, com maior frequência nos animais cet50 quando comparados aos animais cet30. Tal efeito não foi observado no grupo vei (rANOVA: TRATAMENTO - $F_{(2;44)} = 18,45$, $p < 0,001$; cet50 > cet30 > vei; Teste de Duncan, $p < 0,05$).

No desdobramento estatístico, pode-se dizer que os efeitos da cetamina sobre os eventos de queda variaram apenas em função dos intervalos e do sexo (rANOVA: TRATAMENTO x INTERVALO x SEX - $F_{(2,3;50,6)} = 3,48$, $p < 0,05$; TRATAMENTO x INTERVAL - $F_{(2,3;50,6)} = 11,58$, $p < 0,001$), independente dos dias. Assim, o teste *post-hoc* de Duncan com base na média de cada intervalo revelou que camundongos machos cet30 apresentaram aumento de eventos de queda quando comparados ao vei apenas no primeiro intervalo. Os camundongos machos cet50 apresentaram aumento de eventos de queda no 1º intervalo quando

comparados ao vei e no 2º intervalo quando comparado a todos os grupos. Quanto as fêmeas, o grupo cet50 apresentou aumento de eventos de queda nos 3 primeiros intervalos quando comparado as fêmeas de outros grupos. Os eventos de queda dessas fêmeas foi reduzido progressivamente até perderem significância no 4º intervalo.

A análise longitudinal de cada grupo experimental ao longo dos dias quantificados indicou que a cetamina não produziu alterações progressivas no comportamento de queda.

Figura 8 – Efeitos das administrações de cetamina (i.p.) sobre a queda no campo aberto



Legenda: Quantificação obtida através do número de quedas exibidos nos dias 1 (ind1), 4 (ind4) e 7 (ind7) da fase de indução e durante o teste de sensibilização (TS). Os 60 minutos de teste foram divididos em 6 intervalos de 10 min. vei = veículo, cet30 = cetamina 30 mk/kg e cet50 = cetamina 50 mk/kg. Comparações entre os grupos utilizando as médias dos dias em cada intervalo: a = diferente de todos os outros grupos e b = diferente do grupo vei. Valores representados em média \pm erro padrão da média. Diferenças reveladas pelo teste *post-hoc* de Duncan ($p < 0,05$).

Fonte: O autor, 2016.

3.3 Discussão

Os dados obtidos a partir do experimento 1 mostraram que a cetamina tanto na dose de 30 quanto na de 50 mg/kg produziu aumento da atividade locomotora ao longo da fase de indução e após um período de retirada, mantendo o mesmo padrão locomotor. Isso permite sugerir que a cetamina desenvolveu e expressou uma resposta locomotora sensibilizada, a qual é caracterizada por um aumento progressivo do comportamento e/ou uma hipersensibilidade comportamental duradoura à droga após cessação do tratamento (CADOR; BJIJOU; STINUS, 1995).

Neste aspecto, apesar de ambas as doses terem causado hipersensibilidade comportamental, houve algumas particularidades. A análise longitudinal mostrou que enquanto os animais repetidamente expostos a dose de 30 mg/kg apresentaram crescente atividade locomotora na comparação dos primeiros intervalos dos testes entre ind1 e os demais dias da fase de indução e teste de sensibilização, a intensidade da resposta causada pela dose de 50 mg/kg não sofreu alteração na comparação dos intervalos ao longo dos dias. Este resultado indica que somente a dose de 30 mg/kg causou aumento progressivo da atividade locomotora. Além disso, a intensidade da resposta locomotora induzida pela dose de 30 mg/kg foi maior que a resposta induzida pela dose de 50 mg/kg no primeiro intervalo de todos os dias analisados. Com base nestes achados, para os experimentos subsequentemente descritos nessa tese, utilizamos somente a dose de 30 mg/kg.

De fato, a literatura apresenta evidências de que a cetamina produz aumento da locomoção em doses subanestésicas (IRIFUNE; SHIMIZU; NOMOTO, 1991; UCHIHASHI et al., 1993; IRIFUNE et al., 1998; TRUJILLO; ZAMORA; WARMOTH, 2008). Uchihashi e colaboradores (1993) verificaram que camundongos testados no campo aberto 1,5 hora após uma injeção de cetamina 50 mg/kg, apresentaram um aumento progressivo da atividade locomotora no tempo total de 30 minutos de exposição ao campo aberto. Esse padrão comportamental ao longo dos 5 dias de teste (cada dia separado por intervalos de 3 a 4 dias) foi um indicativo de desenvolvimento da sensibilização comportamental, interessante chamada pelos autores de tolerância inversa. Há outras doses na literatura sugerindo o aumento da atividade locomotora induzida por cetamina. Por exemplo, Trujillo e

colaboradores (2008) mostraram que administrações semanais de cetamina 20 mg/kg levaram ao desenvolvimento da sensibilização comportamental.

Nossos achados também indicaram que, somente no primeiro dia da fase de indução, o aumento da atividade locomotora identificada no grupo cet50 foi mais duradouro que a resposta do grupo cet30. Estes resultados estão de acordo com Irifune e colaboradores (1991), os quais mostraram em um tratamento agudo que a cetamina 30 mg/kg produziu um rápido aumento da locomoção nos primeiros 10 minutos de teste seguido de um decréscimo enquanto que a dose de 50 aumentou os níveis de locomoção de forma gradual. De modo que, por volta dos 20 minutos, a dose de 50 mg/kg ao mesmo tempo que tem seu pico de locomoção, iguala-se a dose de 30.

Em contrapartida, não se pode deixar de mencionar uma outra parcela da literatura que, de uma certa forma, refuta os resultados aqui encontrados. Por exemplo, Becker e colaboradores (2003) verificaram que a cetamina 30 mg/kg diminuiu a atividade locomotora de ratos e que a atividade se igualou ao grupo veículo somente no 5º dia de tratamento. Mais recentemente, Akillioglu e colaboradores (2012), verificaram que o aumento da atividade locomotora induzido pela cetamina (10 mg/kg) foi dependente da cepa de camundongo analisada, o que sugere que fatores hereditários podem desempenhar um importante papel na resposta locomotora induzida por cetamina.

Além disso a associação de cetamina a algumas drogas que normalmente produzem sensibilização comportamental, não maximiza seus efeitos locomotores. Tanto que Karler e colaboradores (1990) mostraram que a cetamina bloqueia a o desenvolvimento da sensibilização comportamental induzida por anfetamina. Meyer e Phillips (2007) revelaram que o desafio tanto com cetamina 10 mg/kg quanto com 20 mg/kg diminuiu a atividade locomotora de animais sensibilizados para o etanol, não havendo sensibilização cruzada entre etanol e cetamina. Uzbay e colaboradores (2000) mostraram que o pré-tratamento com cetamina inibiu a exacerbação locomotora produzida por cocaína.

Embora haja tais divergências na literatura, achados neuroquímicos parecem sustentar os resultados encontrados no experimento 1. Yamamoto e colaboradores (2016), utilizando camundongos *knockout*, mostraram que a supressão genética da subunidade GluN2D do receptor NMDA bloqueou completamente os efeitos da cetamina tanto para ativação comportamental aguda quanto para o desenvolvimento

da sensibilização comportamental. Ou seja, além de demonstrarem a sensibilização comportamental, tais autores ainda revelaram o papel crucial da subunidade GluN2D, do receptor glutamatérgico, sobre o desenvolvimento da sensibilização comportamental induzida por cetamina.

Nesse mesmo sentido, outros paradigmas neuroquímicos estão implicados no desenvolvimento e/ou expressão da sensibilização comportamental. Há evidências de que a sensibilização evocada pela cetamina tem a participação do sistema dopaminérgico. Irifune e colaboradores (1998) mostraram que a cetamina 30 mg/kg ao mesmo tempo que aumentou os índices de atividade locomotora, aumentou também os níveis de dopamina no núcleo acumbente. Além disso, apesar da cetamina ser um antagonista NMDA, Kapur e Seeman (2002) mostraram haver uma afinidade entre cetamina e receptores D2 e 5-HT₂, sugerindo que a cetamina desempenha também um papel de agonista dos respectivos receptores. Vale lembrar que a mesma afinidade por ambos receptores também foi exibida pela fenciclidina (KAPUR; SEEMAN, 2002), também um antagonista não competitivo de receptores NMDA, sendo um anestésico anterior a cetamina e igualmente causador de diversos efeitos psicodélicos (JANSEN, 1997).

As ações da fenciclidina, assim como do MK-811, por sua vez, reforçam a hipótese deste trabalho. Foi demonstrado que estes antagonistas glutamatérgicos não competitivos de receptores NMDA, a semelhança da cetamina, produzem sensibilização do comportamento locomotor (XU; DOMINO, 1994).

No que tange o início e a elaboração desta tese, o presente experimento foi o primeiro e serviu como diretriz para os experimentos subsequentes (próximos capítulos). O experimento 1 se baseou no trabalho de Irifune e colaboradores (1991) para a escolha das doses. Dessa forma escolhemos as doses já conhecidas (30 e 50 mg/kg) e iniciamos experimentos pilotos, nos quais foram observados comportamentos espontâneos além da locomoção, que se repetiam em animais expostos a cetamina. É comum a verificação da autolimpeza e do número de levantamentos, pois são comportamentos que competem diretamente com a atividade locomotora, Trujillo e colaboradores (2008) também verificaram estes dois comportamentos. Contudo, outras duas condutas tornaram-se repetitivas. Por isso, os pesquisadores envolvidos na presente tese padronizaram tais comportamentos que estão sendo chamados aqui de rotação e queda. O levantamento, a autolimpeza, a rotação e a queda foram quantificados no experimento 1 a fim de

conhecer possíveis efeitos de tolerância ou sensibilização em animais expostos à cetamina.

Administrações semanais de cetamina nos experimentos de Trujillo e colaboradores (2008) revelaram que a dose de 20 mg/kg não produziu alterações no levantamento de ratos, enquanto a dose de 50 mg/kg induziu um aumento significativo do levantamento na 5ª semana quando comparada a 1ª. Entretanto, Akillioglu e colaboradores (2012) mostraram que as doses de 1, 5 e 10 mg/kg de cetamina diminuíram o levantamento de camundongos da linhagem C57BL/6, mas não da linhagem BALB/C. Além disso, Popik e colaboradores (2008) mostraram que a cetamina na dose de 50 mg/kg produziu uma diminuição no levantamento, não alterando a distância percorrida. Os resultados encontrados no experimento 1 para o número de levantamentos foram consistentes com os últimos autores, pois foi encontrado aqui que ambas as doses de cetamina diminuíram o número de levantamentos, pelo menos até os 20 primeiros minutos de teste. Cabe mencionar ainda que nossos resultados mostraram que a cetamina causou efeitos opostos nos levantamentos e na atividade locomotora. Isto sugere que os mecanismos responsáveis por cada resposta comportamental sejam diferentes e possivelmente independentes. Contudo, não podemos descartar a possibilidade de uma competição direta entre os comportamentos.

Há autores que tentam explicar a diminuição dos eventos de levantamento, baseando-se na ataxia produzida pela cetamina (POPIK et al., 2008; TRUJILLO; ZAMORA; WARMOTH, 2008; AKILLIOGLU et al., 2012). De fato, também foi proposto que a tolerância da ataxia explicaria o aumento progressivo da atividade locomotora, de forma que a redução progressiva de irregularidades da coordenação muscular poderia permitir o aumento da locomoção. Porém, esta hipótese não foi confirmada, uma vez que a utilização do teste do *rotarod* mostrou que repetidas administrações de 50 mg/kg de cetamina não produziram tolerância da ataxia (UCHIHASHI et al., 1993). Em outras palavras, mesmo a ataxia se mantendo igual ao longo dos dias, houve uma progressão da atividade locomotora, caracterizando a sensibilização comportamental, o que é consistente aos nossos achados. Por fim, é uma possibilidade bastante viável a ataxia comprometer mais acentuadamente a atividade locomotora vertical quando comparada a atividade horizontal, pois durante a realização do levantamento, é necessário que o animal ajeite sua postura para ascender verticalmente tendo como base apenas as patas traseiras. Assim, a

incapacidade dos efeitos atáxicos da cetamina em impedir a sensibilização locomotora, não descarta a possibilidade desse mesmo fenômeno, juntamente com a competição do comportamento locomotor horizontal exacerbado, ter diminuído o número de levantamento de animais tratados com cetamina.

Quanto a perda de postura (aqui chamada de “queda”) identificada nos animais expostos a ambas as doses de cetamina, o presente experimento não se ateve em distinguir se esta foi gerada por danos no equilíbrio ou se indica uma forma exacerbada de ataxia. Simplesmente foram quantificados os eventos de queda a fim de verificar o quão relevantes eles seriam. Os resultados revelaram que embora ambas as doses tenham produzido significativos eventos de queda, a dose de 50 mg/kg produziu maior frequência de tal comportamento comparada a outros tratamentos. Por outro lado, a análise das médias dos intervalos demonstraram que a cetamina 50 mg/kg produziu eventos de queda em ambos os sexos pelo menos nos 20 primeiros minutos, enquanto que a dose de 30 mg/kg só gerou alterações significativas na queda dos machos durante os 10 primeiros minutos. Talvez os machos sejam mais suscetíveis a este tipo de comportamento que fêmeas. Há de se convir que independente do sexo a cetamina foi capaz de produzir aumento dos eventos não só neste experimento, mas também no trabalho de Gerritsmann e colaboradores (2012), os quais apesar de utilizarem cetamina associada a medetomidina em lebres (*Lepus europaeus*), estão consistentes com nossos achados ao mostrarem que tanto a cetamina racêmica quanto a S-cetamina produziram eventos de queda nestes animais, sendo que os maiores índices de eventos de queda foram produzidos pela cetamina racêmica, o mesmo tipo de cetamina utilizado no presente trabalho.

Finalmente, não podemos descartar que os eventos de queda identificados em ambos os grupos de animais expostos a cetamina tenham interferido na resposta locomotora horizontal. Porém, os animais expostos a cetamina apresentaram a maior intensidade de resposta locomotora justamente nos mesmos intervalos que foram identificados os eventos de queda, sugerindo assim, papel pouco relevante destes eventos, na resposta sensibilizada.

Hetzler e Wautlet (1985) descreveram que injeções de cetamina (50 mg/kg) geraram ataxia com o animal caindo lateralmente, balançando o corpo e a cabeça e fazendo rotações fechadas. Consistente a isso estão os resultados do experimento 1, sendo mostrado que ambas as doses promoveram, além dos eventos de queda,

um aumento significativo do número de rotações em torno do próprio eixo. Contudo, houve algumas diferenças entre as doses de cetamina. Por exemplo, enquanto a dose de 30 mg/kg externou seus efeitos sobre a rotação somente nos 10 primeiros minutos, a de 50 mg/kg se estendeu geralmente até os 40 minutos de teste. Adicionalmente, a pesquisa de Myslobodsky e colaboradores (1979) além de mostrar a indução da rotação por meio de administrações de cetamina, também sugeriu que os mecanismos desencadeadores desse comportamento eram dopaminérgicos. Partindo disso, a rotação pode ser um valioso comportamento para fundamentar a relação entre sensibilização comportamental induzida por cetamina e sistema dopaminérgico. Apontando para este mesmo sentido, o agonista indireto da dopamina, anfetamina, ao mesmo tempo que produz classicamente sensibilização comportamental (CADOR; BJIJOU; STINUS, 1995; AGO et al., 2006; JONES et al., 2014; STEINKELLNER et al., 2014), induz o comportamento de rotação mesmo quando administrado intraperitonealmente (KOKKINIDIS; ANISMAN, 1977, 1979).

Vale ressaltar que os comportamentos de levantamento, queda e rotação não apresentaram diferenças ao longo dos dias em nenhum dos intervalos, ou seja, foram inexistentes os efeitos sensibilizadores para tais comportamentos. Somente a locomoção, já discutida, e a autolimpeza se destacaram quanto as diferenças ao longo dos dias. Curiosamente, a cetamina diminuiu tanto o tempo quanto os eventos de autolimpeza nos primeiros minutos de teste com ambas as doses. Contudo, somente a dose de 30 mg/kg levou, especificamente no segundo intervalo, à progressiva diminuição no tempo de autolimpeza, mas não nos eventos de autolimpeza, ao longo dos dias da fase de indução. Dessa forma os dados permitem supor duas explicações. Na primeira, que a cetamina produziu efeitos inibitórios cada vez maiores na fase de indução, caracterizando uma resposta sensibilizada para o tempo de autolimpeza. Já na segunda, que a progressão do comportamento locomotor comprometeu a autolimpeza de forma gradual. Os resultados da autolimpeza do experimento 1 são consistentes com Carey e colaboradores (2008), que mostraram uma autolimpeza inversamente proporcional a locomoção induzida por cocaína, ou seja, enquanto a atividade locomotora foi exacerbada pela cocaína, a autolimpeza foi diminuída. Assim, é provável que os resultados da autolimpeza sejam complementares e reflitam os efeitos da sensibilização locomotora induzida por cetamina. Contudo, não podemos descartar a possibilidade destes serem eventos independentes e associados a mecanismos distintos.

Em linhas gerais, o experimento 1 revelou que a cetamina foi capaz de desenvolver e expressar uma resposta locomotora sensibilizada e os demais comportamentos serviram de suporte para melhor compreensão do fenômeno. Os resultados da atividade locomotora e da autolimpeza reafirmam a ideia de que os efeitos comportamentais da cetamina têm a participação do sistema dopaminérgico. De uma certa forma já se conhece algo sobre sensibilização comportamental induzida por cetamina e sua correlação com o sistema dopaminérgico e serotoninérgico. Apesar de produzir resposta sensibilizada a semelhança de agonistas dopaminérgicos, ainda são escassos os trabalhos publicados com modelos de exposição a cetamina.

Pensando nisso, a presente tese de doutorado elaborou um modelo experimental, delineado no experimento 1, que se aproximasse dos modelos: a) de sensibilização comportamental com agonistas dopaminérgicos e serotoninérgicos; b) de sensibilização cruzada com estes mesmos agonistas; c) de verificação da reversão do desenvolvimento e/ou expressão da sensibilização mediante a utilização de antagonistas alvo de estudo e; d) de resposta locomotora condicionada e sensibilização locomotora dependente do contexto. Foi com base na capacidade da dose 30mg/kg de cetamina em causar aumento progressivo da atividade locomotora (o que não foi visto na dose de 50 mg/kg), em um maior destaque no comportamento de autolimpeza, uma menor indução de eventos de queda e uma atividade locomotora mais destacada, principalmente nos primeiros minutos do teste, que adotamos utilizar somente esta dose de cetamina em experimentos subsequentes. Além de permitir o estudo com antagonistas (experimentos 2 e 3 – capítulo 4), priorizar uma dose de rápido efeito locomotor propiciaria estudar a resposta locomotora condicionada e a sensibilização dependente do contexto (experimento 4 – capítulo 5). Visto isso, o experimento 2 e 3 se propuseram a investigar os efeitos da cetamina sobre o desenvolvimento e expressão da sensibilização comportamental mediante ao tratamento prévio de racloprida (antagonista dopaminérgico D2) e cetanserina (antagonista serotoninérgico 5-HT2), respectivamente. E o experimento 4 se ateve em investigar o quão a cetamina seria capaz de produzir uma resposta locomotora condicionada e sensibilizada dependente do contexto.

4 EXPERIMENTOS 2 E 3: A PARTICIPAÇÃO DOS SISTEMAS DOPAMINÉRGICO E SEROTONINÉRGICO SOBRE A RESPOSTA LOCOMOTORA DESENVOLVIDA E SENSIBILIZADA POR CETAMINA

4.1 Procedimento específico

A verificação da participação dos sistemas dopaminérgico e serotoninérgico na atividade locomotora desenvolvida e expressada pela cetamina foi viabilizada pela utilização de antagonistas. No experimento 2 utilizou-se o antagonista de receptores D2, racloprida, a fim de compreender especificamente o quão importante o receptor D2 é no modelo aqui utilizado. Sob a mesma justificativa, utilizou-se no experimento 3 o antagonista de receptores 5-HT₂, cetanserina. Todos os animais foram submetidos ao seguinte protocolo experimental.

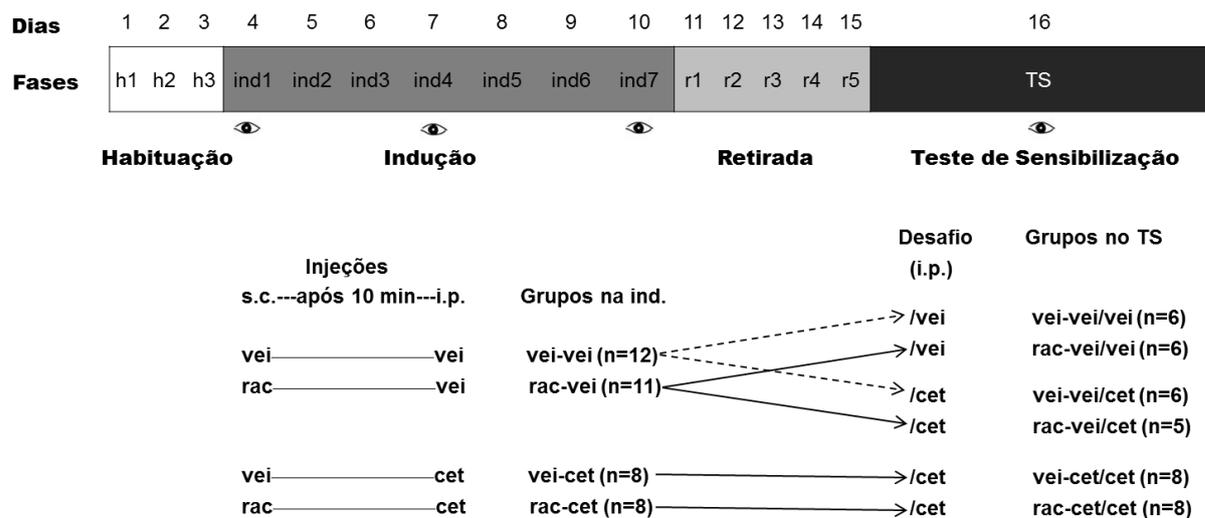
O **experimento 2** (figura 9) foi composto por 4 fases, sendo elas de habituação (já descrita no item 2.4 do material e métodos), de indução, de retirada e teste de sensibilização (desafio a droga). Foram utilizados camundongos Swiss adultos (PN75 a PN90) apenas do sexo masculino, devido à ausência de diferenças significativas entre os sexos no experimento 1. Após a **habituação**, iniciou-se a fase de **indução**, onde os camundongos receberam por 7 dias consecutivos uma injeção (s.c.) diária de veículo (vei) ou racloprida (rac), a qual foi sucedida após 10 minutos por outra injeção (i.p.) de veículo ou cetamina (cet). Dessa forma, foram constituídos 4 grupos na fase de indução: vei-vei (n=12), rac-vei (n=11), vei-cet (n=8) e rac-cet (n=8). Estes mesmos grupos, após 5 dias de **retirada**, foram reorganizados para receberem um desafio com uma única injeção (i.p.) de veículo (**/vei**) ou de cetamina (**/cet**).

Desse modo, o teste de sensibilização usou a estratégia de dividir os grupos vei-vei e rac-vei para uma metade ser desafiada com veículo (vei-vei/vei e rac-vei/vei) e a outra com cetamina (vei-vei/cet e rac-vei/cet). Essa subdivisão dos grupos veículos (vei-vei e rac-vei) almejou conhecer os efeitos agudos da cetamina em animais habituados ao ambiente. Já os grupos administrados com cetamina na fase de indução (vei-cet e rac-cet) foram desafiados (i.p.) unicamente com cetamina, constituindo assim os grupos vei-cet/cet e rac-cet/cet. Dessa forma, 6 grupos foram

submetidos ao teste de sensibilização: vei-vei/vei (n=6), rac-vei/vei (n=6), vei-vei/cet (n=6), rac-vei/cet (n=5), vei-cet/cet (n=8) e rac-cet/cet (n=8).

A administração da racloprida 10 minutos antes da cetamina na fase de indução serviu para responder dois questionamentos. Primeiro, se a inibição de D2 bloquearia o desenvolvimento da sensibilização ao longo dos 7 dias de indução. Segundo, se essa mesma inibição refletiria em qualquer alteração na expressão da sensibilização comportamental mesmo após uma fase de retirada. Em todos os dias de teste, exceto na retirada, os animais foram imediatamente colocados no centro do campo aberto após a segunda injeção por um período de 20 minutos, os quais foram divididos em 8 intervalos de 2,5 minutos (a linha temporal do experimento 2 está esquematizada na figura 9).

Figura 9 – Linha temporal do experimento 2



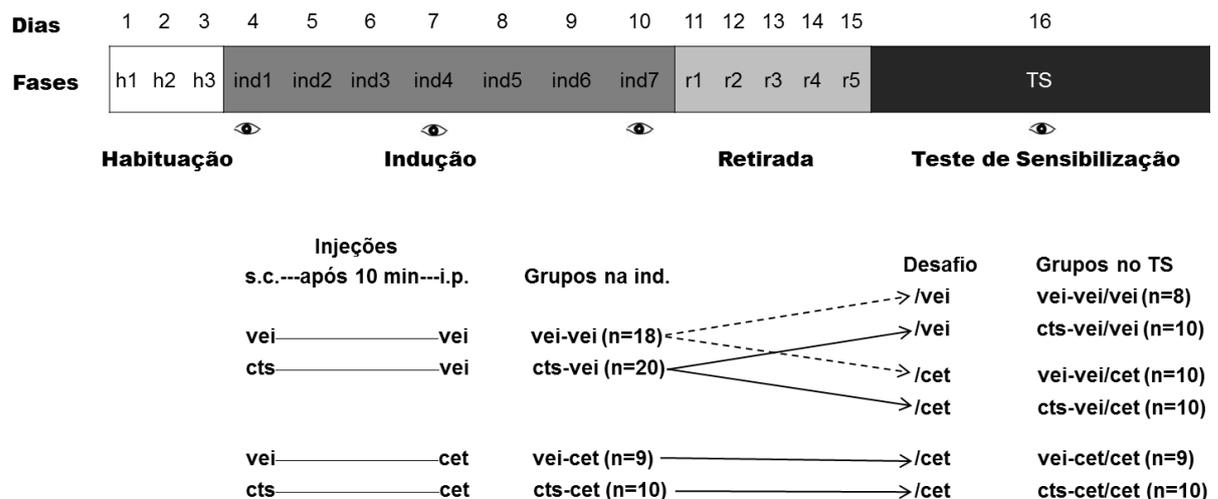
Legenda: s.c. = injeção subcutânea e i.p. = injeção intraperitoneal (ambas administradas diariamente por 7 dias com um intervalo de 10 min, sendo somente a i.p. utilizada no desafio); vei = salina, cet = cetamina 30 mg/kg, rac = racloprida 0,5 mg/kg; min = minutos; TS = Teste de sensibilização; hífen = representa o intervalo de 10 min entre o tratamento s.c. e o i.p.; / = representa a retirada, sendo que o que vem antes da barra foi o tratamento dado durante a indução e após a barra foi o desafio; 👁 : Dias em que as atividades comportamentais foram quantificadas – dias 4 (ind1), 7 (ind4), 10 (ind7), correspondentes ao 1º, 4º e 7º dia da indução, respectivamente, e 16 (TS).

Fonte: O autor, 2016.

Para o **experimento 3** (figura 10) foram utilizados exatamente os mesmos procedimentos do experimento 2. A única diferença esteve no fato do experimento 3 utilizar o antagonista 5-HT₂, cetanserina (cts), em vez da racloprida. Dessa forma, foram constituídos 4 grupos na fase de indução: vei-vei (n=18), cts-vei (n=20), vei-

cet (n=9) e cts-cet (n=10), enquanto que estes grupos, após subdivisão, compuseram 6 grupos os quais foram expostos ao TS: vei-vei/vei (n=8), cts-vei/vei (n=10), vei-vei/cet (n=10), cts-vei/cet (n=10), vei-cet/cet (n=9) e cts-cet/cet (n=10). É de suma importância ressaltar que o experimento 3 foi composto por animais distintos daqueles utilizados no experimento 2.

Figura 10 – Linha temporal do experimento 3



Legenda: s.c. = injeção subcutânea e i.p. = injeção intraperitoneal (ambas administradas diariamente por 7 dias com um intervalo de 10 min, sendo somente a i.p. utilizada no desafio); vei = salina, cet = cetamina 30 mg/kg, cts = cetanserina 3 mg/kg; min = minutos; TS = Teste de sensibilização; hífen = representa o intervalo de 10 min entre o tratamento s.c. e o i.p.; / = representa a retirada, sendo que o que vem antes da barra foi o tratamento dado durante a indução e após a barra foi o desafio; 👁 : Dias em que as atividades comportamentais foram quantificadas – dias 4 (ind1), 7 (ind4), 10 (ind7), correspondentes ao 1º, 4º e 7º dia da indução, respectivamente, e 16 (TS).

Fonte: O autor, 2016.

4.2 Resultados do experimento 2: O papel do antagonista D2, racloprida, sobre o desenvolvimento e expressão da sensibilização comportamental induzida por cetamina

4.2.1 Fase de indução (figura 11)

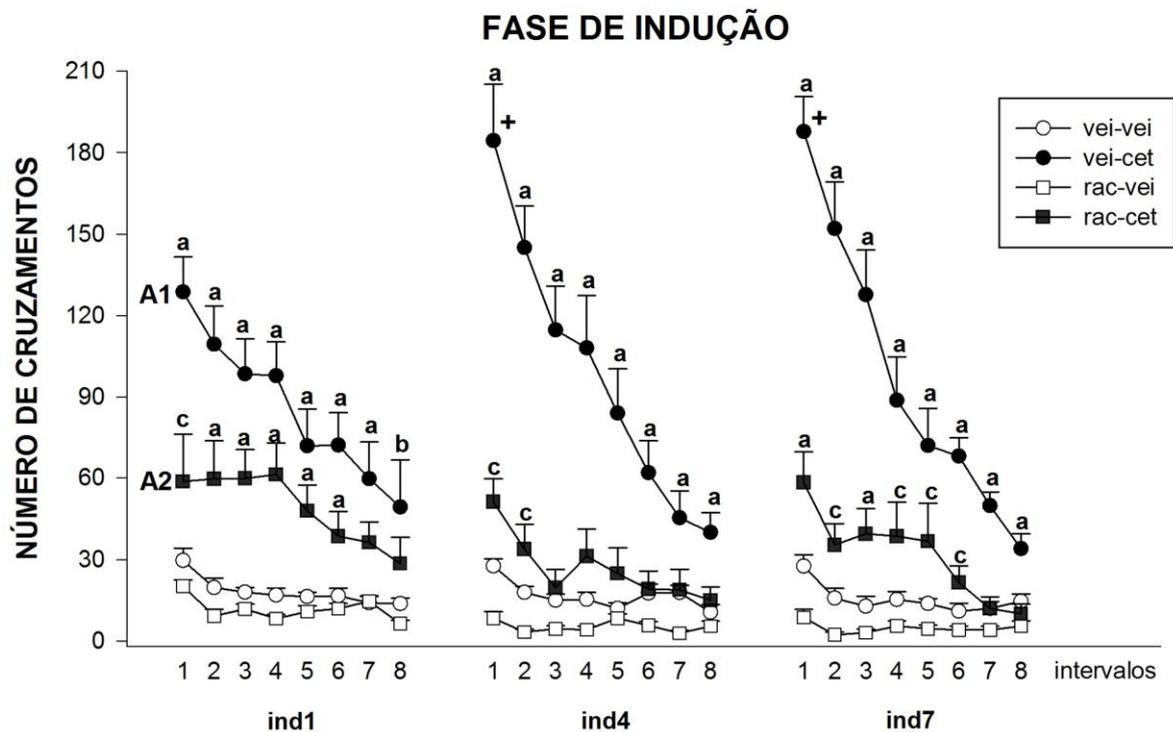
A rANOVA global indicou que, da mesma forma ao que ocorreu no experimento 1, durante a fase de indução, a cetamina produziu um aumento da atividade locomotora, contudo essa exacerbação da locomoção foi drasticamente diminuída pelo antagonista D2, racloprida (rANOVA: TRATAMENTO – $F_{(3;35)} = 85,16$, $p < 0,001$). Foi verificado que o grupo vei-cet apresentou maior atividade locomotora quando comparado a todos os outros grupos, sendo o grupo rac-cet também foi diferente de todos, porém apresentou menor atividade que o grupo vei-cet e maior atividade que vei-vei e rac-vei (vei-cet > rac-cet > vei-vei = rac-vei; Teste de Duncan, $p < 0,05$; indicado em **A1** e **A2** da figura 11).

Ademais, os tratamentos variaram em função do dia e do intervalo (rANOVA: TRATAMENTO x DIA x INTERVALO – $F_{(16,4;190,9)} = 2,83$, $p < 0,001$; TRATAMENTO x INTERVALO – $F_{(7,2;83,9)} = 18,72$, $p < 0,001$). O grupo vei-cet apresentou um pico de locomoção no início de cada dia de teste, enquanto que ao final das sessões experimentais apresentou uma drástica redução de sua atividade, a qual, mesmo decaindo, manteve-se superior a todos os outros grupos. Embora a atividade locomotora do grupo rac-cet tenha sido menor quando comparada ao grupo vei-cet, o padrão de atividade apresentou similaridades quanto a sua curva. Os grupos vei-vei e rac-vei (controles) apresentaram padrão comportamental similar em todos os dias de teste, o qual consistiu em uma atividade locomotora inicial menor que os outros grupos em todos os dias da fase de indução e uma moderada redução da atividade ao longo dos 20 minutos de teste. O teste de Duncan indicou que camundongos vei-cet apresentaram maior atividade locomotora em todos os intervalos de cada dia analisado da fase de indução, exceto no 8º intervalo de ind1, onde a atividade deixou de ser maior que todos os grupos para ser maior apenas que os grupos vei-vei e rac-vei. Apesar de rac-cet ter apresentado atividade locomotora evidentemente menor que vei-cet, ele exibiu atividade superior ao grupo

rac-vei na maioria dos intervalos de ind1 (do 1º ao 6º), ind4 (1º e 2º) e ind7 (do 1º ao 6º), contudo essa mesma superioridade quando comparada ao grupo vei-vei foi constatada apenas em ind1 (2º ao 6º) e nos intervalos iniciais de ind7 (1º e 3º).

A análise longitudinal de cada grupo experimental ao longo dos dias quantificados indicou um aumento progressivo da resposta locomotora apenas de animais do grupo vei-cet (rANOVA: DIA x INTERVALO – $F_{(5,5;57,6)} = 1,91, p < 0,05$). Consistente com os resultados do experimento 1, foi constatado que o grupo vei-cet apresentou maiores índices de locomoção no primeiro intervalo de ind4 e ind7 quando comparado ao mesmo intervalo de ind1 (Teste de Duncan, $p < 0,05$). Em suma, a administração de racloprida preveniu tanto o aumento da atividade locomotora quando a progressão dessa atividade ao longo dos dias de indução, podendo-se dizer que o bloqueio de D2 pela racloprida preveniu o desenvolvimento da sensibilização comportamental.

Figura 11 – Efeitos das administrações de cetamina antecedidas por administrações de racloprida sobre a atividade locomotora no campo aberto



Legenda: Quantificação obtida através do número de cruzamentos exibidos nos dias 1 (ind1), 4 (ind4) e 7 (ind7) da fase de indução. Os 20 minutos de teste foram divididos em 8 intervalos de 2,5 min. vei = veículo, cet = cetamina 30 mg/kg, rac = racloprida 0,5 mg/kg, vei-vei = tratamento com veículo (s.c.) sucedido 10 min depois por veículo (i.p.), vei-cet = tratamento com veículo (s.c.) sucedido 10 min depois por cetamina (i.p.), rac-vei = tratamento com racloprida (s.c.) sucedida 10 min depois por veículo (i.p.) e rac-cet = tratamento com racloprida (s.c.) sucedida 10 min depois por cetamina (i.p.). Comparação global entre os grupos: A = todos os grupos são diferentes de todos, sendo que A1 possui atividade locomotora média maior que os demais grupos enquanto que A2 possui atividade locomotora média maior que vei-cet e menor que os demais grupos. Comparações entre os grupos a cada dia analisado: a = diferente de todos os outros grupos, b = diferente dos grupos vei-vei e rac-vei e c = diferente apenas de rac-vei. Comparações de cada grupo ao longo dos dias analisados: + = vei-cet diferente de ind1 nos intervalos marcados. Valores representados em média \pm erro padrão da média. Diferenças reveladas pelo teste *post-hoc* de Duncan ($p < 0,05$).

Fonte: O autor, 2016.

4.2.2 Teste de sensibilização (figura 12)

Analisando o teste de sensibilização foi possível constatar que o grupo vei-cet/cet apresentou maior atividade locomotora mesmo após o período de retirada, resultado similar ao encontrado no experimento 1. Interessantemente, o grupo rac-cet/cet exibiu atividade locomotora similar aos grupos que foram expostos a

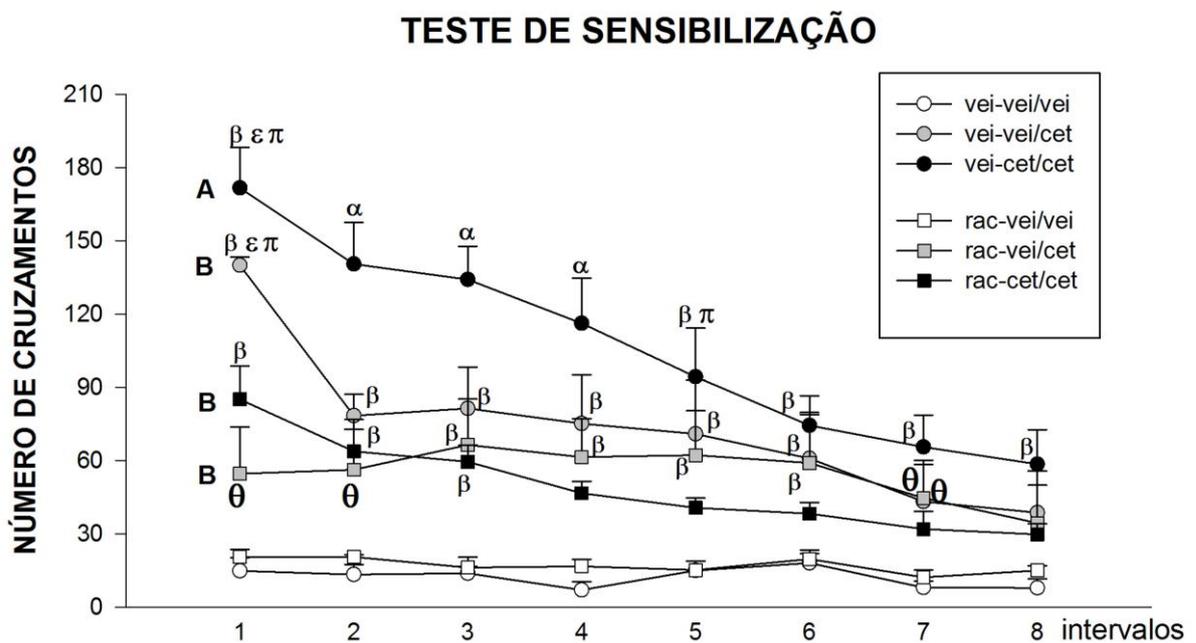
cetamina somente no TS (vei-vei/cet e rac-vei/cet), e menor que a atividade do grupo vei-cet/cet. Além disso, os grupos controles, vei-vei/vei e rac-vei/vei, apresentaram menor atividade locomotora quando comparados a todos os outros grupos (rANOVA: TRATAMENTO – $F_{(5,33)} = 17,15$, $p < 0,001$; vei-cet/cet > vei-vei/cet = rac-vei/cet = rac-cet/cet > vei-vei/vei = rac-vei/vei; Teste de Duncan, $p < 0,05$; indicado em **A** e **B** da figura 12). Brevemente, estes resultados se traduzem na capacidade da racloprida em reduzir o efeito da cetamina sobre a expressão da sensibilização comportamental.

Os efeitos da cetamina juntamente com suas interações farmacológicas variaram em função dos intervalos neste dia (rANOVA: TRATAMENTO x INTERVALO - $F_{(11,1;73,2)} = 3,64$, $p < 0,001$). Similar a fase de indução, o grupo vei-cet/cet apresentou um pico de atividade locomotora nos intervalos iniciais e logo mostra um acentuado declínio ao longo dos 20 minutos de teste. Embora o grupo rac-cet/cet tenha exibido atividade locomotora maior que os controles (vei-vei/vei e rac-vei/vei), seus índices de locomoção foram menores quando comparado ao grupo vei-cet/cet. Assim, a exposição prévia à racloprida preveniu a expressão dos efeitos da cetamina.

Como esperado, mesmo após um primeiro contato com a cetamina, os animais vei-vei/cet apresentaram aumentada atividade locomotora, porém em índices menores que os exibidos por animais vei-cet/cet. Contudo, a racloprida coadministrada com salina na fase de indução não preveniu a exacerbação locomotora de animais desafiados com cetamina (rac-vei/cet), apresentando estes animais uma atividade locomotora semelhante aos vei-vei/cet e superior aos vei-vei/vei e rac-vei/vei. A análise *post-hoc* detalhada indicou que o grupo vei-cet/cet apresentou atividade locomotora superior a todos os grupos no 1º intervalo, exceto quando comparado ao grupo vei-vei/cet. Adicionalmente, o grupo vei-cet/cet teve maior atividade que os grupos vei-vei/vei e rac-vei/vei em todos os intervalos, que o grupo rac-vei/cet do 1º ao 4º e foi superior também ao grupo vei-vei/cet do 2º ao 4º intervalos. O grupo vei-vei/cet foi superior a todos os outros grupos no 1º intervalo, com exceção de vei-cet/cet, foi superior a vei-vei/vei (do 2º ao 6º intervalo) e rac-vei/vei (do 2º ao 7º intervalo) em quase toda a sessão experimental. Adicionalmente, rac-cet/cet apresentou atividade locomotora inferior ao grupo vei-cet/cet do 1º ao 5º intervalo, e superior aos grupos controles (vei-vei/vei e rac-vei/vei) no 1º e 3º intervalo, ficando evidente o papel da racloprida em reduzir a locomoção induzida

pela cetamina. Já o grupo rac-vei/cet mostrou maior atividade locomotora com relação somente ao grupo vei-vei/vei no início do teste (1º intervalo), passando a ser maior que os grupos vei-vei/vei e rac-vei/vei em intervalos intermediários (do 3º ao 6º) e finalmente retomando uma diferença quando comparado somente ao vei-vei/vei (7º) (Teste de Duncan, $p < 0,05$).

Figura 12 – Efeitos do desafio de cetamina, em animais coadministrados com racloprida e cetamina na fase de indução, sobre a atividade locomotora no campo aberto



Legenda: Quantificação obtida através do número de cruzamentos exibidos no teste de sensibilização (TS). Os 20 minutos de teste foram divididos em 8 intervalos de 2,5 min. vei = veículo, cet = cetamina 30 mg/kg, rac = racloprida 0,5 mg/kg, vei-vei/vei = desafio com veículo (i.p.) no TS de animais tratados com veículo (s.c.)+veículo (i.p.) na indução, vei-vei/cet = desafio com cetamina (i.p.) no TS de animais tratados com veículo (s.c.)+veículo (i.p.) na indução, vei-cet/cet = desafio com cetamina (i.p.) no TS de animais tratados com veículo (s.c.)+cetamina (i.p.) na indução, rac-vei/vei = desafio com veículo (i.p.) no TS de animais tratados com racloprida (s.c.)+veículo (i.p.) na indução, rac-vei/cet = desafio com cetamina (i.p.) no TS de animais tratados com racloprida (s.c.)+veículo(i.p.) na indução e rac-cet/cet = desafio com cetamina (i.p.) no TS de animais tratados com racloprida (s.c.)+cetamina (i.p.) na indução. Comparação global entre os grupos: A = maior que todos os outros grupos e B = maior que os grupos vei-vei/vei e rac-vei/vei. Comparações entre os grupos a cada dia analisado: α = diferente de todos os outros grupos, β = diferente de vei-vei/vei e rac-vei/vei, θ = diferente de vei-vei/vei, k = diferente de vei-vei/cet, ε = diferente rac-vei/cet e π = rac-cet/cet. Valores representados em média \pm erro padrão da média. Diferenças reveladas pelo teste *post-hoc* de Duncan ($p < 0,05$).

Fonte: O autor, 2016.

4.3 Resultados do experimento 3: O papel do antagonista 5HT-2, cetanserina, sobre o desenvolvimento e expressão da sensibilização comportamental induzida por cetamina

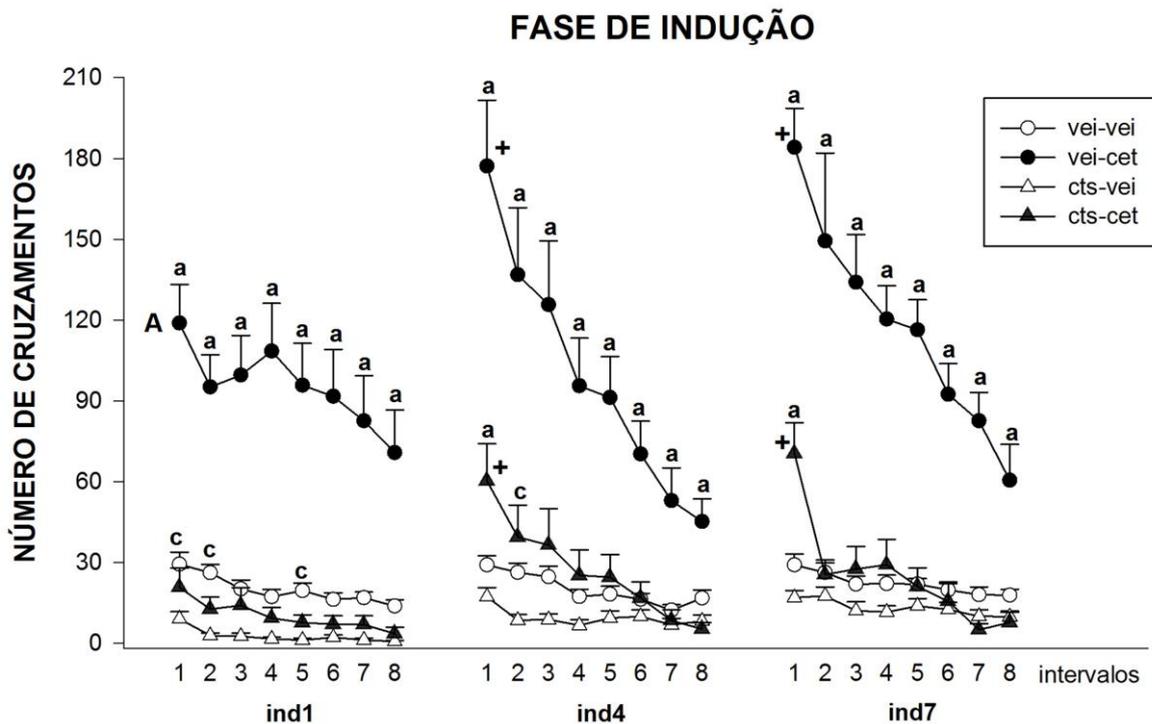
4.3.1 Fase de indução (figura 13)

A cetamina evocou um aumento da atividade locomotora, a qual foi maior com relação a todos os outros grupos (rANOVA: TRATAMENTO $F_{(3;53)} = 81,29$, $p < 0,001$; vei-cet > vei-vei = cts-vei = cts-cet; Teste de Duncan, $p < 0,05$; indicado em **A** da figura 13).

Não obstante, a análise do comportamento ao longo dos dias e intervalos mostrou variações significativas em função do tratamento (rANOVA: TRATAMENTO x DIA x INTERVALO – $F_{(17,9;315,9)} = 4,01$, $p < 0,001$; TRATAMENTO x INTERVALO – $F_{(7,7;135,7)} = 16,51$, $p < 0,001$). De maneira geral o grupo vei-cet se comportou ao longo dos intervalos de maneira consistente aos experimentos anteriores, apresentando o mesmo pico de locomoção seguido de acentuado declínio. Já os grupos controle vei-vei e cts-vei apresentaram padrões comportamentais similares em todos os dias de teste, ou seja, uma atividade locomotora inicial menor que os outros grupos em todos os dias da fase de indução e uma moderada redução da atividade ao longo dos 20 minutos de teste. Interessantemente, a exposição a cetanserina previamente a cetamina (grupo cts-cet) ao mesmo tempo que causou um padrão ao longo do tempo similar aos controles em ind1, causou um pico de atividade locomotora no primeiro intervalo de ind4 e ind7, assemelhando-se ao grupo vei-cet. A análise *post-hoc* detalhada indicou que o grupo vei-cet apresentou a maior atividade locomotora quando comparado a todos os outros grupos em todos os intervalos de ind1, ind4 e ind7. O grupo cts-cet exibiu atividade locomotora diferente de todos os grupos e maior que vei-vei e cts-vei no primeiro intervalo de ind4 e ind7, apresentando também diferença no segundo intervalo de ind4, mas somente tendo média de locomoção maior quando comparado ao grupo cts-vei. Os grupos controles foram iguais entre si durante quase toda a fase de indução, com exceção dos intervalos 1, 2 e 5 de ind1, onde o grupo vei-vei exibiu atividade locomotora superior ao grupo cts-vei (Teste de Duncan, $p < 0,05$).

A análise longitudinal de cada grupo experimental ao longo dos dias quantificados indicou um aumento progressivo da resposta locomotora apenas de animais dos grupos vei-cet (rANOVA: DIA x INTERVALO – $F_{(6,5;77,5)} = 2,21, p < 0,05$) e cts-cet (rANOVA: DIA x INTERVALO – $F_{(7,4;100,0)} = 2,79, p < 0,01$). De acordo com os experimentos 1 e 2, a exposição a cetamina (vei-cet) ao longo da fase de indução resultou em um aumento progressivo da atividade locomotora, de modo que os animais que receberam este tratamento apresentaram maior atividade locomotora no primeiro intervalo de ind4 e ind7 quando comparado ao mesmo intervalo de ind1 (Teste de Duncan, $p < 0,05$). Nesse mesmo sentido, ainda que a cetanserina tenha diminuído a atividade locomotora induzida por cetamina (cts-cet), os efeitos da cetamina sobre a locomoção destes camundongos progrediram a partir do 4º dia da fase de indução (Teste de Duncan, $p < 0,05$). Isso permite supor que apesar da cetanserina ser eficaz na minimização dos efeitos locomotores da cetamina, essa interação não foi suficiente para bloquear totalmente o desenvolvimento de sensibilização comportamental.

Figura 13 – Efeitos das administrações de cetamina antecedida por administrações de cetanserina ou veículo sobre a atividade locomotora no campo aberto



Legenda: Quantificação obtida através do número de cruzamentos exibidos nos dias 1 (ind1), 4 (ind4) e 7 (ind7) da fase de indução. Os 20 minutos de teste foram divididos em 8 intervalos de 2,5 min. vei = veículo, cet = cetamina 30 mg/kg, cts = cetanserina 3 mg/kg, vei-vei = tratamento com veículo (s.c.) sucedido 10 min depois por veículo (i.p.), vei-cet = tratamento com veículo (s.c.) sucedido 10 min depois por cetamina (i.p.), cts-vei = tratamento com cetanserina (s.c.) sucedida 10 min depois por veículo (i.p.) e cts-cet = tratamento com cetanserina (s.c.) sucedida 10 min depois por cetamina (i.p.). Comparação global entre os grupos: A = vei-cet maior que todos os grupos. Comparações entre os grupos a cada dia analisado: a = diferente de todos os outros grupos e c = diferente apenas que cts-vei. Comparações de cada grupo ao longo dos dias analisados: + = vei-cet e cts-cet diferentes de ind1 nos intervalos marcados. Valores representados em média \pm erro padrão da média. Diferenças reveladas pelo teste *post-hoc* de Duncan ($p < 0,05$).

Fonte: O autor, 2016.

4.3.2 Teste de sensibilização (figura 14)

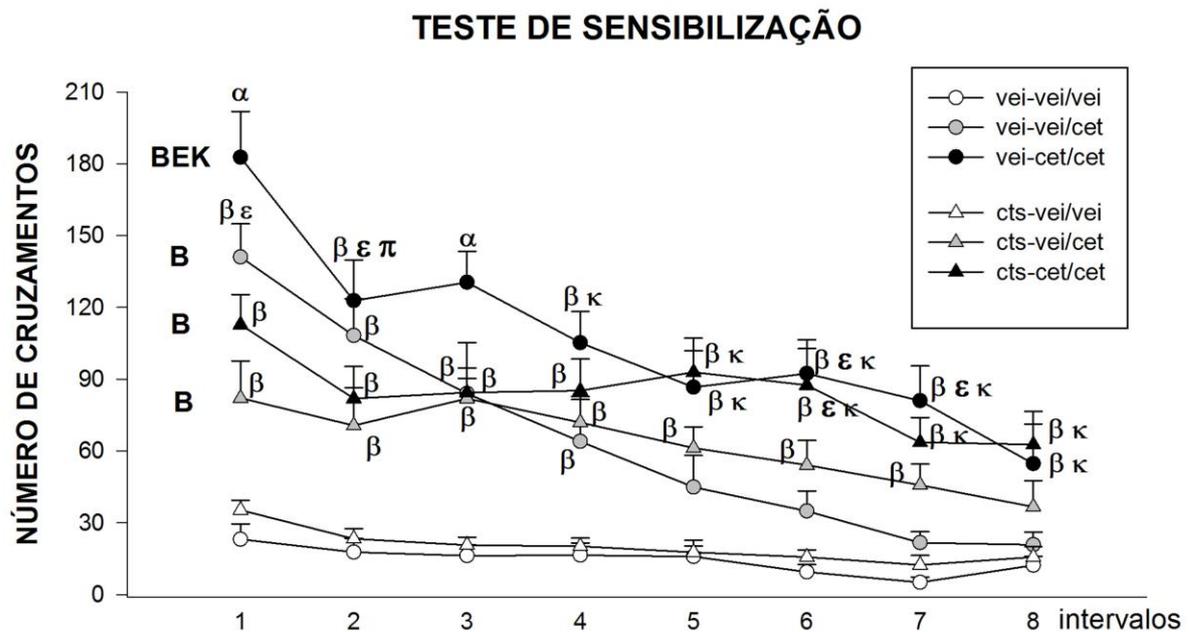
No que toca uma análise geral do teste de sensibilização, o desafio com cetamina foi capaz de alterar alguns padrões comportamentais verificados na fase de indução (rANOVA: TRATAMENTO – $F_{(5,51)} = 16,14$, $p < 0,001$). Assim, todos os 4 grupos desafiados com cetamina (vei-cet/cet, cts-cet/cet, vei-vei/cet e cts-vei/cet) apresentaram maior atividade locomotora média que os grupos controle (vei-vei/vei e cts-vei/vei). Contudo, os grupo desafiados com cetamina variaram entre si, desta

forma, o grupo vei-cet/cet apresentou índices de locomoção que superaram a atividade dos grupos vei-vei/cet e cts-vei/cet, mas que foram semelhantes a atividade do grupo cts-cet/cet. De fato, o grupo cts-cet/cet migrou de uma atividade locomotora reduzida na indução a uma atividade exacerbada no teste de sensibilização, exibindo uma atividade locomotora média equiparada tanto ao grupo vei-cet/cet quanto aos grupos vei-vei/cet e cts-vei/cet. Finalmente, os resultados de uma análise global indicaram que a exposição previa de cetanserina na fase de indução, diferente da racloprida, não impediu claramente na expressão da sensibilização comportamental a cetamina (vei-cet/cet > vei-vei/cet = cts-vei/cet > vei-vei/vei = cts-vei/vei; cts-cet/cet = vei-vei/cet = cts-vei/cet > vei-vei/vei = cts-vei/vei; Teste de Duncan, $p < 0,05$; indicado em **BEK** e **B** da figura 14).

Entretanto, a comparação entre os grupos nos diferentes intervalos do teste permitiu a identificação de efeitos pontuais da cetanserina sobre locomoção expressada pela cetamina (rANOVA: TRATAMENTO x INTERVALO - $F_{(14,0;143,3)} = 4,94$, $p < 0,001$). Com exceção dos grupos controles (vei-vei/vei e cts-vei/vei) que tiveram uma moderada redução da atividade locomotora ao logo dos 20 minutos de teste e em todo este tempo apresentaram atividade menor com relação aos todos os outros grupos, todos os grupos se assemelharam ao grupo vei-cet/cet ao longo dos intervalos, ou seja, exibiram um pico de atividade locomotora seguido por uma rápida redução deste comportamento. Apesar disso, uma análise *post-hoc* detalhada ao longo do tempo mostrou que animais do grupo cts-cet/cet apresentaram menor atividade locomotora quando comparados ao vei-cet/cet nos 3 primeiros intervalos do teste de sensibilização (do intervalo 1 ao 3 cts-cet/cet < vei-cet/cet; Teste de Duncan, $p < 0,05$), indicando que a cetanserina preveniu a sensibilização comportamental expressada por cetamina nestes intervalos iniciais. Além disso, o grupo cts-cet/cet se igualou ao grupo vei-cet/cet do 4º intervalo em diante, foi maior que os controles (vei-vei/vei e cts-vei/vei) em todos os intervalos e apresentou maior atividade quando comparado a vei-vei/cet do 5º ao 8º intervalo. Uma atividade locomotora maior com relação aos controles também foi constatada nos grupos vei-vei/cet (do 1º ao 4º intervalo), cts-vei/cet (do 1º ao 7º intervalo) e cts-cet/cet (do 1º ao 8º intervalo). Isso permite supor que a exposição a cetanserina sem a cetamina na fase de indução tornou mais duradouro o efeito agudo da cetamina no teste de sensibilização. Adicionalmente, do 5º ao 8º intervalo os grupos expostos a cetamina na fase de indução, tanto o antecedido por veículo (vei-cet/cet) quanto o antecedido

por cetanserina (cts-cet/cet), apresentaram atividade locomotora superior também ao grupo vei-vei/cet (Teste de Duncan, $p < 0,05$).

Figura 14 - Efeitos do desafio de cetamina, em animais coadministrados com cetanserina e cetamina na fase de indução, sobre a atividade locomotora no campo aberto



Legenda: Quantificação obtida através do número de cruzamentos exibidos no teste de sensibilização (TS). Os 20 minutos de teste foram divididos em 8 intervalos de 2,5 min. vei = veículo, cet = cetamina 30 mg/kg, cts = cetanserina 3 mg/kg, vei-vei/vei = desafio com veículo (i.p.) no TS de animais tratados com veículo(s.c.)+veículo(i.p.) na indução, vei-vei/cet = desafio com cetamina (i.p.) no TS de animais tratados com veículo(s.c.)+veículo(i.p.) na indução, vei-cet/cet = desafio com cetamina (i.p.) no TS de animais tratados com veículo(s.c.)+cetamina(i.p.) na indução, cts-vei/vei = desafio com veículo (i.p.) no TS de animais tratados com cetanserina(s.c.)+veículo(i.p.) na indução, cts-vei/cet = desafio com cetamina (i.p.) no TS de animais tratados com cetanserina(s.c.)+veículo(i.p.) na indução e cts-cet/cet = desafio com cetamina (i.p.) no TS de animais tratados com cetanserina(s.c.)+cetamina(i.p.) na indução. Comparação global entre os grupos: BEK = maior que todos os outros grupos, com exceção do cts-cet/cet e B = maior que os grupos vei-vei/vei e cts-vei/vei. Comparações entre os grupos a cada dia analisado: α = diferente de todos os outros grupos, β = diferente de vei-vei/vei e cts-vei/vei, κ = diferente de vei-vei/cet, ϵ = diferente de cts-vei/cet e π = diferente de cts-cet/cet. Valores representados em média \pm erro padrão da média. Diferenças reveladas pelo teste *post-hoc* de Duncan ($p < 0,05$).

Fonte: O autor, 2016.

4.4 Discussão

Os estudos foram conduzidos com a finalidade de investigar se o desenvolvimento e a expressão da sensibilização comportamental induzida por cetamina poderiam ser influenciados por administrações prévias e subcrônicas do antagonista D2, racloprida, e do antagonista 5-HT₂, cetanserina, respectivamente utilizados nos experimentos 2 e 3. Tais experimentos por sua vez serão discutidos concomitantemente.

Alguns resultados foram tomados como principais neste capítulo. Primeiro, administrações prévias de ambas as drogas preveniram o aumento da atividade locomotora em todos os intervalos dos dias analisados da fase de indução. Segundo, a cetanserina, diferente da racloprida, não foi capaz de impedir a progressão da resposta locomotora evocada pela cetamina, normalmente vista nas fases de indução da presente tese. Terceiro, o tratamento subcrônico com os antagonistas D2 e 5-HT₂ prévios a cetamina, mostrou interferir no desafio a cetamina até o 4^o intervalo, no caso dos animais previamente tratados com racloprida, ou até o 3^o, no caso dos animais previamente tratados com cetanserina.

Antes de mais nada, vale ressaltar que o tratamento subcrônico com racloprida ou cetanserina *per se* não produziu significativas alterações no teste de sensibilização, assim como na fase de indução, onde foram administrados. Estes achados estão de acordo com estudos que mostram que tanto o haloperidol (JOHNSON et al., 1998), um antagonista D2 como a racloprida, quanto a cetanserina (FILIP; NOWAK; PAPLA, 2001) não alteraram o padrão locomotor basal de animais tratados cronicamente. A capacidade de um antagonista não alterar a locomoção basal e ao mesmo tempo prevenir o efeito causado por um psicoestimulante dá credibilidade ao modelo experimental, indicando que os efeitos identificados nos grupos expostos ao antagonista quando combinado ao psicoestimulante são devidos a interações farmacológicas e não a um dano motor gerado pelo antagonista, por exemplo. Nesse sentido, é de extrema relevância acrescentar a informação de que um estudo preliminar de nosso grupo no laboratório de Neurofisiologia (dados não mostrados) com a racloprida na dose de 0,5 mg/kg não produziu alterações motoras, tanto de forma aguda quanto de forma

subcrônica (7 dias), em camundongos testados nos testes da impressão da pata, de catalepsia e rotarod.

Os modelos de hiperatividade locomotora, assim como a sensibilização comportamental, podem ser utilizados para o estudo da esquizofrenia, sendo normalmente utilizados os modelos baseados em agonistas dopaminérgicos (FEATHERSTONE; KAPUR; FLETCHER, 2007; PELEG-RAIBSTEIN; KNUESEL; FELDON, 2008; VALENTI et al., 2011) e antagonistas glutamatérgicos (JOHNSON et al., 1998; KAPUR; SEEMAN, 2002; WATANABE et al., 2010; ZUGNO et al., 2013). Nesse sentido, a medida que o bloqueio de D2 e 5-HT2 resulta na prevenção da hiperatividade locomotora, pode-se inferir que esse efeito é comparável ao de antipsicóticos. Estes alvos de receptores são os mesmos dos antipsicóticos típicos e atípicos utilizados na clínica médica, tendo os típicos basicamente afinidade por receptores D2 e atípicos alta afinidade por 5-HT2 e baixa afinidade por D2 (CARLSSON, 1978; KARL et al., 2006; MAILMAN; MURTHY, 2010).

A literatura científica apresenta evidências de que enquanto o antagonismo de 5-HT2 é mais eficaz em modelos de esquizofrenia baseados em fenciclidina / cetamina, o antagonismo de D2 é mais eficiente em modelos baseados em amfetamina / apomorfina (MILLAN et al., 1999; YAMADA et al., 1999).

No que diz respeito ao bloqueio D2, nossos resultados parecem refutar tal ideia, pois foi verificado nesta tese que o antagonista de D2, racloprida, foi capaz de prevenir a exacerbação locomotora em todas as fases do experimento e ainda impediu a progressão da locomoção na fase de indução, diferente da cetanserina que não impediu tal progressão. Nesse sentido, Kapur e Seeman (2002) mostraram que a racloprida reverteu o aumento de dopamina produzido tanto pela cetamina quanto pela fenciclidina. Assim, este resultado indica uma relação entre ação farmacológica de antagonistas NMDA, o que também resulta na hiperatividade locomotora, e bloqueio do receptor D2. Consistente a isso, foi mostrado que 1 mg/kg do antagonista D2, haloperidol, preveniu completamente o desenvolvimento da sensibilização comportamental produzida por fenciclidina (PHILLIPS et al., 1997). Ao que tudo indica, o receptor D2 parece estar implicado também na resposta locomotora sensibilizada por antagonistas NMDA.

No que tange o bloqueio de 5-HT2, os dados existentes na literatura parecem divergir. Por exemplo, Phillips e colaboradores (2001) mostraram que 0,8 mg/kg de cetanserina não inibiu o desenvolvimento da sensibilização produzida por

fenciclidina. De forma parecida, sendo que utilizando um psicoestimulante dopaminérgico, Bjiou e colaboradores (1996) mostraram que injeções de cetanserina a 1 µg / 0,5 µl na área do tegumento ventral de ratos não inibiu o desenvolvimento da sensibilização comportamental. Por outro lado, Maurel-Remy e colaboradores (1995) concluíram em seu estudo que a hiperatividade locomotora induzida pela fenciclidina era dependente de 5-HT_{2A}. Similar aos nossos achados, mas utilizando cocaína, Filip e colaboradores (2001) mostraram que a administração da cetanserina 3 mg/kg (mesma dose utilizada no experimento 3) em ratos, 30 minutos antes da cocaína, foi capaz de inibir o desenvolvimento da sensibilização comportamental. Contudo, diferente de nós, tais autores não conseguiram verificar após uma retirada de 5 dias uma inibição da resposta locomotora expressada mediante o desafio a cocaína, sendo possível somente preveni-la com o desafio concomitante de cetanserina mais cocaína. Por fim, talvez o bloqueio de 5-HT₂ pela cetanserina não tenha impedido a progressão da atividade locomotora ao longo da fase de indução devido a uma provável sub-regulação, fenômeno normalmente relatado para este receptor (JOHNSON et al., 1998; FILIP; BUBAR; CUNNINGHAM, 2004).

Diante dos achados do experimento 3 e de outros dados da literatura, é possível afirmar que o receptor 5-HT₂ desempenhe um papel fundamental na sensibilização comportamental evocada tanto por agonistas dopaminérgicos quanto por antagonistas glutamatérgicos. Todavia, a sensibilidade que o receptor 5-HT₂ tem à sub-regulação talvez prejudique seus efeitos antipsicóticos. Consistente a isso Kapur e Seeman (2001) verificaram que apesar dos antipsicóticos atípicos serem propostos como uma alternativa no tratamento da esquizofrenia por terem alta afinidade por receptores 5-HT₂ e baixa por D₂, a ocupação máxima desses receptores serotoninérgicos é obtida em doses não antipsicóticas, enquanto os verdadeiros efeitos antipsicóticos só se tornam efetivos quando a ocupação de D₂ excede 65%.

Em suma, os experimentos 2 e 3 revelaram que tanto o bloqueio de D₂ pela racloprida quanto de 5-HT₂ pela cetanserina preveniram o desenvolvimento e a expressão da sensibilização produzida por cetamina. A racloprida pareceu desempenhar tal função de maneira mais eficaz por impedir a progressão da atividade locomotora produzida por cetamina na fase de indução. Contudo, a incapacidade da cetanserina de impedir a progressão locomotora não descarta a

importância do papel de 5-HT₂ sobre a sensibilização comportamental. É possível sugerir que D₂ e 5-HT₂ sejam alvos tão importante quanto o receptor NMDA para a compreensão da sensibilização locomotora evocada por cetamina. Já tem sido demonstrado que a fenciclidina e a cetamina tanto aumentam a liberação de dopamina e serotonina quanto fazem ligações agonísticas com D₂ e 5-HT₂, possuindo afinidade comparável aos receptores NMDA (KAPUR; SEEMAN, 2002). Ao que tudo indica, modelos experimentais de esquizofrenia baseados em fenciclidina / cetamina parecem mais reproduzir uma perturbação multissistema do que uma hipofuncionalidade glutamatérgica (KAPUR; SEEMAN, 2002), o que não deixa de ser um bom modelo para explorar diversos aspectos de efeitos antipsicóticos.

Interessantemente tem sido descrito outro tipo de sensibilização, caracterizada pelo aumento dos efeitos antipsicóticos ao longo de repetidas administrações, a chamada sensibilização antipsicótica, que parece, em parte, ser dependente do contexto ambiental (ZHANG; LI, 2012). Assim como os efeitos antipsicóticos, os efeitos sensibilizadores da cetamina podem estar pareados ao ambiente. Sendo assim, foi pensando no possível papel do contexto nas respostas comportamentais geradas pela cetamina que se pensou em estudar no experimento 4 tanto a resposta locomotora condicionada quando a sensibilização comportamental dependente do contexto.

5 EXPERIMENTO 4: OS EFEITOS DA CETAMINA SOBRE A RESPOSTA LOCOMOTORA CONDICIONADA E A SENSIBILIZAÇÃO COMPORTAMENTAL DEPENDENTE DO CONTEXTO

5.1 Procedimento específico

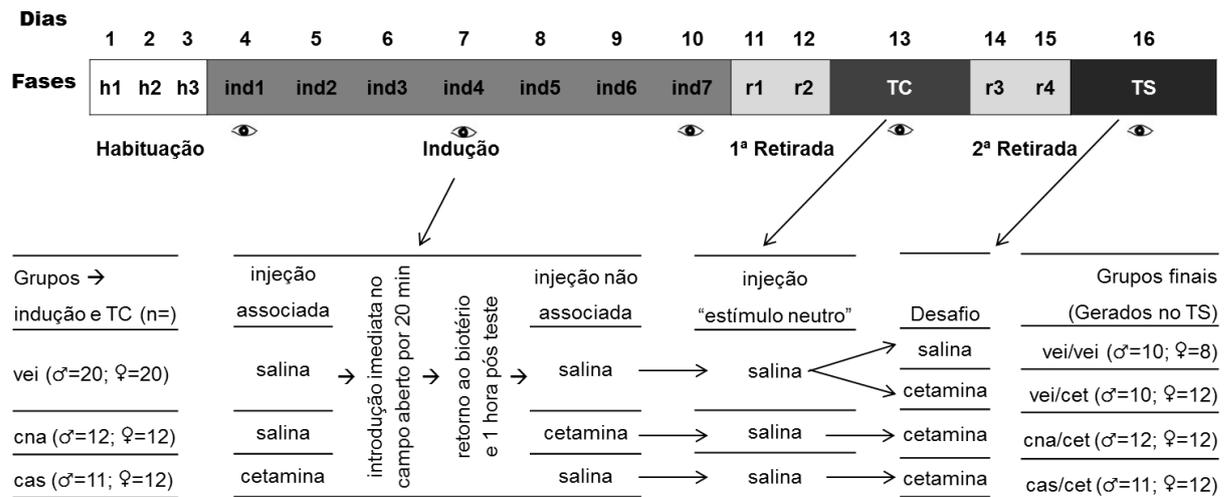
A investigação da capacidade da cetamina em produzir tanto resposta locomotora condicionada quanto sensibilização comportamental dependente do contexto foi possibilitada por um desenho experimental composto de 6 fases experimentais, sendo elas a fase de habituação, indução, 1ª retirada, teste de condicionamento, 2ª retirada e teste de sensibilização. Em todas as fases, exceto nas retiradas, os testes comportamentais no campo aberto tiveram permanência de 20 minutos.

A fase de indução teve início 24 h após o término da habituação (do dia 1 ao 3; já descrita no item 2.4 do material e métodos). Durante a fase de indução (do dia 4 ao 10, chamados de ind1 a ind7, respectivamente), os animais receberam diariamente uma **injeção associada** ao ambiente teste (que chamaremos aqui de injeção associada), foram imediatamente introduzidos ao campo aberto e ao final levados às suas gaiolas no biotério. Uma hora após o término do teste, estes mesmos animais receberam outra injeção, no biotério, sendo esta **não associada** ao ambiente teste (aqui chamada de injeção não associada). Pode-se dizer que a fase de indução possuiu complexidade e importância para este experimento, visto que os grupos foram constituídos com base na articulação dos esquemas de injeções associadas e não associadas. Sendo assim, o primeiro grupo recebeu uma injeção associada de salina e outra não associada também de salina, chamado aqui de grupo **veículo (vei)**; machos = 20 e fêmeas = 20). O segundo grupo recebeu uma injeção associada de salina e outra não associada de cetamina, chamado aqui de grupo **cetamina não associado (cna)**; machos = 12 e fêmeas = 12). Por fim, o terceiro grupo recebeu uma injeção associada de cetamina e outra não associada de salina, chamado aqui de grupo **cetamina associado (cas)**; machos = 11 e fêmeas = 12).

A indução foi seguida pela 1ª retirada (dias 11 e 12), durante a qual os animais permaneceram no biotério sem qualquer tipo de manipulação. Subsequentemente, no 13º dia todos os animais receberam uma única injeção de salina e foram imediatamente introduzidos ao campo aberto. Este dia foi denominado de teste de condicionamento. O presente experimento investigou o condicionamento pavloviano sob o modelo do campo aberto devido a sua forte relação com a dependência de drogas, pois a associação prévia entre a droga e dicas ambientais (lugares, pessoas, períodos do dia ou semanas, estados sentimentais, visão de uma seringa ou de um cigarro, entre outros) podem condicionar um indivíduo ao ponto da exposição subsequente a uma dessas dicas ser suficiente para eliciar um desejo intenso de consumo da droga, o qual é normalmente seguido pelo uso desta (SELF; NESTLER, 1998). Assim, a associação prévia entre dicas contextuais e os efeitos da droga podem, durante e depois de um período de abstinência levar um indivíduo a recaída da droga, por exemplo. Talvez a compreensão desse fenômeno auxilie no tratamento da dependência de drogas. Aqui, utilizamos o teste de condicionamento visando verificar se o período de indução foi eficiente em causar a associação entre o ambiente e a droga. Em caso positivo, espera-se que, mesmo na ausência da cetamina, o grupo cas apresente aumento da atividade locomotora durante o teste.

Finalmente após a 2ª retirada (mesmo procedimento adotado na 1ª retirada), ocorreu o teste de sensibilização (16º dia), no qual os animais foram desafiados com uma única injeção de cetamina ou veículo, a depender do grupo, havendo algumas particularidades nos grupos com relação a fase de indução. Por exemplo, o grupo vei teve seu n dividido, de modo a uma metade ser desafiada com salina (vei/vei; machos = 10; fêmeas = 8) e a outra com cetamina (vei/cet; machos = 10; fêmeas = 12). O grupo cna no teste de sensibilização recebeu um desafio de cetamina, ou seja, pela primeira vez ele recebeu a cetamina de forma associada, passando a ser chamado de cna/cet. Já o grupo cas recebeu uma única dose de cetamina associada, como sempre recebeu ao longo de todo este experimento e foi chamado no TS de cas/cet (a linha temporal do experimento 4 está esquematizada na figura 15).

Figura 15 – Linha temporal do experimento 4



Legenda: TC = teste de condicionamento, TS = teste de sensibilização, n = número de sujeitos machos e fêmeas, vei = salina, cna = cetamina não associada, cas = cetamina associada, barra (/) = indica após a ela o desafio administrado, vei/vei = animais tratados com veículo na indução e desafiados com veículo no TS, vei/cet = animais tratados com veículo na indução e desafiados com cetamina no TS, cna/cet = animais cetamina não associados e desafiados com cetamina no TS e cas/cet = animais cetamina associados e desafiados com cetamina no TS. Todas as injeções foram intraperitoneais. 👁 : Dias em que as atividades comportamentais foram quantificadas – dias 4, 7, 10 (correspondendo ao 1º (ind1), 4º (ind4) e 7º (ind7) dia da indução, respectivamente), 13 (TC) e 16 (TS).

Fonte: O autor, 2016.

5.2 Resultados

5.2.1 Fase de indução (figura 16)

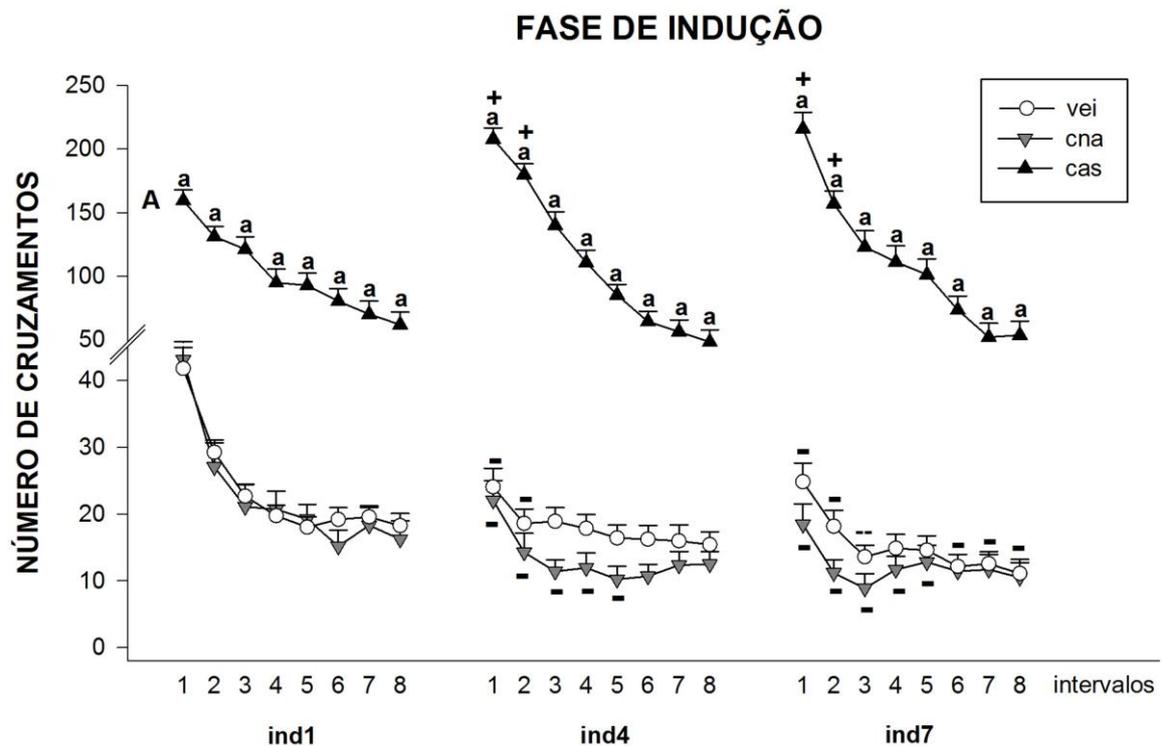
De uma forma geral a cetamina replicou tudo o que já foi feito anteriormente, pois mostrou, através do grupo cas, que administrações imediatamente antes da introdução ao campo aberto produzem exacerbação da atividade locomotora desde o primeiro dia de teste (rANOVA: TRATAMENTO – $F_{(2;81)} = 195,66$, $p < 0,001$). Por outro lado, aqui mostramos pela primeira vez que um grupo que sempre recebeu cetamina fora do ambiente (não associada; grupo cna) não apresentou alteração do comportamento locomotor na fase de indução. Enquanto o grupo cas apresentou maior atividade locomotora com relação aos demais grupos, o grupo cna exibiu índices de locomoção similares ao grupo vei (cas > cna = vei; Teste de Duncan,

$p < 0,05$). Em outras palavras, até este ponto nossos resultados sugerem que administrações não associadas de cetamina não alteram a atividade locomotora dos animais no campo aberto.

Consistente a isso estão os resultados detalhados dos tratamentos, que variaram em função do dia e do intervalo (rANOVA: TRATAMENTO x DIA x INTERVALO – $F_{(14,2;576,9)} = 11,00$, $p < 0,001$; TRATAMENTO x INTERVALO – $F_{(5,0;204,0)} = 100,44$, $p < 0,001$). O padrão gráfico da administração de salina (vei e cna) e cetamina (cas) mostrou-se consistente com experimentos anteriores, ou seja, cetamina produzindo um pico na locomoção seguido por um decréscimo e o veículo apresentando um moderado decréscimo da locomoção ao longo dos intervalos, mas mantendo-se menor que a cetamina durante todo o tempo. A análise *post-hoc* detalhada indicou que o grupo cas, em todos os intervalos de todos os dias, apresentou maior atividade quando comparado aos grupos vei e cna, os quais não apresentaram diferenças entre si (Teste de Duncan, $p < 0,05$).

A análise longitudinal de cada grupo experimental ao longo dos dias quantificados indicou um aumento progressivo da resposta locomotora do grupo cas (rANOVA: DIA x INTERVALO – $F_{(6,5;215,7)} = 5,23$, $p < 0,001$), o qual foi apontado pelo teste *post-hoc* de Duncan por apresentar a maior atividade locomotora nos dois primeiros intervalos de ind4 e ind7 quando comparado aos mesmos intervalos de ind1 (Teste de Duncan, $p < 0,05$). Estes resultados são consistentes com os apresentados anteriormente, uma vez que a cetamina sempre produziu aumento progressivo da atividade locomotora no início do teste. Interessantemente, no presente experimento foi visto pela primeira vez uma diminuição progressiva da atividade locomotora no grupo vei (rANOVA: DIA x INTERVALO – $F_{(9,4;547,0)} = 5,33$, $p < 0,001$; DIA – $F_{(2;117)} = 6,27$, $p < 0,005$), sendo a mesma diminuição progressiva vista também no grupo cna (rANOVA: DIA x INTERVALO – $F_{(7,8;270,7)} = 4,98$, $p < 0,001$; DIA – $F_{(2;69)} = 7,17$, $p = 0,01$). A análise *post-hoc* detalhada indicou que o grupo vei tanto em ind4 (1º e 2º intervalo) quanto em ind7 (1º, 2º, 6º, 7º e 8º intervalo) apresentou menor atividade locomotora quando comparado a ind1 nos mesmos intervalos, havendo uma exceção no 3º intervalo de ind7, o qual apresentou maior atividade locomotora com relação a ind1 e ind4. Já o grupo cna apresentou nos 5 primeiros intervalos de ind4 e ind7 menor atividade locomotora quando comparado aos mesmos intervalos de ind1 (Teste de Duncan, $p < 0,05$).

Figura 16 – Efeitos das administrações de cetamina de forma associada ou não associada ao ambiente sobre a atividade locomotora no campo aberto



Legenda: Quantificação obtida através do número de cruzamentos exibidos nos dias 1 (ind1), 4 (ind4) e 7 (ind7) da fase de indução. Os 20 minutos de teste foram divididos em 8 intervalos de 2,5 min. vei = veículo, cna = cetamina (30 mg/kg) não associada e cas = cetamina (30 mg/kg) associada. Comparação global entre os grupos: A = atividade locomotora superior aos demais grupos. Comparações entre os grupos a cada dia analisado: a = diferente de todos os outros grupos. Comparações de cada grupo ao longo dos dias analisados: + = cas diferente de ind1 nos intervalos marcados, - = vei e cna diferentes de ind1 nos intervalos marcados e -- = vei e cna diferentes de ind1 e ind4 nos intervalos marcados. Valores representados em média \pm erro padrão da média. Diferenças reveladas pelo teste *post-hoc* de Duncan ($p < 0,05$).

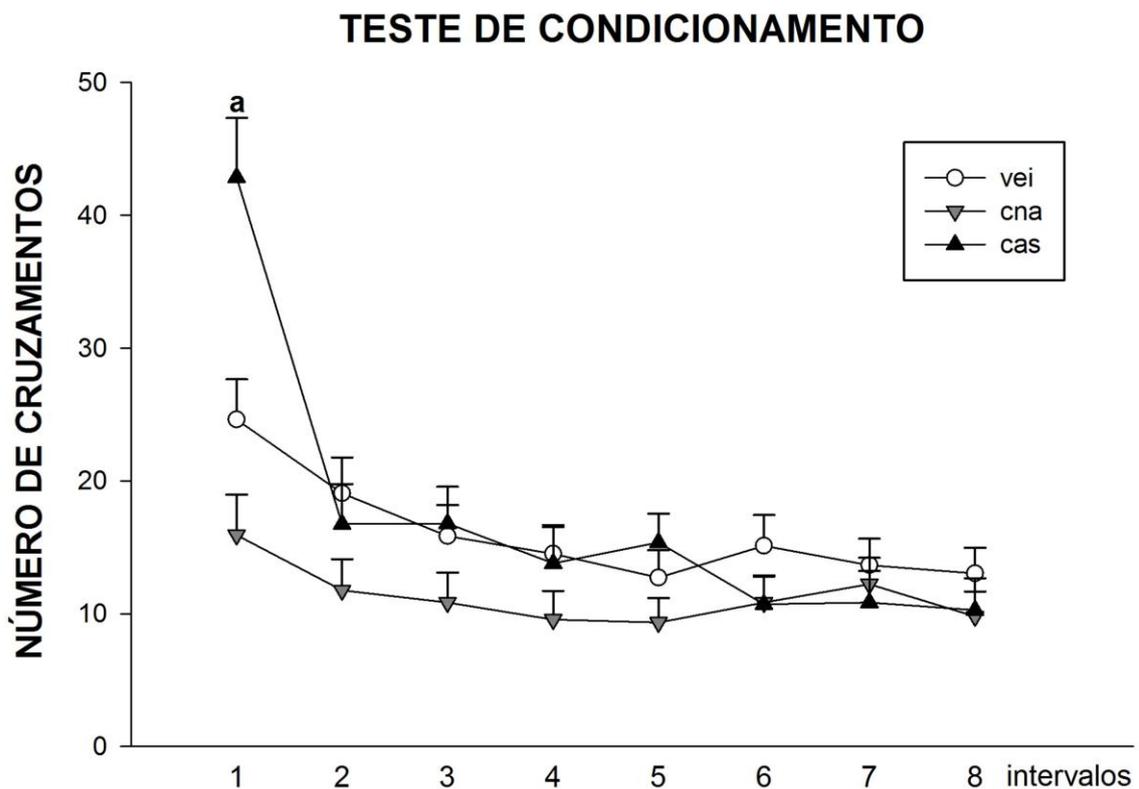
Fonte: O autor, 2016.

5.2.2 Teste de condicionamento (figura 17)

Os resultados indicaram que o tratamento com cetamina associada (cas) na fase de indução produziu aumento significativo da atividade locomotora no primeiro intervalo do teste de condicionamento (TRATAMENTO x INTERVALO – $F_{(7,9;320,8)} = 7,97, p < 0,001$), mesmo quando todos os animais foram desafiados com salina antes do teste. O fato de neste primeiro intervalo o grupo cas ter apresentado a maior atividade locomotora, enquanto que o grupo cna se assemelhou ao vei (no 1º intervalo: cas > cna = vei; Teste de Duncan, $p < 0,05$), sugere que o contexto pelo qual

o animal experimenta a droga modula positivamente sua atividade locomotora, ou seja, a associação entre a cetamina e o contexto onde ela foi previamente administrada foi capaz de produzir uma resposta locomotora condicionada mesmo na ausência da droga.

Figura 17 – Efeitos do desafio de salina em animais que receberam cetamina de forma associada ou não associada ao ambiente na fase de indução, sobre a atividade locomotora no campo aberto



Legenda: Quantificação obtida através do número de cruzamentos exibidos no teste de condicionamento (TC). Os 20 minutos de teste foram divididos em 8 intervalos de 2,5 min. vei = veículo, cna = cetamina (30 mg/kg) não associada e cas = cetamina (30 mg/kg) associada. Comparações entre os grupos a cada dia analisado: a = diferente de todos os outros grupos. Valores representados em média \pm erro padrão da média. Diferenças reveladas pelo teste *post-hoc* de Duncan ($p < 0,05$).

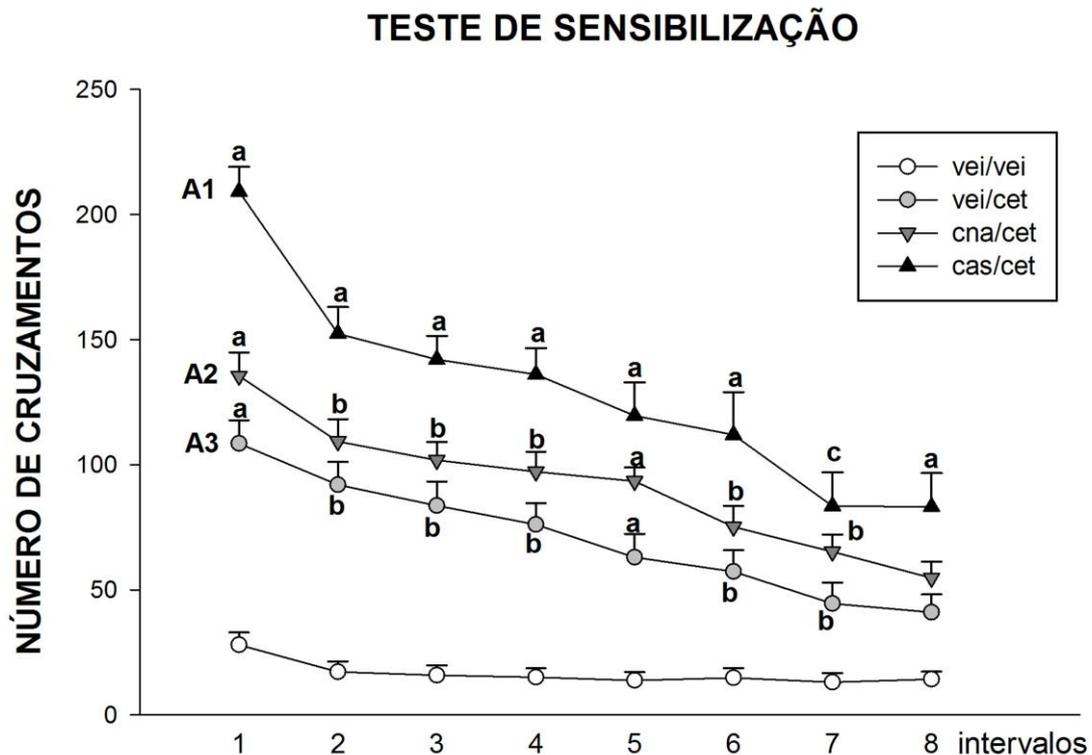
Fonte: O autor, 2016.

5.2.3 Teste de sensibilização (figura 18)

A análise do teste de sensibilização indica que todos os grupos foram diferentes entre si (rANOVA: TRATAMENTO – $F_{(3;79)} = 43,67$, $p < 0,001$), apresentando o grupo cas/cet, cna/cet e vei/cet os 1º, 2º e 3º maiores índices de atividade locomotora, respectivamente (cas/cet > cna/cet > vei/cet > vei/vei; Teste de Duncan, $p < 0,05$; indicado em **A1**, **A2** e **A3** da figura 18).

A atividade locomotora dos diferentes grupos variou em função do intervalo (rANOVA: TRATAMENTO x INTERVALO – $F_{(7,9;207,0)} = 5,46$, $p < 0,001$). Apesar dos diferentes índices de atividade locomotora, os três grupos desafiados com cetamina exibiram padrão gráfico similar, consistindo em um aumento exacerbado da atividade locomotora inicial, seguido por brusca diminuição dessa atividade quando comparados ao grupo vei/vei. A análise *post-hoc* detalhada indicou que o grupo cas/cet apresentou maior atividade locomotora com relação a todos os outros grupo em todos os intervalos, exceto no 7º intervalo, onde sua atividade superou apenas a dos grupos vei/vei e vei/cet. O grupo cna/cet apresentou atividade superior aos grupos vei/cet e vei/vei no 1º e 5º intervalo, contudo sua atividade em quase todos os intervalos, juntamente com o grupo vei/cet, foi maior somente quando comparada ao grupo vei/vei (2º, 3º, 4º, 6º e 7º intervalos: cna/cet = vei/cet > vei/vei; Teste de Duncan, $p < 0,05$). Os dados aqui apresentados permitem sugerir que a resposta locomotora sensibilizada por cetamina é dependente do contexto ambiental, ao que tudo indica as dicas ambientais parecem maximizar os efeitos comportamentais da cetamina.

Figura 18 – Efeitos do desafio de cetamina em animais que receberam cetamina de forma associada ou não associada ao ambiente na fase de indução, sobre a atividade locomotora no campo aberto



Legenda: Quantificação obtida através do número de cruzamentos exibidos no teste de sensibilização (TS). Os 20 minutos de teste foram divididos em 8 intervalos de 2,5 min. vei/vei = veículo desafiado no TS com salina, vei/cet = veículo desafiado no TS com cetamina, cna/cet = cetamina não associada e desafiada com cetamina (30 mg/kg) e cas/cet = cetamina associada e desafiada com cetamina (30 mg/kg). Comparação global entre os grupos: A1 = 1ª maior média, A2 = 2ª maior média e A3 = 3ª maior média, sendo todos os grupos diferentes entre si. Comparações entre os grupos a cada dia analisado: a = diferente de todos os outros grupos, b = diferente de vei/vei e c = diferente de vei/vei e vei/cet. Valores representados em média \pm erro padrão da média. Diferenças reveladas pelo teste *post-hoc* de Duncan ($p < 0,05$).

Fonte: O autor, 2016.

5.3 Discussão

Durante a fase de indução do experimento 4 foi possível constatar que a atividade locomotora desenvolvida pela cetamina é consistente com todos os outros experimentos da presente tese e com os dados nela já discutidos. Contudo, diferente dos experimentos anteriores, o protocolo deste experimento foi desenvolvido com o objetivo de investigar o papel do contexto ambiental sobre o comportamento locomotor evocado pela cetamina, verificando sua capacidade em

produzir uma resposta locomotora tanto condicionada quando contextualmente sensibilizada. Embora já tenha sido estudada a habilidade da cetamina em produzir preferência condicionada ao local (SUZUKI et al., 2000), este é o primeiro estudo que investigou o quanto o condicionamento clássico e/ou dicas contextuais podem influenciar na hiperatividade locomotora produzida por esta droga. Assim, o presente estudo revelou dois importantes achados. Um deles mostrou que após dois dias de retirada, o grupo no qual a cetamina foi previamente associada ao ambiente do campo aberto apresentou uma resposta locomotora condicionada nos primeiros 2,5 minutos do teste de condicionamento. Cabe ainda lembrar que tal resposta foi eliciada na ausência da droga, ou seja, somente com a injeção de salina, que, por sua vez, pode ter funcionado como um estímulo condicionado (ou seja, um estímulo que, quando associado a um estímulo incondicionado (cetamina), é capaz de gerar uma resposta condicionada (locomoção)). Contudo Carey e Damianopoulos (1994) demonstraram que a cocaína induziu resposta locomotora condicionada, tanto com 1 quanto com 21 dias de retirada, mesmo sem a injeção de salina. Isso sugere que não só a injeção, mas variados estímulos exteroceptivos (estímulos externos ao corpo) tenham desempenhado o papel de estímulo condicionado. Nessa mesma perspectiva, tem sido demonstrada resposta locomotora condicionada com outros psicoestimulantes como, por exemplo, a anfetamina (GOLD; SWERDLOW; KOOB, 1988), cocaína (BROWN; FIBIGER, 1992), apomorfina (DIAS; CAREY; CARRERA, 2006), quimpirole (EINAT et al., 1996) e MDMA (GOLD; KOOB, 1989).

Existem evidências neuroquímicas suportando que o sistema dopaminérgico está intimamente relacionado ao condicionamento pavloviano (YOUNG; MORAN; JOSEPH, 2005; DAY; CARELLI, 2007). Nesse sentido Hall e colaboradores (2009) mostraram que a resposta locomotora condicionada por cocaína foi inalterada em camundongos *knockout* para o transportador de noradrenalina e foi pouco alterada em *knockout* para o transportador de serotonina. Contudo, em animais *knockout* para o transportador de dopamina, não houve resposta locomotora condicionada por cocaína. Estes resultados destacam uma crucial função do transportador de dopamina neste processo comportamental.

Todavia, relatos da literatura parecem divergir quanto ao papel dos receptores D1 e D2 sobre a locomoção condicionada produzida por psicoestimulantes. Assim, se por um lado Mazurski e Beninger (1991) mostraram que o antagonista D1, SCH-23390, bloqueou a resposta locomotora condicionada produzida por anfetamina e

pelo agonista D1, SKF-38393, por outro lado, mostraram também que a metoclopramida, um antagonista D2, bloqueou a resposta condicionada produzida pelo quimpirole, mas não pela anfetamina. Mediante a isso, tais resultados levaram a sugestão de que alterações em receptores D1 e D2 podem estar implicadas na locomoção condicionada. Por outro lado, Martin-Iverson e McManus (1990) mostraram que tampouco o bloqueio de D1 e/ou D2 foi capaz de afetar a locomoção condicionada tanto pelo agonista indireto de dopamina, anfetamina, quanto pelo agonista direto do receptor D2, PHNO. Talvez haja a participação de outros componentes do sistema dopaminérgico ou outros sistemas também possam estar implicados nesse fenômeno.

O segundo importante achado do experimento 4 foi mostrar que, além da resposta locomotora condicionada, a cetamina foi capaz de gerar sensibilização dependente do contexto, ou seja, dicas ambientais contribuíram para maximizar a atividade locomotora de animais que receberam a cetamina de forma associada. Consistente com a nosso desenho, a literatura científica descreve trabalhos que uniram a verificação da locomoção condicionada com a sensibilização dependente do contexto. Por exemplo, McDougall e colaboradores (2007) mostraram que a cocaína além de produzir sensibilização dependente do contexto em rato, produziu nesses mesmos animais locomoção condicionada nos 5 primeiros minutos. O estudo mais recente de Sukhanov e colaboradores (2016) também agrega ambos os fenômenos, uma vez que mostraram que a anfetamina produziu resposta locomotora tanto condicionada quanto contextualmente sensibilizada. Além disso, tais autores associaram essas duas respostas ao receptor relacionado a aminas vestigiais (*Trace Amine Associated Receptors, TAARs*), como por exemplo a octopamina, feniletilamina e tiramina. Sendo assim, foi verificado que a ausência do receptor TAAR1, em camundongos *knockout*, exacerbou a resposta locomotora condicionada e a contextualmente sensibilizada. Isso sugere um importante papel dos receptores TAAR no controle das respostas comportamentais dependentes de contexto (SUKHANOV et al., 2016). Parece, portanto, que existe uma relação entre esses dois fenômenos e que possivelmente possam ter mecanismos similares. Nesse sentido, Hinson e Poulos (1981) inferiram que a sensibilização recebe uma grande contribuição do condicionamento pavloviano e que isso tem consequências no tratamento do abuso de estimulantes.

Em contrapartida, há evidências de que a locomoção condicionada e a sensibilização dependente do contexto possuem naturezas distintas. Assim, por exemplo, o desafio com apomorfina (MATTINGLY; GOTSICK, 1989), quimpirole (SZECHTMAN; TALANGBAYAN; EILAM, 1993) e cocaína (WOOD et al., 1998) produziram uma resposta locomotora contextualmente sensibilizada em ratos que receberam as respectivas drogas na fase de indução, mas em nenhum desses trabalhos foi vista resposta locomotora condicionada mediante o desafio com salina. Drew e Glick (1988) mostraram que, embora a locomoção condicionada fosse reduzida com a pré-exposição não reforçada (exposição ao ambiente sem haver o reforço da droga), o que é consistente com o princípio pavloviano da inibição latente (capacidade cognitiva de ignorar estímulos irrelevantes, assim a medida que um estímulo condicionado está presente na ausência do incondicionado o indivíduo tenderá a dissociá-los, ocorrendo a extinção do condicionamento), não houve comprometimento da resposta sensibilizada por anfetamina, mesmo sendo ela dependente do contexto ambiental. Tirelli e colaboradores (2003) refutam a possibilidade da correlação entre sensibilização dependente do contexto e locomoção condicionada, justificando que tais fenômenos comportamentais são dissociados um do outro, pois as magnitudes de ambas respostas não são significativamente correlatas. Anterior a estes autores, sendo que utilizando cocaína, Carey e Gui (1998) mostraram que a extinção do condicionamento não comprometeu a resposta locomotora sensibilizada contextualmente dependente. Portanto, embora alguns trabalhos considerem fenômenos interligados, a sensibilização dependente do contexto e a locomoção condicionada provavelmente representam distintas ferramentas para o estudo do comportamento de adição a drogas. Possivelmente, fatores exteroceptivos interajam positivamente otimizando o início do efeito da droga, potencializando-a (CAREY; GUI, 1998).

Tomados em conjunto, os nossos resultados mostraram que a cetamina foi capaz de evocar uma resposta locomotora tanto condicionada quando sensibilizada contextualmente dependente. Com base nos achados de Kapur e Seeman (2002), que constatam a ativação dopaminérgica mediante administrações de cetamina, e em todas as evidências apontando o sistema dopaminérgico como responsável por ambos fenômenos, é possível arriscar a suposição de que mecanismos dopaminérgicos possam estar envolvidos nas respostas contextuais geradas pela cetamina. Contudo, há de se convir que, embora existam demasiados trabalhos

evidenciando tais fenômenos com psicoestimulantes dopaminérgicos, poucos tem como foco o sistema glutamatérgico. Por exemplo, foi verificada a alteração de receptores NMDA em animais *knockout* para TAAR1, os quais foram os mesmos que exibiram maior resposta locomotora condicionada e maior resposta sensibilizada dependente do contexto (SUKHANOV et al., 2016). Embora esses dados sugiram uma participação de receptores NMDA, ainda há uma larga carência no que tange a verificação de tais fenômenos utilizando-se psicoestimulantes NMDA. Talvez o presente experimento seja o início da exploração do alvo NMDA, pelos seus ligantes, a fim de proporcionar conhecimento sobre a participação do sistema glutamatérgico em tais respostas.

6 DISCUSSÃO GERAL

A primeira vista os experimentos da presente tese parecem estar segregados e apresentarem finalidades distintas. Contudo eles contam uma história iniciada com o experimento 1, cujos resultados definiram pontos chave dos protocolos experimentais utilizados nos experimentos 2 e 3 e experimento 4. O viés que interliga os experimentos é descrito ao longo dos achados, os quais podem ser abordados em 3 pontos principais para a compreensão do presente trabalho.

Em primeiro lugar, foi mostrado no experimento 1 que a dose de 30 mg/kg de cetamina foi a que se mostrou mais eficaz em desenvolver e expressar a sensibilização comportamental em camundongos adultos machos e fêmeas. Vale lembrar que a dose de 30 mg/kg não se destacou apenas para o comportamento locomotor, mas também afetou a autolimpeza, exacerbou a rotação e diminuiu com menor intensidade os eventos de levantamento e queda quando comparada a dose de 50 mg/kg.

Esses achados justificaram a utilização da dose de 30 mg/kg nos experimentos subsequentes. Além disso, a não diferença entre os sexos e o destaque da locomoção levaram a utilização apenas do sexo masculino e a observação apenas da atividade locomotora nos experimentos 2, 3 e 4. Pode-se dizer que a confirmação da sensibilização comportamental produzida por cetamina no experimento 1 possibilitou as investigações dos experimentos 2 e 3, assim como seus potentes efeitos psicoestimulantes possibilitaram a realização do experimento 4, visto que drogas com esse potencial são aquelas que normalmente produzem efeitos relacionados ao contexto ambiental (HINSON; POULOS, 1981; GOLD; KOOB, 1989).

Em segundo, o antagonismo do receptor D2 pela racloprida e do receptor 5-HT₂ pela cetanserina visto nos experimentos 2 e 3, respectivamente, mostraram que ambos os receptores participam no desenvolvimento e na expressão da resposta locomotora sensibilizada pela cetamina. Estes resultados podem ser interpretados de 2 formas. Por um lado, os mecanismos pelo qual o bloqueio de NMDA medeia a sensibilização comportamental podem estar indiretamente relacionados aos receptores D2 e 5-HT₂. Por outro lado, estes achados podem corroborar Kapur e Seeman (2002), que sugeriram que a cetamina além de antagonista NMDA,

funciona também como agonista D2 e 5-HT2. Embora já tenha sido mostrado a eficácia do bloqueio de receptores D2 e 5-HT2 para a esquizofrenia (SVENSSON et al., 1995; KAPUR et al., 1998; VOLLENWEIDER et al., 1998), este estudo torna-se importante a medida que ressalta a importância do receptor NMDA e do sistema glutamatérgico para explicar neuroquimicamente a esquizofrenia. Contudo, há de se convir que mais estudos são necessários e que antagonistas mais específicos para NMDA possam auxiliar mais ainda nesta problemática (KAPUR; SEEMAN, 2002). Ambas as possibilidades convergem no sentido do bloqueio desses receptores ter surtido um efeito possivelmente antipsicótico, pois ao considerar a sensibilização a cetamina como um modelo para a esquizofrenia tudo aquilo que previne tal fenômeno (bloqueio de D2 e 5-HT2) pode ser tomado como um efeito antipsicótico (SUN; HU; LI, 2009). Adicionalmente, os efeitos antipsicóticos sugeridos nos experimentos 2 e 3 estiveram associados ao ambiente, já que o tratamento prévio com os antagonistas D2 (racloprida) e 5-HT2 (cetanserina) foram conduzidos também no ambiente teste. Para Zhang e Li (2012) os efeitos antipsicóticos seriam sensibilizados e receberiam a participação de dicas contextuais. Isso, além de ser consistente com nossos dados também consolida a necessidade de estudar os efeitos da cetamina relacionados ao contexto ambiental. Devido os efeitos psicogênicos, inversos aos efeitos antipsicóticos descritos acima, e os efeitos psicoestimulantes da cetamina, é que se pensou em verificar no experimento 4 tanto o condicionamento no paradigma do campo aberto quanto a sensibilização comportamental dependente do contexto.

Em terceiro e último lugar, foi mostrada no experimento 4 a capacidade da cetamina em produzir resposta locomotora condicionada e contextualmente sensibilizada, sendo ambos os fenômenos dependentes de dicas ambientais. A respeito disso, os animais condicionados com cetamina apresentaram exacerbada locomoção no primeiro intervalo do teste de condicionamento, mesmo tendo recebido solução salina. Isso permite sugerir que estímulos exteroceptivos se associaram aos efeitos da droga, sendo consolidado o condicionamento, o qual foi visto aqui através da resposta locomotora. Por outro lado, no teste de sensibilização os animais pré-expostos a cetamina no ambiente teste (grupo cetamina associada) apresentaram atividade locomotora maior do que aqueles pré-expostos a cetamina fora do ambiente (grupo cetamina não associada), lembrando que ambos os grupos nesse último dia foram desafiados e imediatamente postos no campo aberto.

Partindo disso, é possível supor que a sensibilização a cetamina é dependente do contexto. Para Hinson e Poulos (1981) a sensibilização dependente do contexto recebia uma contribuição do condicionamento pavloviano para existir. Contudo, como discutido em detalhes no item 5.3, esta conclusão tem sido refutada por alguns autores. É possível que fatores interoceptivos (relacionados ao interior do corpo; variações e sensibilidades a fatores internos) se relacionem aos exteroceptivos, otimizando o início de ação da droga, o que explicaria a sensibilização dependente do contexto (CAREY; GUI, 1998; TIRELLI; TAMBOUR; MICHEL, 2003).

Em suma, é possível inferir que a cetamina é capaz de desenvolver e expressar a sensibilização comportamental e esta por sua vez, em seus dois estágios, pode ser prevenida pelo bloqueio do receptores D2 e do 5-HT2. Além disso, os efeitos comportamentais da cetamina também se relacionam ao ambiente, gerando tanto uma resposta locomotora condicionada quanto contextualmente sensibilizada. Desse modo, o presente estudo contribui para a compreensão de mecanismos neurocomportamentais relacionados ao abuso de drogas e a doenças neuropsiquiátricas como a esquizofrenia. Ao que tudo indica, este trabalho também pode elucidar os pontos em comuns entre ambas as patologias visando futuramente contribuir com bem estar ou tratamento daqueles que são acometidos por elas.

CONCLUSÕES

- a) As doses de 30 e 50 mg/kg de cetamina exacerbaram a atividade locomotora;
- b) Além do comportamento locomotor, ambas as doses de cetamina produziram alterações nos eventos de levantamento, rotação, queda e autolimpeza, além de também alterarem o tempo dessa mesma autolimpeza. Contudo, a dose de 30 mg/kg apresentou maior destaque, sendo que a atividade locomotora e o tempo de autolimpeza tiveram significativas alterações ao longo do tempo;
- c) As alterações na atividade locomotora, caracterizaram um padrão de sensibilização comportamental, a qual foi tanto desenvolvida quanto expressada pela cetamina 30 mg/kg;
- d) A dose de 30 mg/kg de cetamina produziu maior atividade locomotora no início dos testes quando comparada a dose de 50 mg/kg. Assim, a baixa dose utilizada nos 7 dias de indução talvez constitua um modelo promissor para se estudar resposta locomotora condicionada e sensibilizada;
- e) Além disso, essa hiperatividade produzida pela dose de 30 mg/kg também possibilitou o estudo com antagonistas D2 e 5-HT₂, o qual confirmou que o bloqueio de ambos receptores, vistos separadamente, foi capaz de prevenir o desenvolvimento e a expressão da sensibilização comportamental. Isso permite sugerir que, a semelhança de antipsicóticos típicos/atípicos, o bloqueio desses receptores é consistente com um efeito antipsicótico num modelo experimental de esquizofrenia;
- f) Finalmente, os resultados revelaram que as dicas ambientais contribuíram com os efeitos comportamentais da cetamina no sentido de maximizar as resposta locomotora, ou seja, a resposta locomotora condicionada e contextualmente sensibilizada foram um reflexo do quão significativas são as dicas ambientais no processo de aquisição a cetamina;

- g) Tomados em conjunto é possível supor que múltiplos fatores estejam envolvidos na consolidação da dependência à cetamina. Além disso, este trabalho reforça alguns pontos que convergem o abuso de drogas e doenças psiquiátricas. Possivelmente, à medida que se explore cada vez mais os mecanismos neuroquímicos e comportamentais envolvidos nessas problemáticas, esteja a ciência cada vez mais próxima em prevenir, atenuar ou tratar transtornos aditivos e psicóticos.

REFERÊNCIAS

- ABRAHAO, K. P.; ARIWODOLA, O. J.; BUTLER, T. R.; RAU, A. R.; SKELLY, M. J.; CARTER, E.; ALEXANDER, N. P.; MCCOOL, B. A.; SOUZA-FORMIGONI, M. L. O.; WEINER, J. L. Locomotor Sensitization to Ethanol Impairs NMDA Receptor-Dependent Synaptic Plasticity in the Nucleus Accumbens and Increases Ethanol Self-Administration. **The Journal of Neuroscience**, v. 33, n. 11, p. 4834–4842, 13 mar. 2013.
- ABRAHAO, K. P.; QUADROS, I. M. H.; ANDRADE, A. L. M.; SOUZA-FORMIGONI, M. L. O. Accumbal Dopamine D2 Receptor Function Is Associated with Individual Variability in Ethanol Behavioral Sensitization. **Neuropharmacology**, v. 62, n. 2, p. 882–889, fev. 2012.
- ABREU-VILLAÇA, Y.; CAVINA, C. C.; RIBEIRO-CARVALHO, A.; CORREA-SANTOS, M.; NAIFF, V. F.; FILGUEIRAS, C. C.; MANHÃES, A. C. Combined exposure to tobacco smoke and ethanol during adolescence leads to short- and long-term modulation of anxiety-like behavior. **Drug and Alcohol Dependence**, v. 133, n. 1, p. 52–60, 1 nov. 2013.
- AGO, Y.; NAKAMURA, S.; UDA, M.; KAJII, Y.; ABE, M.; BABA, A.; MATSUDA, T. Attenuation by the 5-HT1A receptor agonist osemozotan of the behavioral effects of single and repeated methamphetamine in mice. **Neuropharmacology**, v. 51, n. 4, p. 914–922, set. 2006.
- AKILLIOGLU, K.; MELIK, E. B.; MELIK, E.; BOGA, A. Effect of Ketamine on Exploratory Behaviour in BALB/C and C57BL/6 Mice. **Pharmacology, Biochemistry, and Behavior**, v. 100, n. 3, p. 513–517, jan. 2012.
- ANDREASEN NC. Negative symptoms in schizophrenia: Definition and reliability. **Archives of General Psychiatry**, v. 39, n. 7, p. 784–788, 1 jul. 1982.
- ANDREASEN NC; FLAUM M; SWAYZE VW; II; TYRRELL G; ARNDT S. Positive and negative symptoms in schizophrenia: A critical reappraisal. **Archives of General Psychiatry**, v. 47, n. 7, p. 615–621, 1 jul. 1990.
- ANTELMAN, S. M. Time-Dependent Sensitization as the Cornerstone for a New Approach to Pharmacotherapy: Drugs as Foreign/stressful Stimuli. **Drug Development Research**, v. 14, n. 1, p. 1–30, 1 jan. 1988.
- ARARIPE NETO, A. G. de A.; BRESSAN, R. A.; BUSATTO FILHO, G. **Fisiopatologia da esquizofrenia: aspectos atuais**. Disponível em: <<http://urutu.hcnet.usp.br/ipq/revista/vol34/s2/198.html>>. Acesso em: 18 ago. 2015.
- ARONI, F.; IACOVIDOU, N.; DONTAS, I.; POURZITAKI, C.; XANTHOS, T. Pharmacological Aspects and Potential New Clinical Applications of Ketamine: Reevaluation of an Old Drug. **Journal of Clinical Pharmacology**, v. 49, n. 8, p. 957–964, ago. 2009.

ATKINSONS, R. L.; ATKINSONS, R. C.; SMITH, E. E.; BEM, D. J. Introdução à psicologia. **Introdução à Psicologia**, 1995.

BAIK, J.-H. Dopamine Signaling in reward-related behaviors. **Frontiers in Neural Circuits**, v. 7, 11 out. 2013. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3795306/>>. Acesso em: 1 fev. 2016.

BAKER, D. A.; KHROYAN, T. V.; O'DELL, L. E.; FUCHS, R. A.; NEISEWANDER, J. L. Differential Effects of Intra-Accumbens Sulpiride on Cocaine-Induced Locomotion and Conditioned Place Preference. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 279, n. 1, p. 392–401, 10 jan. 1996.

BALL, K. T.; BUDREAU, D.; REBEC, G. V. Context-Dependent Behavioural and Neuronal Sensitization in Striatum to MDMA (ecstasy) Administration in Rats. **European Journal of Neuroscience**, v. 24, n. 1, p. 217–228, 1 jul. 2006.

BAO, Y.-P.; LIU, Z.-M.; LI, J.-H.; ZHANG, R.-M.; HAO, W.; ZHAO, M.; SHI, J.; MCGOOGAN, J. M.; LU, L. Club Drug Use and Associated High-Risk Sexual Behaviour in Six Provinces in China. **Addiction**, v. 110, p. 11–19, 1 jan. 2015.

BARNES, N. M.; SHARP, T. A review of central 5-HT receptors and their function. **Neuropharmacology**, v. 38, n. 8, p. 1083–1152, ago. 1999.

BECKER, A.; PETERS, B.; SCHROEDER, H.; MANN, T.; HUETHER, G.; GRECKSCH, G. Ketamine-induced changes in rat behaviour: A possible animal model of schizophrenia. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, v. 27, n. 4, p. 687–700, jun. 2003.

BIAŁA, G.; BUDZYŃSKA, B. Rimonabant Attenuates Sensitization, Cross-Sensitization and Cross-Reinstatement of Place Preference Induced by Nicotine and Ethanol. **Pharmacological reports: PR**, v. 62, n. 5, p. 797–807, out. 2010.

BJIJOU, Y.; STINUS, L.; MOAL, M. L.; CADOR, M. Evidence for Selective Involvement of Dopamine D1 Receptors of the Ventral Tegmental Area in the Behavioral Sensitization Induced by Intra-Ventral Tegmental Area Injections of D-Amphetamine. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 277, n. 2, p. 1177–1187, 5 jan. 1996.

BLANCO, E.; PAVÓN, F. J.; PALOMINO, A.; LUQUE-ROJAS, M. J.; SERRANO, A.; RIVERA, P.; BILBAO, A.; ALEN, F.; VIDA, M.; SUÁREZ, J.; FONSECA, F. R. de. Cocaine-Induced Behavioral Sensitization Is Associated With Changes in the Expression of Endocannabinoid and Glutamatergic Signaling Systems in the Mouse Prefrontal Cortex. **International Journal of Neuropsychopharmacology**, p. pyu024, 20 dez. 2014.

BLOISE, E.; CAREY, R. J.; CARRERA, M. P. Behavioral Sensitization Produced by a Single Administration of Apomorphine: Implications for the Role of Pavlovian Conditioning in the Mediation of Context-Specific Sensitization. **Pharmacology, biochemistry, and behavior**, v. 86, n. 3, p. 449–457, mar. 2007.

BONCI, A.; HOPF, F. W. The Dopamine D2 Receptor: New Surprises from an Old Friend. **Neuron**, v. 47, n. 3, p. 335–338, 4 ago. 2005.

BOSCHEN, S. L. Antipsicótico típico produz efeitos amnésicos pelo bloqueio de receptores D2 pós-sinápticos no estriado dorsolateral de ratos, mas não afeta a dessensibilização de receptores D2 pré-sinápticos no núcleo accumbens em modelo animal de esquizofrenia. 2015. Disponível em: <<http://dspace.c3sl.ufpr.br:8080/dspace/handle/1884/37360>>. Acesso em: 18 ago. 2015.

BRANDÃO, M. L. **As bases biológicas do comportamento: introdução à neurociência**. [s.l.] EPU, 2004.

BRODERICK, P. A.; OLABISI, O. A.; RAHNI, D. N.; ZHOU, Y. Cocaine acts on accumbens monoamines and locomotor behavior via a 5-HT_{2A/2C} receptor mechanism as shown by ketanserin: 24-h follow-up studies. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, v. 28, n. 3, p. 547–557, maio 2004.

BROWN, E. E.; FIBIGER, H. C. Cocaine-induced conditioned locomotion: Absence of associated increases in dopamine release. **Neuroscience**, v. 48, n. 3, p. 621–629, jun. 1992.

CADOR, M.; BJIJOU, Y.; STINUS, L. Evidence of a complete independence of the neurobiological substrates for the induction and expression of behavioral sensitization to amphetamine. **Neuroscience**, v. 65, n. 2, p. 385–395, mar. 1995.

CAREY, R. J. Application of the Unilateral 6-Hydroxydopamine Rat Model of Rotational Behavior to the Study of Conditioned Drug Effects. **Journal of neuroscience methods**, v. 22, n. 3, p. 253–261, jan. 1988.

CAREY, R. J.; DAMIANOPOULOS, E. N. Conditioned cocaine induced hyperactivity: an association with increased medial prefrontal cortex serotonin. **Behavioural Brain Research**, v. 62, n. 2, p. 177–185, 30 jun. 1994.

CAREY, R. J.; DAMIANOPOULOS, E. N.; SHANAHAN, A. B. Cocaine Conditioned Behavior: A Cocaine Memory Trace or an Anti-Habituation Effect. **Pharmacology, biochemistry, and behavior**, v. 90, n. 4, p. 625–631, out. 2008.

CAREY, R. J.; DEPALMA, G.; DAMIANOPOULOS, E. Evidence for Pavlovian conditioning of cocaine-induced responses linked to emotional behavioral effects. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 80, n. 1, p. 123–134, jan. 2005.

CAREY, R. J.; GUI, J. Cocaine conditioning and cocaine sensitization: what is the relationship? **Behavioural Brain Research**, v. 92, n. 1, p. 67–76, abr. 1998.

CARLSSON, A. Antipsychotic Drugs, Neurotransmitters, and Schizophrenia. **The American Journal of Psychiatry**, v. 135, n. 2, p. 165–173, fev. 1978.

CHAKRABORTY, K.; NEOGI, R.; BASU, D. Club Drugs: Review of the “Rave” with a Note of Concern for the Indian Scenario. **The Indian journal of medical research**, v. 133, p. 594–604, jun. 2011.

COHEN, S. P.; LIAO, W.; GUPTA, A.; PLUNKETT, A. Ketamine in Pain Management. **Advances in Psychosomatic Medicine**, v. 30, p. 139–161, 2011.

CORKERY, J. United Kingdom Drug Situation: Annual Report to the European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction (EMCDDA) 2014 : Contributed to Chapter 6: Health Correlates and Consequences. 19 dez. 2014. Disponível em: <<http://uhra.herts.ac.uk/handle/2299/14995>>. Acesso em: 21 jul. 2015.

DAY, J. J.; CARELLI, R. M. The Nucleus Accumbens and Pavlovian Reward Learning. **The Neuroscientist : a review journal bringing neurobiology, neurology and psychiatry**, v. 13, n. 2, p. 148–159, abr. 2007.

DEGENHARDT, L.; COPELAND, J.; DILLON, P. Recent Trends in the Use of “Club Drugs”: An Australian Review. **Substance Use & Misuse**, v. 40, n. 9-10, p. 1241–1256, 2005.

DIAS, F. R. C.; CAREY, R. J.; CARRERA, M. P. Conditioned Locomotion Induced by Unilateral Intrastratial Administration of Apomorphine: D(2) Receptor Activation Is Critical but Not the Expression of the Unconditioned Response. **Brain research**, v. 1083, n. 1, p. 85–95, 14 abr. 2006.

DOMINO, E. F.; CHODOFF, P.; CORSSSEN, G. PHARMACOLOGIC EFFECTS OF CI-581, A NEW DISSOCIATIVE ANESTHETIC, IN MAN. **Clinical Pharmacology and Therapeutics**, v. 6, p. 279–291, jun. 1965.

DREW, K. L.; GLICK, S. D. Characterization of the Associative Nature of Sensitization to Amphetamine-Induced Circling Behavior and of the Environment Dependent Placebo-like Response. **Psychopharmacology**, v. 95, n. 4, p. 482–487, 1988.

DREW, W. G.; MILLER, L. L.; WIKLER, A. Effect of Δ 9-THC on the Open-Field Activity of the Rat. **Psychopharmacologia**, v. 23, n. 3, p. 289–299, set. 1972.

Ecstasy. Aperta o Cinto!, [s.d.]. Disponível em: <<http://apertaocinto.wordpress.com/ecstasy/>>. Acesso em: 5 mar. 2014.

EINAT, H.; EINAT, D.; ALLAN, M.; TALANGBAYAN, H.; TSAFNAT, T.; SZECHTMAN, H. Associational and Nonassociational Mechanisms in Locomotor Sensitization to the Dopamine Agonist Quinpirole. **Psychopharmacology**, v. 127, n. 1-2, p. 95–101, jun. 1996.

EUROPEAN MONITORING CENTRE FOR DRUGS AND DRUG ADDICTION. **National report 2014: France. EMCDDA, Lisbon, June 2015**. Disponível em: <<http://www.emcdda.europa.eu/publications/national-reports/france-2014>>. Acesso em: 24 jul. 2015a.

EUROPEAN MONITORING CENTRE FOR DRUGS AND DRUG ADDICTION. **National report 2014: Italy. EMCDDA, Lisbon, June 2015**. Disponível em: <<http://www.emcdda.europa.eu/publications/national-reports/italy-2014>>. Acesso em: 24 jul. 2015b.

FEATHERSTONE, R. E.; KAPUR, S.; FLETCHER, P. J. The amphetamine-induced sensitized state as a model of schizophrenia. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, Sensitization, drug addiction

and psychopathology in animals and humans. v. 31, n. 8, p. 1556–1571, 15 nov. 2007.

FILIP, M.; BUBAR, M. J.; CUNNINGHAM, K. A. Contribution of Serotonin (5-Hydroxytryptamine; 5-HT) 5-HT₂ Receptor Subtypes to the Hyperlocomotor Effects of Cocaine: Acute and Chronic Pharmacological Analyses. **The Journal of pharmacology and experimental therapeutics**, v. 310, n. 3, p. 1246–1254, set. 2004.

FILIP, M.; NOWAK, E.; PAPLA, I. On the Role of serotonin_{2A/2C} Receptors in the Sensitization to Cocaine. **Journal of Physiology and Pharmacology: An Official Journal of the Polish Physiological Society**, v. 52, n. 3, p. 471–481, set. 2001.

FITSANAKIS, V. A.; ASCHNER, M. The importance of glutamate, glycine, and γ -aminobutyric acid transport and regulation in manganese, mercury and lead neurotoxicity. **Toxicology and Applied Pharmacology**, Membrane Transporters in Toxicology. v. 204, n. 3, p. 343–354, 1 maio 2005.

FOLL, B. L.; GOLDBERG, S. R. Cannabinoid CB₁ Receptor Antagonists as Promising New Medications for Drug Dependence. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 312, n. 3, p. 875–883, 3 jan. 2005.

GERRITSMANN, H.; STALDER, G. L.; SEILERN-MOY, K.; KNAUER, F.; WALZER, C. Comparison of S(+)-Ketamine and Ketamine, with Medetomidine, for Field Anaesthesia in the European Brown Hare (*Lepus Europaeus*). **Veterinary Anaesthesia and Analgesia**, v. 39, n. 5, p. 511–519, 1 set. 2012.

GIELEN, M.; RETCHLESS, B. S.; MONY, L.; JOHNSON, J. W.; PAOLETTI, P. Mechanism of Differential Control of NMDA Receptor Activity by NR2 Subunits. **Nature**, v. 459, n. 7247, p. 703–707, 4 jun. 2009.

GINGRICH, J. A.; CARON, and M. G. Recent Advances in the Molecular Biology of Dopamine Receptors. **Annual Review of Neuroscience**, v. 16, n. 1, p. 299–321, 1993.

GNANALINGHAM, K. K.; JENNER, P.; HUNTER, A. J.; MARSDEN, C. D. The Differential Behavioural Effects of Benzazepine D₁ Dopamine Agonists with Varying Efficacies, Co-Administered with Quinpirole in Primate and Rodent Models of Parkinson's Disease. **Psychopharmacology**, v. 117, n. 3, p. 287–297, fev. 1995.

GOLD, L. H.; KOOB, G. F. MDMA Produces Stimulant-like Conditioned Locomotor Activity. **Psychopharmacology**, v. 99, n. 3, p. 352–356, nov. 1989.

GOLD, L. H.; SWERDLOW, N. R.; KOOB, G. F. The role of mesolimbic dopamine in conditioned locomotion produced by amphetamine. **Behavioral Neuroscience**, v. 102, n. 4, p. 544–552, 1988.

GRAEFF, F. G. Drogas psicotrópicas e seu modo de ação, 2^a edição. **Pedagógica e Universitária Ltda, São Paulo: EPU**, 1989.

GRAEFF, F. G.; BRANDÃO, M. L. **Neurobiologia das doenças mentais - caversan livros**. 2. ed. [s.l.] Lemos editorial e gráficos Ltda, 1993.

GREENHOUSE, S. W.; GEISSER, S. On Methods in the Analysis of Profile Data. **Psychometrika**, v. 24, n. 2, p. 95–112, jun. 1959.

GREEN, S. M.; COTÉ, C. J. Ketamine and Neurotoxicity: Clinical Perspectives and Implications for Emergency Medicine. **Annals of Emergency Medicine**, v. 54, n. 2, p. 181–190, 1 ago. 2009.

HALL, C. S. THE INHERITANCE OF EMOTIONALITY. **Sigma Xi Quarterly**, v. 26, n. 1, p. 17–37, 1938.

HALL, F. S.; LI, X.-F.; RANDALL-THOMPSON, J.; SORA, I.; MURPHY, D. L.; LESCH, K.-P.; CARON, M.; UHL, G. R. Cocaine-conditioned locomotion in dopamine transporter, norepinephrine transporter and 5-HT transporter knockout mice. **Neuroscience**, v. 162, n. 4, p. 870–880, 15 set. 2009.

HAMILTON, K. R.; ELLIOTT, B. M.; BERGER, S. S.; GRUNBERG, N. E. Environmental enrichment attenuates nicotine behavioral sensitization in male and female rats. **Experimental and Clinical Psychopharmacology**, v. 22, n. 4, p. 356–363, 2014.

HETZLER, B. E.; SWAIN WAUTLET, B. Ketamine-induced locomotion in rats in an open-field. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 22, n. 4, p. 653–655, 1 abr. 1985.

HINSON, R. E.; POULOS, C. X. Sensitization to the behavioral effects of cocaine: Modification by Pavlovian conditioning. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 15, n. 4, p. 559–562, out. 1981.

HM GOVERNMENT. **Drug Strategy 2010 - Reducing Demand, Restricting Supply, Building Recovery: Supporting People to Live a Drug Free Life | MHFE**. Disponível em: <<http://mhfe.org.uk/content/drug-strategy-2010-reducing-demand-restricting-supply-building-recovery-supporting-people-li>>. Acesso em: 21 jul. 2015.

HOYER, D.; CLARKE, D. E.; FOZARD, J. R.; HARTIG, P. R.; MARTIN, G. R.; MYLECHARANE, E. J.; SAXENA, P. R.; HUMPHREY, P. P. International Union of Pharmacology Classification of Receptors for 5-Hydroxytryptamine (Serotonin). **Pharmacological Reviews**, v. 46, n. 2, p. 157–203, 6 jan. 1994.

HUANG, X.; HUANG, K.; ZHENG, W.; BEVERIDGE, T. J. R.; YANG, S.; LI, X.; LI, P.; ZHOU, W.; LIU, Y. The effects of GSK-3 β blockade on ketamine self-administration and relapse to drug-seeking behavior in rats. **Drug and Alcohol Dependence**, v. 147, p. 257–265, 1 fev. 2015.

IRIFUNE, M.; SATO, T.; KAMATA, Y.; NISHIKAWA, T.; NOMOTO, M.; FUKUDA, T.; KAWAHARA, M. Inhibition by Diazepam of Ketamine-Induced Hyperlocomotion and Dopamine Turnover in Mice. **Canadian Journal of Anaesthesia = Journal Canadien D'anesthésie**, v. 45, n. 5 Pt 1, p. 471–478, maio 1998.

IRIFUNE, M.; SHIMIZU, T.; NOMOTO, M. Ketamine-induced hyperlocomotion associated with alteration of presynaptic components of dopamine neurons in the nucleus accumbens of mice. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 40, n. 2, p. 399–407, out. 1991.

ITZHAK, Y.; MARTIN, J. L. Effects of Cocaine, Nicotine, Dizocipiline and Alcohol on Mice Locomotor Activity: Cocaine-Alcohol Cross-Sensitization Involves Upregulation of Striatal Dopamine Transporter Binding Sites. **Brain research**, v. 818, n. 2, p. 204–211, 13 fev. 1999.

ITZHAK, Y.; MARTIN, J. L. Blockade of alcohol-induced locomotor sensitization and conditioned place preference in DBA mice by 7-nitroindazole. **Brain Research**, v. 858, n. 2, p. 402–407, 10 mar. 2000.

ITZHAK, Y.; MARTIN, J. L.; BLACK, M. D.; ALI, S. F. Effect of Melatonin on Methamphetamine- and 1-Methyl-4-Phenyl-1,2,3,6-Tetrahydropyridine-Induced Dopaminergic Neurotoxicity and Methamphetamine-Induced Behavioral Sensitization. **Neuropharmacology**, v. 37, n. 6, p. 781–791, jun. 1998.

JANSEN, K. L. R. The Ketamine Model of the Near-Death Experience: A Central Role for the N-Methyl-D-Aspartate Receptor. **Journal of Near-Death Studies**, v. 16, n. 1, p. 5–26, 1 mar. 1997.

JAVITT, D. C. Glutamate as a Therapeutic Target in Psychiatric Disorders. **Molecular Psychiatry**, v. 9, n. 11, p. 984–997, 27 jul. 2004.

JEEVAKUMAR, V.; DRISKILL, C.; PAINE, A.; SOBHANIAN, M.; VAKIL, H.; MORRIS, B.; RAMOS, J.; KROENER, S. Ketamine administration during the second postnatal week induces enduring schizophrenia-like behavioral symptoms and reduces parvalbumin expression in the medial prefrontal cortex of adult mice. **Behavioural Brain Research**, v. 282, p. 165–175, 1 abr. 2015.

JOHNSON, J. L. Glutamic acid as a synaptic transmitter in the nervous system. A review. **Brain Research**, v. 37, n. 1, p. 1–19, 11 fev. 1972.

JOHNSON, K. M.; PHILLIPS, M.; WANG, C.; KEVETTER, G. A. Chronic Phencyclidine Induces Behavioral Sensitization and Apoptotic Cell Death in the Olfactory and Piriform Cortex. **Journal of Neuroscience Research**, v. 52, n. 6, p. 709–722, 15 jun. 1998.

JOHNSTON, L. D.; O'MALLEY, P. M.; MIECH, R. A.; BACHMAN, J. G.; SCHULENBERG, J. E. **Monitoring the Future national survey results on drug use, 1975-2014. Overview. Key Findings on Adolescent Drug Use. National Institute on Drug Abuse.** Disponível em: <<http://www.monitoringthefuture.org/>>. Acesso em: 24 jul. 2015.

JONES, C. G.; YANG, P. B.; WILCOX, V. T.; DAFNY, N. Amphetamine Alters the Circadian Locomotor Activity Pattern of Adult WKY Female Rats. **Journal of Behavioral and Brain Science**, v. 2014, 14 maio 2014. Disponível em: <<http://www.scirp.org/journal/PaperInformation.aspx?PaperID=45855>>. Acesso em: 11 ago. 2015.

KALIVAS, P. W.; DUFFY, P. Sensitization to Repeated Morphine Injection in the Rat: Possible Involvement of A10 Dopamine Neurons. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 241, n. 1, p. 204–212, 4 jan. 1987.

KALIVAS, P. W.; STEWART, J. Dopamine Transmission in the Initiation and Expression of Drug- and Stress-Induced Sensitization of Motor Activity. **Brain research. Brain research reviews**, v. 16, n. 3, p. 223–244, dez. 1991.

KALSI, S. S. The epidemiology and patterns of acute and chronic toxicity associated with recreational ketamine use. **Emerging Health Threats Journal**, v. 4, 15 abr. 2011. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3168228/>>. Acesso em: 5 mar. 2014.

KAPUR, S.; SEEMAN, P. Does Fast Dissociation from the Dopamine d(2) Receptor Explain the Action of Atypical Antipsychotics?: A New Hypothesis. **The American Journal of Psychiatry**, v. 158, n. 3, p. 360–369, mar. 2001.

KAPUR, S.; SEEMAN, P. NMDA Receptor Antagonists Ketamine and PCP Have Direct Effects on the Dopamine D(2) and Serotonin 5-HT(2) receptors-Implications for Models of Schizophrenia. **Molecular psychiatry**, v. 7, n. 8, p. 837–844, 2002.

KAPUR, S.; ZIPURSKY, R. B.; REMINGTON, G.; JONES, C.; DASILVA, J.; WILSON, A. A.; HOULE, S. 5-HT₂ and D₂ receptor occupancy of olanzapine in schizophrenia: a PET investigation. **American Journal of Psychiatry**, 1998.

KARLER, R.; CHAUDHRY, I. A.; CALDER, L. D.; TURKANIS, S. A. Amphetamine behavioral sensitization and the excitatory amino acids. **Brain Research**, v. 537, n. 1–2, p. 76–82, 24 dez. 1990.

KARL, T.; DUFFY, L.; O'BRIEN, E.; MATSUMOTO, I.; DEDOVA, I. Behavioural effects of chronic haloperidol and risperidone treatment in rats. **Behavioural Brain Research**, v. 171, n. 2, p. 286–294, 10 ago. 2006.

KEBABIAN, J. W.; CALNE, D. B. Multiple Receptors for Dopamine. **Nature**, v. 277, n. 5692, p. 93–96, 11 jan. 1979.

KELLER, S.; DELIUS, J. D.; ACERBO, M. J. Apomorphine Sensitization: Evoking Conditions, Context Dependence, Effect Persistence and Conditioned Nature. **Behavioural pharmacology**, v. 13, n. 3, p. 189–201, maio 2002.

Keyla, K - QUE DROGA É ESSA? Um sopro de vida, [s.d.]. Disponível em: <<http://cicutanalingua.wordpress.com/2012/05/02/ketamina-keyla-k-que-droga-e-essa/>>. Acesso em: 4 mar. 2014.

KIM, J. S.; KORNHUBER, H. H.; SCHMID-BURGK, W.; HOLZMÜLLER, B. Low Cerebrospinal Fluid Glutamate in Schizophrenic Patients and a New Hypothesis on Schizophrenia. **Neuroscience Letters**, v. 20, n. 3, p. 379–382, dez. 1980.

KOKKINIDIS, L.; ANISMAN, H. Perseveration and Rotational Behavior Elicited by D-Amphetamine in a Y-Maze Exploratory Task: Differential Effects of Intraperitoneal and Unilateral Intraventricular Administration. **Psychopharmacology**, v. 52, n. 2, p. 123–128, jan. 1977.

KOKKINIDIS, L.; ANISMAN, H. Circling Behavior Following Systemic D-Amphetamine Administration: Potential Noradrenergic and Dopaminergic Involvement. **Psychopharmacology**, v. 64, n. 1, p. 45–54, jan. 1979.

- KOTERMANSKI, S. E.; JOHNSON, J. W. Mg²⁺ imparts NMDA receptor subtype selectivity to the Alzheimer's drug memantine. **The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience**, v. 29, n. 9, p. 2774–2779, 4 mar. 2009.
- LAUTERBACH, E. C. Dextromethorphan as a Potential Rapid-Acting Antidepressant. **Medical hypotheses**, v. 76, n. 5, p. 717–719, maio 2011.
- LEE, C.-H.; GOUAUX, E. Amino Terminal Domains of the NMDA Receptor Are Organized as Local Heterodimers. **PLoS ONE**, v. 6, n. 4, p. e19180, 22 abr. 2011.
- LEE, K.-W.; HONG, J.-H.; CHOI, I. Y.; CHE, Y.; LEE, J.-K.; YANG, S.-D.; SONG, C.-W.; KANG, H. S.; LEE, J.-H.; NOH, J. S.; SHIN, H.-S.; HAN, P.-L. Impaired D2 Dopamine Receptor Function in Mice Lacking Type 5 Adenylyl Cyclase. **The Journal of Neuroscience**, v. 22, n. 18, p. 7931–7940, 15 set. 2002.
- LIU, J.; JORDAN, L. M. Stimulation of the Parapyramidal Region of the Neonatal Rat Brain Stem Produces Locomotor-Like Activity Involving Spinal 5-HT₇ and 5-HT_{2A} Receptors. **Journal of Neurophysiology**, v. 94, n. 2, p. 1392–1404, 1 ago. 2005.
- LIU, P.; WU, C.; SONG, W.; YU, L.; YANG, X.; XIANG, R.; WANG, F.; YANG, J. Uridine decreases morphine-induced behavioral sensitization by decreasing dorsal striatal dopamine release possibly via agonistic effects at GABA_A receptors. **European Neuropsychopharmacology**, v. 24, n. 9, p. 1557–1566, set. 2014.
- LUFT, A.; MENDES, F. F. Low S(+) Ketamine Doses: A Review. **Revista brasileira de anestesiologia**, v. 55, n. 4, p. 460–469, ago. 2005.
- MACASKILL, A. F.; CASSEL, J. M.; CARTER, A. G. Cocaine Exposure Reorganizes Cell Type- and Input-Specific Connectivity in the Nucleus Accumbens. **Nature Neuroscience**, v. 17, n. 9, p. 1198–1207, set. 2014.
- MAILMAN, R. B.; MURTHY, V. Third generation antipsychotic drugs: partial agonism or receptor functional selectivity? **Current pharmaceutical design**, v. 16, n. 5, p. 488–501, 2010.
- MARTIN-IVERSON, M. T.; MCMANUS, D. J. Stimulant-conditioned locomotion is not affected by blockade of D1 and/or D2 dopamine receptors during conditioning. **Brain Research**, v. 521, n. 1, p. 175–184, 25 jun. 1990.
- MASON, K.; COTTRELL, A. M.; CORRIGAN, A. G.; GILLATT, D. A.; MITCHELMORE, A. E. Ketamine-Associated Lower Urinary Tract Destruction: A New Radiological Challenge. **Clinical Radiology**, v. 65, n. 10, p. 795–800, 1 out. 2010.
- MATTINGLY, B. A.; GOTSICK, J. E. Conditioning and experiential factors affecting the development of sensitization to apomorphine. **Behavioral Neuroscience**, v. 103, n. 6, p. 1311–1317, 1989.
- MATTINGLY, B. A.; ROWLETT, J. K. Effects of repeated apomorphine and haloperidol treatments on subsequent behavioral sensitivity to apomorphine. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 34, n. 2, p. 345–347, out. 1989.

- MAUREL-REMY, S.; BERVOETS, K.; MILLAN, M. J. Blockade of phencyclidine-induced hyperlocomotion by clozapine and MDL 100,907 in rats reflects antagonism of 5-HT_{2A} receptors. **European Journal of Pharmacology**, v. 280, n. 2, p. R9–R11, 4 jul. 1995.
- MAZURSKI, E. J.; BENINGER, R. J. Effects of Selective Drugs for Dopaminergic D1 and D2 Receptors on Conditioned Locomotion in Rats. **Psychopharmacology**, v. 105, n. 1, p. 107–112, mar. 1991.
- MCDUGALL, S. A.; BAELLA, S. A.; STUEBNER, N. M.; HALLADAY, L. R.; CRAWFORD, C. A. Cocaine-Induced Behavioral Sensitization in Prewaning and Adult Rats: Effects of a Single Drug-Environment Pairing. **Psychopharmacology**, v. 193, n. 3, p. 323–332, ago. 2007.
- MCENTEE, W. J.; CROOK, T. H. Glutamate: Its Role in Learning, Memory, and the Aging Brain. **Psychopharmacology**, v. 111, n. 4, p. 391–401, jul. 1993.
- MELENDEZ, R. I.; LEE GREGORY, M.; BARDO, M. T.; KALIVAS, P. W. Impoverished Rearing Environment Alters Metabotropic Glutamate Receptor Expression and Function in the Prefrontal Cortex. **Neuropsychopharmacology**, v. 29, n. 11, p. 1980–1987, 9 jun. 2004.
- MELTZER, H. Y. What's atypical about atypical antipsychotic drugs? **Current Opinion in Pharmacology**, v. 4, n. 1, p. 53–57, fev. 2004.
- MEYER, P. J.; PHILLIPS, T. J. Sensitivity to Ketamine, Alone or in Combination With Ethanol, Is Altered in Mice Selectively Bred for Sensitivity to Ethanol's Locomotor Effects. **Alcoholism: Clinical and Experimental Research**, v. 27, n. 11, p. 1701–1709, 1 nov. 2003.
- MEYER, P. J.; PHILLIPS, T. J. Behavioral Sensitization to Ethanol Does Not Result in Cross-Sensitization to NMDA Receptor Antagonists. **Psychopharmacology**, v. 195, n. 1, p. 103–115, 26 jul. 2007.
- MILLAN, M. J.; BROCCO, M.; GOBERT, A.; JOLY, F.; BERVOETS, K.; RIVET, J.; NEWMAN-TANCREDI, A.; AUDINOT, V.; MAUREL, S. Contrasting Mechanisms of Action and Sensitivity to Antipsychotics of Phencyclidine versus Amphetamine: Importance of Nucleus Accumbens 5-HT_{2A} Sites for PCP-Induced Locomotion in the Rat. **The European journal of neuroscience**, v. 11, n. 12, p. 4419–4432, dez. 1999.
- MISSALE, C.; NASH, S. R.; ROBINSON, S. W.; JABER, M.; CARON, M. G. Dopamine Receptors: From Structure to Function. **Physiological Reviews**, v. 78, n. 1, p. 189–225, 1 jan. 1998.
- MORO, E. T.; FERRAZ, A. A. F.; MÓDOLO, N. S. P. Anesthesia and the Ecstasy user. **Revista Brasileira de Anestesiologia**, v. 56, n. 2, p. 183–188, abr. 2006.
- MYSLOBODSKY, M. S.; ACKERMANN, R. F.; GOLOVCHINSKY, V.; ENGEL JR., J. Ketamine-induced rotation: Interaction with GABA-transaminase inhibitors and picrotoxin. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 11, n. 5, p. 483–486, nov. 1979.

NEVE, K. A.; SEAMANS, J. K.; TRANTHAM-DAVIDSON, H. Dopamine Receptor Signaling. **Journal of Receptor and Signal Transduction Research**, v. 24, n. 3, p. 165–205, ago. 2004.

NISTRÌ, A.; CONSTANTÌ, A. Pharmacological characterization of different types of GABA and glutamate receptors in vertebrates and invertebrates. **Progress in Neurobiology**, v. 13, n. 2, p. 117–235, 1 jan. 1979.

NOPPERS, I.; OLOFSEN, E.; NIESTERS, M.; AARTS, L.; MOOREN, R.; DAHAN, A.; KHARASCH, E.; SARTON, E. Effect of Rifampicin on S-ketamine and S-norketamine Plasma Concentrations in Healthy Volunteers after Intravenous S-ketamine Administration. **Anesthesiology**, v. 114, n. 6, p. 1435–1445, jun. 2011.

NORTH, R. A.; UCHIMURA, N. 5-Hydroxytryptamine Acts at 5-HT₂ Receptors to Decrease Potassium Conductance in Rat Nucleus Accumbens Neurons. **The Journal of Physiology**, v. 417, n. 1, p. 1–12, 1 out. 1989.

OLNEY, J. W.; FARBER, N. B. NMDA Antagonists as Neurotherapeutic Drugs, Psychotogens, Neurotoxins, and Research Tools for Studying Schizophrenia. **Neuropsychopharmacology**, v. 13, n. 4, p. 335–345, dez. 1995.

O'NEILL, M. F.; SHAW, G. Comparison of Dopamine Receptor Antagonists on Hyperlocomotion Induced by Cocaine, Amphetamine, MK-801 and the Dopamine D₁ Agonist C-APB in Mice. **Psychopharmacology**, v. 145, n. 3, p. 237–250, ago. 1999.

PANLILIO, L. V.; SOLINAS, M.; MATTHEWS, S. A.; GOLDBERG, S. R. Previous Exposure to THC Alters the Reinforcing Efficacy and Anxiety-Related Effects of Cocaine in Rats. **Neuropsychopharmacology**, v. 32, n. 3, p. 646–657, 31 maio 2006.

PELEG-RAIBSTEIN, D.; KNUESEL, I.; FELDON, J. Amphetamine sensitization in rats as an animal model of schizophrenia. **Behavioural Brain Research**, v. 191, n. 2, p. 190–201, 22 ago. 2008.

PETRENKO, A. B.; YAMAKURA, T.; BABA, H.; SHIMOJI, K. The Role of N-Methyl-D-Aspartate (NMDA) Receptors in Pain: A Review. **Anesthesia and Analgesia**, v. 97, n. 4, p. 1108–1116, out. 2003.

PHILLIPS, M.; WANG, C.; JOHNSON, K. M. Pharmacological Characterization of Locomotor Sensitization Induced by Chronic Phencyclidine Administration. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 296, n. 3, p. 905–913, 3 jan. 2001.

PHILLIPS, M.; WANG, C.; LEONARD, G.; JOHNSON, K. M. Chronic Phencyclidine-Induced Apoptosis in Rat Olfactory Tubercle and Piriform Cortex: The Effects of Clozapine and Pentobarbital. v. 28:2308, 1997.

POPIK, P.; KOS, T.; SOWA-KUĆMA, M.; NOWAK, G. Lack of Persistent Effects of Ketamine in Rodent Models of Depression. **Psychopharmacology**, v. 198, n. 3, p. 421–430, 7 maio 2008.

POST, R. M. Cocaine psychoses: a continuum model. **American Journal of Psychiatry**, v. 132, n. 3, p. 225–231, 1 mar. 1975.

Que Droga - Informações e esclarecimentos. Disponível em: <<http://www.que droga.com.br/>>. Acesso em: 13 fev. 2016.

ROBINSON, T. E.; BECKER, J. B. Enduring Changes in Brain and Behavior Produced by Chronic Amphetamine Administration: A Review and Evaluation of Animal Models of Amphetamine Psychosis. **Brain Research**, v. 396, n. 2, p. 157–198, jun. 1986.

SACHS, B. D. The Development of Grooming and Its Expression in Adult Animals. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 525, p. 1–17, 1988.

SALVADOR, A. P. O. [UNESP. Comportamentos de aprendizado em grandes símios (Mammalia, Primates): revisando a literatura. **Aleph**, p. 51 f., 2014.

SEGAL, D. S.; KUCZENSKI, R. In vivo microdialysis reveals a diminished amphetamine-induced DA response corresponding to behavioral sensitization produced by repeated amphetamine pretreatment. **Brain Research**, v. 571, n. 2, p. 330–337, 7 fev. 1992.

SELF, D. W.; NESTLER, E. J. Relapse to Drug-Seeking: Neural and Molecular Mechanisms. **Drug and Alcohol Dependence**, v. 51, n. 1-2, p. 49–60, jul. 1998.

SHAHAM, Y.; STEWART, J.; KELSEY, J. E. Temporal Factors in the Effect of Restraint Stress on Morphine-Induced Behavioral Sensitization in the Rat. **Psychopharmacology**, v. 117, n. 1, p. 102–109, jan. 1995.

SIBLEY, D. R.; MONSMA, F. J. Molecular Biology of Dopamine Receptors. **Trends in Pharmacological Sciences**, v. 13, n. 2, p. 61–69, fev. 1992.

SIEGEL, R. K. Phencyclidine and Ketamine Intoxication: A Study of Four Populations of Recreational Users. **NIDA research monograph**, n. 21, p. 119–147, ago. 1978.

SŁAWIŃSKA, U.; MIAZGA, K.; JORDAN, L. M. The Role of Serotonin in the Control of Locomotor Movements and Strategies for Restoring Locomotion after Spinal Cord Injury. **Acta Neurobiologiae Experimentalis**, v. 74, n. 2, p. 172–187, 2014.

SNYDER, S. H. Amphetamine Psychosis: A “Model” Schizophrenia Mediated by Catecholamines. **American Journal of Psychiatry**, v. 130, n. 1, p. 61–67, 1 jan. 1973.

SPANAGEL, R.; WEISS, F.; SPANAGEL, R.; WEISS, F.; SPANAGEL, R.; WEISS, F. The Dopamine Hypothesis of Reward: Past and Current Status. **Trends in Neurosciences**, v. 22, n. 11, p. 521–527, 1 nov. 1999.

STEINKELLNER, T.; MUS, L.; EISENRAUCH, B.; CONSTANTINESCU, A.; LEO, D.; KONRAD, L.; RICKHAG, M.; SØRENSEN, G.; EFIMOVA, E. V.; KONG, E.; WILLEIT, M.; SOTNIKOVA, T. D.; KUDLACEK, O.; GETHER, U.; FREISSMUTH, M.; POLLAK, D. D.; GAINETDINOV, R. R.; SITTE, H. H. In Vivo Amphetamine Action Is Contingent on α CaMKII. **Neuropsychopharmacology**, v. 39, n. 11, p. 2681–2693, out. 2014.

STEWART, J.; BADIANI, A. Tolerance and sensitization to the behavioral effects of drugs. **Behavioural pharmacology**, v. 4, n. 4, p. 289–312, 1993.

STOOF, J. C.; KEBABIAN, J. W. Stoof JC, Keabian JW. Opposing roles for D-1 and D-2 dopamine receptors in efflux of cyclic AMP from rat neostriatum. *Nature* 294: 366-368. **Nature**, v. 294, n. 5839, p. 366–8, 1981.

STRANGE, P. G. The energetics of ligand binding at catecholamine receptors. **Trends in Pharmacological Sciences**, v. 17, n. 7, p. 238–244, jul. 1996.

SUGINO, H.; FUTAMURA, T.; MITSUMOTO, Y.; MAEDA, K.; MARUNAKA, Y. Atypical antipsychotics suppress production of proinflammatory cytokines and up-regulate interleukin-10 in lipopolysaccharide-treated mice. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, v. 33, n. 2, p. 303–307, 17 mar. 2009.

SUKHANOV, I.; CAFFINO, L.; EFIMOVA, E. V.; ESPINOZA, S.; SOTNIKOVA, T. D.; CERVO, L.; FUMAGALLI, F.; GAINETDINOV, R. R. Increased context-dependent conditioning to amphetamine in mice lacking TAAR1. **Pharmacological Research**, v. 103, p. 206–214, jan. 2016.

SUN, T.; HU, G.; LI, M. Repeated antipsychotic treatment progressively potentiates inhibition on phencyclidine-induced hyperlocomotion, but attenuates inhibition on amphetamine-induced hyperlocomotion: Relevance to animal models of antipsychotic drugs. **European Journal of Pharmacology**, v. 602, n. 2–3, p. 334–342, 14 jan. 2009.

SU, Y.-A.; SI, T.-M.; ZHOU, D.-F.; GUO, C.-M.; WANG, X.-D.; YANG, Y.; SHU, L.; LIANG, J.-H. Risperidone attenuates MK-801-induced hyperlocomotion in mice via the blockade of serotonin 5-HT_{2A/2C} receptors. **European Journal of Pharmacology**, v. 564, n. 1–3, p. 123–130, 14 jun. 2007.

SUZUKI, T.; KATO, H.; AOKI, T.; TSUDA, M.; NARITA, M.; MISAWA, M. Effects of the non-competitive NMDA receptor antagonist ketamine on morphine-induced place preference in mice. **Life Sciences**, v. 67, n. 4, p. 383–389, 16 jun. 2000.

SVENSSON, T. H.; MATHÉ, J. M.; ANDERSSON, J. L.; NOMIKOS, G. G.; HILDEBRAND, B. E.; MARCUS, M. Mode of Action of Atypical Neuroleptics in Relation to the Phencyclidine Model of Schizophrenia: Role of 5-HT₂ Receptor and Alpha 1-Adrenoceptor Antagonism [corrected]. **Journal of Clinical Psychopharmacology**, v. 15, n. 1 Suppl 1, p. 11S–18S, fev. 1995.

SZECHTMAN, H.; TALANGBAYAN, H.; EILAM, D. Environmental and Behavioral Components of Sensitization Induced by the Dopamine Agonist Quinpirole. **Behavioural Pharmacology**, v. 4, n. 4, p. 405–410, 1993.

TAJIMA-POZO, K.; DE CASTRO OLLER, M. J.; LEWCZUK, A.; MONTAÑES-RADA, F. Understanding the Direct and Indirect Costs of Patients with Schizophrenia. **F1000Research**, 6 jul. 2015. Disponível em: <<http://f1000research.com/articles/4-182/v1>>. Acesso em: 17 ago. 2015.

TASLIMI, Z.; AREZOOMANDAN, R.; OMRANIFARD, A.; GHALANDARI-SHAMAMI, M.; RIAHI, E.; VAFAEI, A. A.; RASHIDY-POUR, A.; HAGHPARAST, A. Orexin A in the ventral tegmental area induces conditioned place preference in a dose-dependent manner: Involvement of D1/D2 receptors in the nucleus accumbens. **Peptides**, v. 37, n. 2, p. 225–232, out. 2012.

TILSON, H. A.; RECH, R. H. Conditioned drug effects and absence of tolerance to d-amphetamine induced motor activity. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 1, n. 2, p. 149–153, 1 mar. 1973.

TIRELLI, E.; TAMBOUR, S.; MICHEL, A. Sensitised locomotion does not predict conditioned locomotion in cocaine-treated mice: further evidence against the excitatory conditioning model of context-dependent sensitisation. **European Neuropsychopharmacology**, v. 13, n. 4, p. 289–296, ago. 2003.

TRUJILLO, K. A.; AKIL, H. Inhibition of Morphine Tolerance and Dependence by the NMDA Receptor Antagonist MK-801. **Science**, v. 251, n. 4989, p. 85–87, 4 jan. 1991.

TRUJILLO, K. A.; AKIL, H. Excitatory amino acids and drugs of abuse: a role for N-methyl-d-aspartate receptors in drug tolerance, sensitization and physical dependence. **Drug and Alcohol Dependence**, Commonalities in mechanisms of drug dependence. v. 38, n. 2, p. 139–154, maio 1995.

TRUJILLO, K. A.; ZAMORA, J. J.; WARMOTH, K. P. Increased Response to Ketamine Following Treatment at Long Intervals: Implications for Intermittent Use. **Biological psychiatry**, v. 63, n. 2, p. 178–183, 15 jan. 2008.

TZSCHENTKE, T. M. REVIEW ON CPP: Measuring Reward with the Conditioned Place Preference (CPP) Paradigm: Update of the Last Decade. **Addiction Biology**, v. 12, n. 3-4, p. 227–462, 1 set. 2007.

UCHIHASHI, Y.; KURIBARA, H.; MORITA, T.; FUJITA, T. The Repeated Administration of Ketamine Induces an Enhancement of Its Stimulant Action in Mice. **The Japanese Journal of Pharmacology**, v. 61, n. 2, p. 149–151, 1993.

UZBAY, I. T.; WALLIS, C. J.; LAL, H.; FORSTER, M. J. Effects of NMDA receptor blockers on cocaine-stimulated locomotor activity in mice. **Behavioural Brain Research**, v. 108, n. 1, p. 57–61, fev. 2000.

VALENTI, O.; CIFELLI, P.; GILL, K. M.; GRACE, A. A. Antipsychotic drugs rapidly induce dopamine neuron depolarization block in a developmental rat model of schizophrenia. **The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience**, v. 31, n. 34, p. 12330–12338, 24 ago. 2011.

VASCONCELOS, S. M. M.; ANDRADE, M. de M.; SOARES, P. M.; CHAVES, B. G.; PATROCÍNIO, M. C. A.; SOUSA, F. C. F.; MACÊDO, D. S. **Cetamina: aspectos gerais e relação com a esquizofrenia**. Disponível em: <<http://www.hcnet.usp.br/ipq/revista/vol32/n1/10.html>>. Acesso em: 18 ago. 2015.

VEZINA, P. Sensitization of midbrain dopamine neuron reactivity and the self-administration of psychomotor stimulant drugs. **Neuroscience & Biobehavioral**

Reviews, Foundations and Innovations in the Neuroscience of Drug Abuse. v. 27, n. 8, p. 827–839, jan. 2004.

VOLLENWEIDER, F. X.; VOLLENWEIDER-SCHERPENHUYZEN, M. F.; BÄBLER, A.; VOGEL, H.; HELL, D. Psilocybin Induces Schizophrenia-like Psychosis in Humans via a Serotonin-2 Agonist Action. **Neuroreport**, v. 9, n. 17, p. 3897–3902, 1 dez. 1998.

WATANABE, M.; YOSHIKAWA, M.; TAKEYAMA, K.; HASHIMOTO, A.; KOBAYASHI, H.; SUZUKI, T. Subchronic Administration of Ketamine Decreases the mRNA Expression of Serine Racemase in Rat Brain. **The Tokai Journal of Experimental and Clinical Medicine**, v. 35, n. 4, p. 137–143, dez. 2010.

WHITE, J. M.; RYAN, C. F. Pharmacological properties of ketamine. **Drug and Alcohol Review**, v. 15, n. 2, p. 145–155, 1 jan. 1996.

WHITE, P. F.; MARIETTA, M. P.; PUDWILL, C. R.; WAY, W. L.; TREVOR, A. J. Effects of Halothane Anesthesia on the Biodisposition of Ketamine in Rats. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 196, n. 3, p. 545–555, 3 jan. 1976.

WOLF, M. E.; KHANSA, M. R. Repeated Administration of MK-801 Produces Sensitization to Its Own Locomotor Stimulant Effects but Blocks Sensitization to Amphetamine. **Brain Research**, v. 562, n. 1, p. 164–168, 18 out. 1991.

WOOD, R. D.; TIRELLI, E.; SNYDER, K. J.; HEYSER, C. J.; LAROCCA, T. M.; SPEAR, L. P. Evidence for Behavioral Sensitization to Cocaine in Preweanling Rat Pups. **Psychopharmacology**, v. 138, n. 2, p. 114–123, jul. 1998.

XU, X.; DOMINO, E. F. Phencyclidine-induced behavioral sensitization. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 47, n. 3, p. 603–608, 1 mar. 1994.

YAMADA, S.; HARANO, M.; ANNOH, N.; NAKAMURA, K.; TANAKA, M. Involvement of serotonin 2A receptors in phencyclidine-induced disruption of prepulse inhibition of the acoustic startle in rats. **Biological Psychiatry**, v. 46, n. 6, p. 832–838, 15 set. 1999.

YAMAMOTO, T.; NAKAYAMA, T.; YAMAGUCHI, J.; MATSUZAWA, M.; MISHINA, M.; IKEDA, K.; YAMAMOTO, H. Role of the NMDA receptor GluN2D subunit in the expression of ketamine-induced behavioral sensitization and region-specific activation of neuronal nitric oxide synthase. **Neuroscience Letters**, v. 610, p. 48–53, 1 jan. 2016.

YOUNG, A. M. J.; MORAN, P. M.; JOSEPH, M. H. The role of dopamine in conditioning and latent inhibition: What, when, where and how? **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, Festschrift in Honour of Jeffrey Gray - Issue 2: Schizophrenia and Consciousness. v. 29, n. 6, p. 963–976, 2005.

ZANIEWSKA, M.; MCCREARY, A. C.; FILIP, M. Interactions of Serotonin (5-HT)₂ Receptor-Targeting Ligands and Nicotine: Locomotor Activity Studies in Rats. **Synapse**, v. 63, n. 8, p. 653–661, 1 ago. 2009.

ZHANG, C.; LI, M. Contextual and behavioral control of antipsychotic sensitization induced by haloperidol and olanzapine. **Behavioural Pharmacology**, v. 23, n. 1, p. 66–79, fev. 2012.

ZUGNO, A. I.; DE MIRANDA, I. M.; BUDNI, J.; VOLPATO, A. M.; LUCA, R. D.; DEROZA, P. F.; DE OLIVEIRA, M. B.; HEYLMANN, A. S.; DA ROSA SILVEIRA, F.; WESSLER, P.; ANTUNES MASTELLA, G.; CIPRIANO, A. L.; QUEVEDO, J. Effect of maternal deprivation on acetylcholinesterase activity and behavioral changes on the ketamine-induced animal model of schizophrenia. **Neuroscience**, v. 248, p. 252–260, 17 set. 2013.