

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”  
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS  
CAMPUS DE BOTUCATU**

**Avaliação do estado emocional associado à  
catalepsia causada pela administração  
intraperitoneal de haloperidol**

**Ana Caroline Colombo**

**BOTUCATU – SP  
-2011-**

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”  
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS  
CAMPUS DE BOTUCATU**

**Avaliação do estado emocional associado à  
catalepsia causada pela administração  
intraperitoneal de haloperidol**

**Ana Caroline Colombo**

Monografia apresentada ao Departamento de Fisiologia do Instituto de Biociências de Botucatu da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” como parte das exigências para obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas.

**Orientador: Prof. Dr. Marcus Lira Brandão  
Co-orientador: Dra. Amanda Ribeiro de Oliveira  
Supervisão: Prof. Dr. Gilson Luiz Volpato**

**BOTUCATU – SP  
-2011-**

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.  
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO – CAMPUS DE BOTUCATU – UNESP  
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE

Colombo, Ana Caroline.

Avaliação do estado emocional associado à catalepsia causada pela administração intraperitoneal de haloperidol/ Ana Caroline Colombo. - Botucatu : [s. n.], 2011

Trabalho de conclusão de curso (bacharelado - Ciências Biológicas) – Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências de Botucatu

Orientador: Marcus Lira Brandão

Co-orientador: Amanda Ribeiro de Oliveira

Capes: 21003009

1. Neuropsicofarmacologia. 2. Psicotrópicos.

Palavras-chave: Campo Aberto; Medo Condicionado ao Contexto; Teste da Catalepsia; Vocalização Ultrassônica.

***A meus pais, Cristiane e Edson, pelo  
amor e apoio incondicional.***

***Dedico.***

*Ao Prof. Dr. Marcus Lira Brandão, pela acolhida e orientação.  
A Dra. Amanda R. de Oliveira, pelo ensinamento e co-orientação.  
Ao Prof. Dr. Gilson Luiz Volpato, pela confiança e supervisão.  
Ao Me. Adriano E. Reimer, pela colaboração e paciência.  
A todos os amigos do laboratório, pelo convívio e apoio.  
Ao meu irmão, meu tio e meus avós, pela torcida e confiança.  
Ao Léo, pelo amor e incentivo.  
Aos amigos de Botucatu, pela convivência mais que especial.  
Aos amigos de Ribeirão e de Itápolis, pelo apoio em cada etapa.  
Àqueles que mesmo distantes se fazem parecer tão próximos.*

***Agradeço.***

## RESUMO

O haloperidol é um antagonista de receptores dopaminérgicos utilizado no tratamento da esquizofrenia. Quando administrado de forma sistêmica em roedores, o haloperidol induz catalepsia, um estado de imobilidade muito semelhante ao observado na doença de Parkinson. Sabe-se que muitos dos sintomas do Parkinson são dependentes do estado emocional já que os pacientes imóveis são capazes de responder a gatilhos externos como barulho alto ou sinalização visual. Dados recentes destacam a importância da neurotransmissão glutamatérgica do colículo inferior (CI) sobre o estado cataléptico induzido pelo haloperidol em ratos. Tendo em vista a importância do CI no sistema aversivo e suas conexões com vias motoras, e conhecendo os relatos clínicos da influência emocional sobre o aspecto motor no Parkinson, pretendeu-se no presente estudo avaliar o estado emocional associado à catalepsia causada pela administração intraperitoneal de haloperidol. Para tanto, avaliamos a resposta defensiva dos animais por meio da análise das vocalizações ultrassônicas (VUs) de 22 kHz (indicativas de aversão) durante os testes de catalepsia, do campo aberto e do medo condicionado ao contexto. A administração sistêmica de haloperidol afetou a atividade motora em ratos, induzindo a catalepsia e diminuindo a atividade exploratória no campo aberto. Não foram observadas VUs de 22 kHz decorrentes do tratamento com haloperidol nos testes da catalepsia ou do campo aberto. No teste do medo condicionado ao contexto, o haloperidol aumentou o congelamento quando administrado antes do teste, mas diminuiu o congelamento no dia do teste quando administrado antes do treino. Nesse mesmo teste, o haloperidol diminuiu as VUs no dia em que foi administrado (treino ou teste). A catalepsia induzida pela administração sistêmica de haloperidol parece também ter afetado o aspecto motor subjacente à emissão das VUs. Desta forma, o esclarecimento da existência de um estado emocional aversivo associado ao estado cataléptico foi prejudicado.

## ABSTRACT

Haloperidol is a dopamine receptor antagonist used to treat schizophrenia. When systemically administered in rodents, haloperidol induces catalepsy, a state of immobility very similar to that seen in Parkinson's disease. It is known that many of Parkinson's disease symptoms are dependent on the emotional state since patients are still able to respond to external triggers such as loud noise or visual signaling. Recent data highlighted the importance of glutamatergic neurotransmission in the inferior colliculus (IC) on the cataleptic state induced by haloperidol in rats. Given the importance of IC in the brain aversion system and its connections to motor pathways, and based on the clinical reports of the emotional influence on the motor aspect of Parkinson's disease, the objective of the present study was to evaluate the emotional aspect related to catalepsy induced by intraperitoneal administration of haloperidol. To this end, we analysed ultrasonic vocalizations (UVs) of 22 kHz (indicative of aversion) in rats during the tests of catalepsy, open field and contextual conditioned fear. Systemic administration of haloperidol affected the motor activity, inducing catalepsy and decreasing exploratory activity in the open field. There were no UVs of 22 kHz resulting from treatment with haloperidol in catalepsy or open field tests. In the contextual conditioned fear test, haloperidol increased freezing when administered before the test, but decreased freezing on test day when administered before training. In this same test, haloperidol decreased the UVs on the day it was administered (training or test). The catalepsy induced by systemic administration of haloperidol seems to have also affected the motor aspect of UVs. In this way, it was not possible to clarify the existence of an aversive emotional state associated haloperidol induced catalepsy.

# SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	8
2. OBJETIVOS.....	16
3. EXPERIMENTO I: Teste da catalepsia.....	17
3.1. MATERIAL E MÉTODOS.....	17
3.1.1. Animais.....	17
3.1.2. Drogas.....	18
3.1.3. Teste da catalepsia.....	18
3.1.4. Análise das vocalizações ultrassônicas.....	19
3.1.5. Análise estatística.....	21
3.2. RESULTADOS.....	22
4. EXPERIMENTO II: Teste do campo aberto.....	25
4.1. MATERIAL E MÉTODOS.....	25
4.1.1. Animais.....	25
4.1.2. Drogas.....	25
4.1.3. Teste da catalepsia.....	26
4.1.4. Teste do campo aberto.....	26
4.1.5. Análise das vocalizações ultrassônicas.....	27
4.1.6. Análise estatística.....	27
4.2. RESULTADOS.....	28
5. EXPERIMENTO III: Teste do medo condicionado ao contexto.....	32
5.1. MATERIAL E MÉTODOS.....	32
5.1.1. Animais.....	32
5.1.2. Drogas.....	32
5.1.3. Teste da catalepsia.....	33
5.1.4. Teste do medo condicionado ao contexto.....	33
5.1.5. Análise das vocalizações ultrassônicas.....	35
5.1.6. Análise estatística.....	35
5.2. RESULTADOS.....	36
5.2.1. Fase A: Expressão do medo condicionado ao contexto.....	36
5.2.2. Fase B: Aquisição do medo condicionado ao contexto.....	40
6. DISCUSSÃO.....	44
7. CONCLUSÕES.....	51
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	52

## 1. INTRODUÇÃO

A dopamina (DA) é um neurotransmissor da família das catecolaminas. As principais vias dopaminérgicas do sistema nervoso central (SNC) de mamíferos são: a via nigroestriatal, a via mesocorticolímbica e a via túbero-infundibular. A via nigroestriatal tem origem na substância negra e inerva predominantemente o estriado dorsal. A degeneração desta via leva à doença de Parkinson, ressaltando seu papel no controle da motricidade. A via mesocorticolímbica surge da área tegmental ventral e projeta-se para áreas como o córtex pré-frontal, hipocampo, amígdala e núcleo *accumbens*. Acredita-se estar envolvida na estabilidade emocional, contribuindo para a etiologia da esquizofrenia. Por fim, a via túbero-infundibular tem origem no hipotálamo e se projeta para hipófise que regula a secreção de prolactina, influenciando a lactação e a fertilidade (ALBANESE & MINCIACCHI, 1983; CIVELLI et al., 1993).

Os receptores de DA estão presentes em diferentes quantidades nas diferentes regiões anatômicas do SNC e podem ser divididos em duas subfamílias: a D<sub>1</sub>, que compreende os tipos D<sub>1</sub> e D<sub>5</sub>, e a D<sub>2</sub>, que compreende os tipos D<sub>2</sub>, D<sub>3</sub> e D<sub>4</sub>. Essa separação em subfamílias se deve a diferente ação biológica que esses receptores exercem no acoplamento e ativação do complexo da proteína G (CIVELLI et al., 1993).

A esquizofrenia é a mais importante psicose e pode ser caracterizada por duas dimensões de sintomas, os chamados sintomas positivos e sintomas negativos. Os sintomas positivos refletem um excesso ou uma distorção do

funcionamento normal, como os delírios e as alucinações. Os sintomas negativos, por sua vez, caracterizam-se pela ausência ou diminuição de comportamentos e funções normais, como anedonia e isolamento social (OORSCHOT & KWAPIL, 2009). Para tentar amenizar os sintomas dessa afecção o tratamento é feito com medicamentos antipsicóticos (KANE & FREEMAN, 1994). Existem vários tipos de antipsicóticos, e estes são classificados em típicos e atípicos. Dentre os antipsicóticos típicos, um dos mais utilizados é o haloperidol.

O haloperidol, um composto da classe das butirofenonas, é um antagonista de receptores dopaminérgicos do tipo D<sub>2</sub> capaz de aliviar os sintomas positivos da esquizofrenia devido a sua atuação na via mesocorticolímbica (SEEMAN, 1980; REYNOLDS, 1992). Porém, os antipsicóticos podem causar efeitos motores adversos, também chamados de efeitos extrapiramidais, como resultado da sua atividade na via nigroestriatal, particularmente nos gânglios basais (KANE & FREEMAN, 1994). Por isso, quando administrado de forma sistêmica, o haloperidol pode induzir catalepsia, um estado de imobilidade no qual podem ser observados diferentes graus de rigidez muscular e baixa flexibilidade (JANSSEN et al., 1965; KLEMM, 2001; JARDIM & GUIMARÃES, 2004; MELO et al., 2010).

Segundo Lorenc-Koci e colaboradores (1996), o padrão de rigidez muscular observado por meio de eletromiograma (EMG) é muito semelhante na catalepsia induzida pelo haloperidol e na doença de Parkinson. Por isso, a catalepsia tornou-se um bom modelo para se estudar

a rigidez parkinsoniana. A doença de Parkinson é resultado da degeneração de neurônios da via nigroestriatal, classicamente associada com o controle da atividade motora voluntária (WADENBERG et al., 2001). Para diagnosticá-la é preciso se basear em critérios clínicos como: bradicinesia (lentidão de movimentos), tremor de repouso, rigidez (aumento da resistência dos membros em resposta ao deslocamento passivo) e perda dos reflexos posturais. Além dessas alterações outros sintomas podem ser observados, tanto sintomas motores secundários (disartria, disfagia e distonia) quanto sintomas não motores (disfunção autonômica, anormalidades neurocomportamentais, distúrbios de sono e ataxia) (JANKOVIC, 2008).

Muitos dos sintomas do Parkinson são dependentes do estado emocional do paciente. Isso foi verificado em relatos clínicos que descreviam pacientes de Parkinson imóveis fazendo movimentos rápidos ao ouvir alguém gritar “fogo” ou ao lançar-lhe uma bola, ou seja, os pacientes eram capazes de responder a gatilhos externos como barulho alto ou sinalização visual. Esse fenômeno, chamado de cinesia paradóxica, sugere que os programas motores desses pacientes estão intactos, porém há uma dificuldade em acessá-los (JANKOVIC, 2008).

Paralelamente, dados recentes da literatura mostraram que a administração de antagonistas glutamatérgicos no colículo inferior (CI) atenua a catalepsia induzida pelo haloperidol, enquanto que o agonista NMDA nessa estrutura potencializa este estado em roedores (MELO et al., 2010). Ambos receptores de glutamato, NMDA e AMPA, estão envolvidos

na geração de respostas excitatórias e são encontrados no CI (BURGER & POLLAK, 1998; ZHANG & KELLY, 2001). O colículo inferior é uma estrutura do teto mesencefálico que pode ser dividida utilizando-se critérios citoarquitetônicos, em um núcleo central e os córtices externo e dorsal (HUFFMAN & HENSON JR, 1990).

O núcleo central do CI seria primordialmente uma estação relé das vias auditivas, enquanto que os córtices dorsal e externo, recebendo informações não só auditivas, mas também visuais e somáticas e enviando eferentes para vias motoras, seriam áreas participantes da integração acústico-motora. Além disso, diversos trabalhos demonstraram o envolvimento do núcleo central do CI na elaboração de estados aversivos, mantendo projeções indiretas com a substância cinzenta periaquedutal dorsal, o hipotálamo medial, a amígdala e o colículo superior (BRANDÃO et al., 1988; 1993; 1994; 2005; SILVEIRA et al., 1993; TOKUNAGA et al., 1984).

Tendo em vista essa importância do CI no sistema aversivo e suas conexões com vias motoras, e conhecendo relatos clínicos de uma influência emocional sobre o aspecto motor em pacientes de Parkinson, pretendeu-se no presente estudo avaliar o estado emocional associado à catalepsia induzida pela administração intraperitoneal de haloperidol. Para tanto, estudamos os efeitos do haloperidol nos testes de catalepsia, do campo aberto e do medo condicionado ao contexto.

O teste da catalepsia é um teste simples usado para avaliar o estado cataléptico de roedores. Neste teste, as patas dianteiras do indivíduo são

colocadas sobre uma barra horizontal disposta a 8 cm da superfície do solo, enquanto as patas traseiras se mantêm no chão. A variável mensurada é a latência para retirada das patas. Este teste é válido e muito utilizado, pois o comportamento cataléptico pode ser reconhecido como o fracasso do animal para corrigir posturas impostas externamente (MAVROJANNIS, 1903; MORELLI & DI CHIARA, 1985).

Outro teste amplamente utilizado para avaliar a atividade motora dos animais é o teste do campo aberto. Ele consiste na avaliação de comportamentos eliciados após a introdução do sujeito em um espaço novo e aberto do qual não pode escapar devido a uma parede ao redor. Observa-se o padrão comportamental através da análise do número de cruzamentos, de levantamentos, de autolimpeza e do tempo de imobilidade do indivíduo durante o teste. É possível avaliar o número de cruzamentos pois a superfície do solo no qual a arena se encontra é dividida geralmente em 12 quadrantes (WALSH & CUMMINS, 1976).

Com relação ao medo, um teste muito empregado é o teste do medo condicionado ao contexto. Para tanto, são necessários dois dias: o treino e o teste. No dia do treino, no qual ocorre à fase de aquisição do medo condicionado, um estímulo inicialmente neutro é pareado a um estímulo aversivo e adquire as propriedades aversivas deste, sendo então denominado estímulo condicionado. Já no dia do teste ocorre a fase de expressão, na qual o estímulo condicionado é apresentado sozinho e passa a eliciar respostas condicionadas de medo, similares àquelas produzidas pelo estímulo aversivo. Dessa maneira, pode-se interferir antes do

procedimento de condicionamento ou de teste, afetando desta forma a aquisição do medo condicionado ou sua expressão, respectivamente (FENDT & FANSELOW, 1999; PEZZE & FELDON, 2004).

O impacto fisiológico do medo condicionado ao contexto parece ser de muito maior significado do que o de medo a um estímulo discreto, como a luz ou o som. Assim, esse medo a um estímulo polimodal, o contexto, pode ser classificado como um forte estressor. Um dos indicadores mais usados nesses tipos de experimentos é o congelamento, a reação de defesa mais comum em ratos e camundongos em resposta a estímulos aversivos inevitáveis. O congelamento consiste em padrão comportamental complexo e coordenado, caracterizado pela ausência de todos os movimentos corporais, exceto movimentos respiratórios. Além disso, no congelamento observamos um alto nível de alerta e considerável tonicidade muscular (BLANCHARD et al., 2001; BOLLES & COLLIER, 1976; CARRIVE, 2000; FANSELOW, 1991).

Uma vez que o estado cataléptico pode influenciar o comportamento motor subjacente às repostas defensivas normalmente avaliadas em testes animais de medo/ansiedade, a análise da emissão de vocalizações ultrassônicas (VUs) de 22 kHz pelos animais torna-se um procedimento adicional e complementar para a caracterização do estado emocional. Esse procedimento é viável, pois as VUs podem variar de acordo com o estado emocional e a idade do indivíduo, bem como fatores ambientais (CONSTANTINI & D'AMATO, 2006). Elas são produzidas por um mecanismo semelhante a de um apito da laringe expirando contra a glote

fechada, diferentemente da produção de sons audíveis apresentados pela maioria dos mamíferos que se dá pela vibração de estruturas da laringe (ROBERTS, 1975; NY BY & WHITNEY, 1978).

As vocalizações ultrassônicas de 22 kHz são emitidas por ratos jovens e adultos em resposta a situações aversivas como, por exemplo, presença de predadores (BLANCHARD et al., 1991), choque nas patas (TONUE et al., 1986; CUOMO et al., 1988; BORTA et al., 2006), manuseio (BRUDZYNSKI & OCIEPA, 1992), sobressalto acústico (KALTWASSER, 1990), retirada de droga (BARROS & MICZEK, 1996; COVINGTON & MICZEK, 2003), isolamento social (FRANCIS, 1977) e após a derrota durante confronto entre machos (SALES, 1972). Além dessa classe de vocalização ultrassônica existem outras duas, as VUs de 40 kHz e as de 50 kHz.

As vocalizações de 40 kHz assim como as de 22 kHz indicam aversão, porém são emitidas apenas pelos filhotes e indicam isolamento e separação maternal (WÖHR & SCHWARTING, 2008). Já as vocalizações de 50 kHz são emitidas por ratos juvenis e adultos e indicam um estado emocional positivo que induz aproximação. Portanto, elas ocorrem durante brincadeiras juvenis (BRUNELLI et al., 2006), copulação (aproximação e ejaculação) (GEYER & BARFIELD, 1978; BARFIELD et al., 1979; BIALY et al., 2000), recompensa e estímulos incentivadores (comida, drogas e estimulação cerebral) (BURGDORF et al., 2000; 2001).

Assim, a proposta deste trabalho foi avaliar, através da análise das emissões de VUs de 22 kHz, o estado emocional associado à catalepsia

---

induzida pelo haloperidol frente a diferentes testes: da catalepsia, do campo aberto e do medo condicionado ao contexto. Acreditamos nesta hipótese baseados nos trabalhos de Jankovic (2008), que relata um componente emocional envolvido com a movimentação de pacientes parkinsonianos, e de Melo e colaboradores (2010), que destacam o envolvimento do CI no estado cataléptico induzido pelo haloperidol em ratos.

## 2. OBJETIVOS

O objetivo geral do presente estudo foi avaliar o estado emocional associado à catalepsia causada pela administração intraperitoneal de haloperidol. Para tanto, estudamos os efeitos do haloperidol nos testes de catalepsia, do campo aberto e do medo condicionado ao contexto. Uma vez que o estado cataléptico pode influenciar o comportamento motor subjacente às repostas defensivas normalmente avaliadas em testes animais de medo/ansiedade, optamos por analisar adicionalmente a emissão de vocalizações ultrassônicas de 22 kHz durante os diferentes testes empregados.

No experimento I, analisamos se a administração de distintas doses de haloperidol é capaz de produzir um estado cataléptico e se essa catalepsia por si só está associada a um estado aversivo. Para isso, fizemos o teste de catalepsia e simultaneamente medimos as VUs de 22 kHz.

No experimento II, testamos a influência do haloperidol sobre a atividade exploratória dos animais e avaliamos se o estado emocional desses animais catalépticos é alterado diante da exposição a um ambiente novo. Para isso, fizemos o teste do campo aberto e simultaneamente medimos as VUs de 22 kHz.

No experimento III, analisamos os efeitos do haloperidol na aquisição e expressão do medo condicionado ao contexto. Mais uma vez, avaliamos simultaneamente as emissões de VUs de 22 kHz, tanto durante a sessão treino quanto durante a sessão teste.

### **3. EXPERIMENTO I: Teste da catalepsia**

Para avaliar a catalepsia causada pela administração intraperitoneal (i.p.) do haloperidol e verificar se esta está associada a um estado emocional aversivo fizemos o teste da catalepsia e, simultaneamente, medimos as emissões de vocalizações ultrassônicas de 22 kHz.

#### **3.1. MATERIAL E MÉTODOS**

##### **3.1.1. Animais**

Utilizamos 26 ratos *Wistar* machos, com peso entre 200 e 250 g, provenientes do biotério central do *Campus* da USP – Ribeirão Preto. Os animais foram alojados em grupos de 4, em gaiolas de polipropileno (30 x 32 x 18 cm) forradas com maravalha, tendo livre acesso a água e comida. Os animais foram mantidos em um biotério setorial com um programa de iluminação artificial com ciclo claro-escuro 12 h x 12 h, com o início do período claro às 7:00 h e temperatura entre 23 e 25 °C. Todos os experimentos foram realizados durante a fase clara do ciclo. Este trabalho faz parte de um Projeto Temático aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais – CEUA – da USP de Ribeirão Preto (protocolo 11.1.308.53.9) e foi desenvolvido integralmente no Laboratório de Neuropsicofarmacologia da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo.

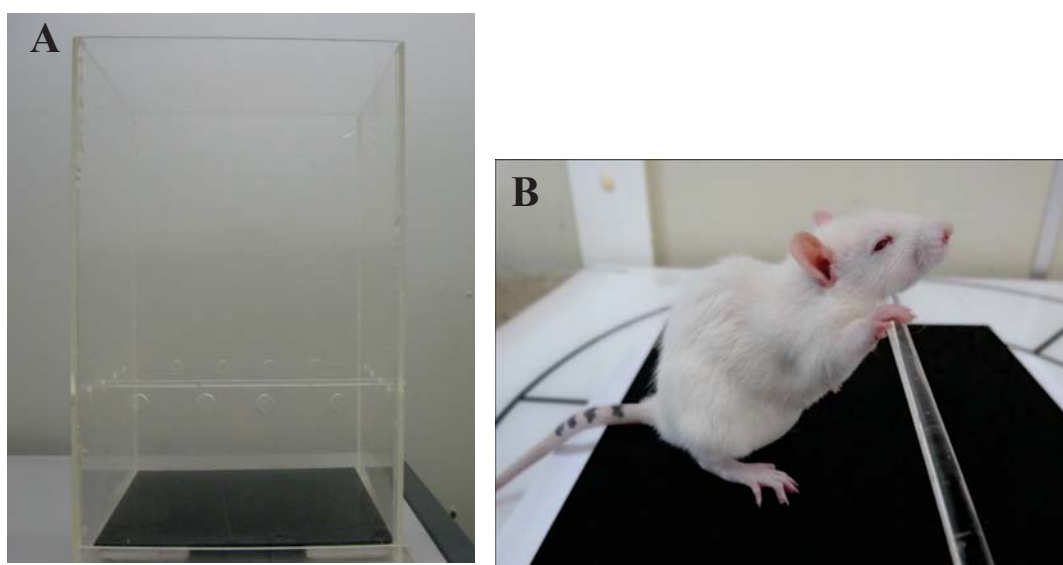
### 3.1.2. Drogas

O haloperidol foi obtido na forma comercial para uso intravenoso (Haldol® - Janssen Pharmaceutica, Beerse, Bélgica). Uma ampola de haloperidol (5,0 mg/1,0 mL) foi diluída em 4,0 ou 9,0 mL de salina fisiológica para obter a concentração de 1,0 ou 0,5 mg/mL, respectivamente. As doses utilizadas foram de 0,5 e 1,0 mg/kg, administradas intraperitonealmente em volume constante de 1,0 mL/kg. O grupo controle recebeu o volume equivalente de salina fisiológica. As drogas foram administradas 15 minutos antes do início dos testes. As doses e o tempo de espera foram selecionados com base na literatura (MELO et al., 2010).

### 3.1.3. Teste da catalepsia

Para avaliar o estado cataléptico do animal causado pela administração de haloperidol fizemos o teste da catalepsia. O animal era colocado em uma caixa de acrílico, cujas dimensões eram 25 x 25 x 39 cm (Fig. 1A). Nas paredes laterais havia furos a 8 cm da superfície do solo. Uma barra, também de acrílico, foi encaixada nesses furos de maneira que esta se estendia de uma lateral a outra da caixa. O teste implicou em colocar cuidadosamente as patas dianteiras do animal nesta barra horizontal, enquanto suas patas traseiras continuavam no chão (Fig. 1B), e verificar a latência para retirada das patas. É importante destacar que estabelecemos 10 minutos como latência máxima de retirada, ou seja, após esse tempo o registro era interrompido. Os animais receberam injeção i.p. de salina (n = 6), haloperidol na dose de 0,5 mg/kg (n = 10) ou haloperidol

na dose de 1,0 mg/kg (n = 10). Após 15 minutos da administração, a latência para retirada das patas foi medida. Nós repetimos a medida de latência a cada 15 minutos durante 60 minutos. Assim, obtivemos registros da latência em quatro tempos: 15, 30, 45 e 60 minutos após a administração de salina ou haloperidol.



**Figura 1.** A - Fotografia da caixa para a medida da catalepsia. B - Animal cataléptico durante o teste.

#### 3.1.4. Análise das vocalizações ultrassônicas

Simultaneamente ao teste de catalepsia, analisamos as emissões de vocalizações ultrassônicas (VUs) para avaliar a reatividade emocional dos animais, já que é sabido que ratos que passam por experiências aversivas emitem VUs de 22 kHz. Assim, gravamos as VUs durante 75 minutos após a administração do haloperidol e apresentamos os dados

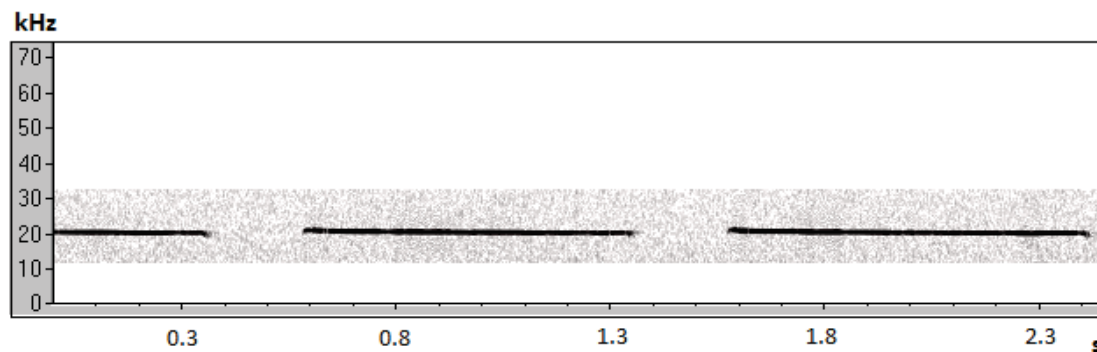
separadamente para os intervalos de tempo: de 0 a 15, de 15 a 30, de 30 a 45, de 45 a 60 e de 60 a 75 minutos.

Para gravar essas vocalizações ultrassônicas utilizamos um microfone especial capaz de captar as VUs emitidas pelos animais (Emkay FG-3629; Avisoft Bioacoustics, Berlim, Alemanha). Ele foi conectado a um computador através de uma interface UltraSoundGate 116 USB Audio (Avisoft Bioacoustics). Os registros acústicos foram gravados pelo programa Avisoft-Recorder (versão 4.2; Avisoft Bioacoustics) com taxa de amostragem de 250 kHz em formato de 16 bits.

A análise do registro acústico foi realizada com a ajuda do programa Avisoft SASLab Pro (versão 5.1.20; Avisoft Bioacoustics). Este programa gera, a partir do registro acústico, um espectrograma passível de análise quantitativa e qualitativa das VUs. O espectrograma é gerado através de uma transformada rápida de Fourier (FFT) (*FFT-length* 512 amostras, *frame size* 100%, janela *Hamming* e uma sobreposição na janela temporal de 75%). Correspondentemente, o espectrograma foi produzido com uma resolução de 488 Hz e resolução temporal de 0.512 ms. Frequências abaixo de 12 kHz e acima de 33 kHz foram reduzidas a 0 dB para minimizar o ruído ambiental.

Em seguida, utilizamos a função Automated Parameter Measurement do programa de análise para fazer a determinação automática dos parâmetros: frequência de pico média e duração dos eventos. Utilizando a frequência de pico média selecionamos os eventos que se encontravam no

intervalo entre 18 e 24 kHz. Assumimos que esses eventos correspondem às vocalizações de 22 kHz (Fig. 2).



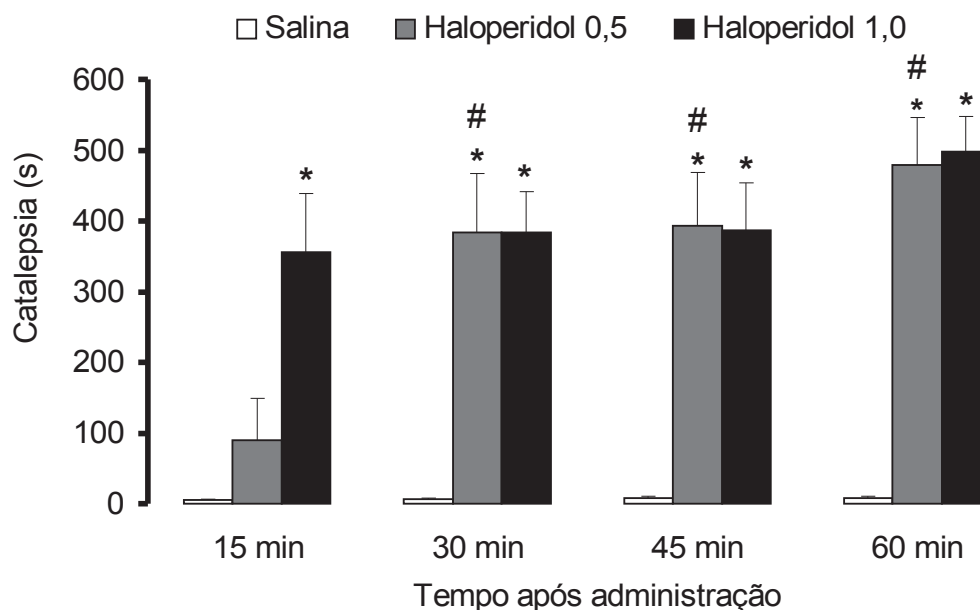
**Figura 2.** Espectrograma da vocalização de 22 kHz. Frequências abaixo de 12 kHz e acima de 33 kHz foram removidas da análise.

### 3.1.5. Análise estatística

Os dados são apresentados como média+EPM e foram analisados com o programa estatístico SigmaStat 3.11 (Systat Software Inc, IL, EUA). Para análise da catalepsia e das vocalizações ultrassônicas foram utilizadas análises de variância (ANOVA) de duas vias com medidas repetidas. No caso de significância estatística seguiu-se o teste de *Newman-Keuls*. Um valor de p menor que 0,05 foi considerado significativo.

### 3.2. RESULTADOS

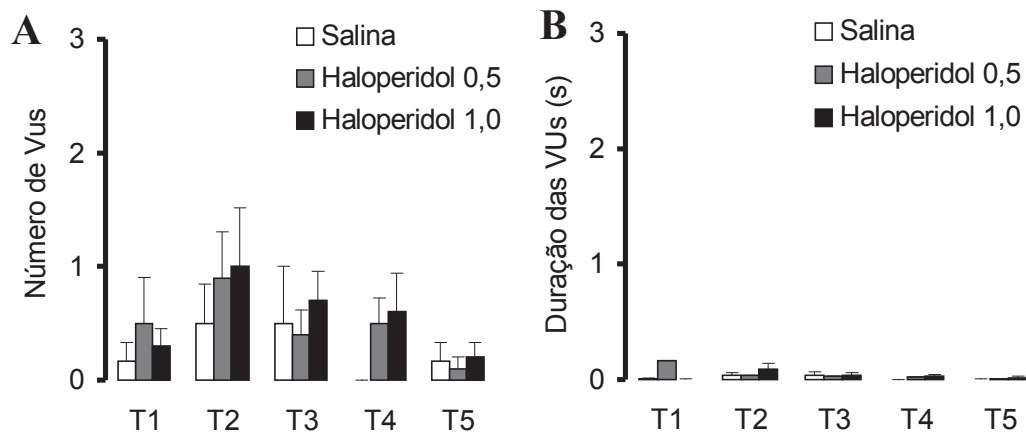
A figura 3 apresenta os resultados referentes à média da latência para retirada das patas no teste da catalepsia após a administração i.p. de salina (Salina) ou de haloperidol nas doses de 0,5 (Haloperidol 0,5) ou 1,0 mg/kg (Haloperidol 1,0) nos diferentes tempos: 15, 30, 45 e 60 minutos. A ANOVA de duas vias com medidas repetidas revelou efeito significativo para os fatores *tratamento* (Salina; Haloperidol 0,5; Haloperidol 1,0),  $F(2,69) = 14,46$ ,  $p < 0,05$ ; e *tempo* (15, 30, 45 e 60 minutos),  $F(3,103) = 6,74$ ,  $p < 0,05$ ; e interação entre os dois fatores (*tratamento x tempo*),  $F(6,103) = 3,55$ ,  $p < 0,05$ . A análise *post hoc* com o teste de *Newman-Keuls* revelou que a administração de haloperidol 1,0 mg/kg foi eficaz em produzir catalepsia em todos os tempos avaliados ( $p < 0,05$ ). Já haloperidol 0,5 mg/kg produziu catalepsia apenas 30, 45 e 60 min após sua administração ( $p < 0,05$ ), não apresentando efeitos significativos no tempo de 15 min ( $p > 0,05$ ).



**Figura 3.** Efeitos da injeção i.p. de Salina ou Haloperidol (nas doses de 0,5 e 1,0 mg/kg) sobre a latência para retirada das patas no teste de catalepsia, nos tempos 15, 30, 45 e 60 minutos. \* Significância estatística em relação ao salina; # Significância estatística em relação ao grupo Haloperidol 0,5 no tempo de 15 minutos. ( $p < 0,05$ , teste de *Newman-Keuls*). Média + EPM.  $n = 6$  salina e  $n = 10$  haloperidol (0,5 e 1,0 mg/kg).

A figura 4A ilustra o número de vocalizações ultrassônicas de 22 kHz e a figura 4B a duração destas vocalizações dos animais que receberam injeções i.p. de salina ou haloperidol nas doses 0,5 ou 1,0 mg/kg nos seguintes intervalos de tempo: 0-15, 15-30, 30-45, 45-60 e de 60-75 minutos. Note que quase não foram observadas vocalizações durante o teste de catalepsia. A ANOVA de duas vias com medidas repetidas aplicada ao número de VUs não revelou efeito significativo para tratamentos,  $F(2,92) = 0,65$ ,  $p > 0,05$ ; tempo,  $F(4,129) = 2,01$ ,  $p > 0,05$ ; ou interação,  $F(8,129) = 0,30$ ,  $p > 0,05$ . A ANOVA de duas vias com medidas repetidas aplicada a

duração das VUs também não revelou efeitos significativos para tratamentos,  $F(2,92) = 0,48$ ,  $p > 0,05$ ; tempo,  $F(4,129) = 0,49$ ,  $p > 0,05$ ; ou interação,  $F(8,129) = 0,76$ ,  $p > 0,05$ .



**Figura 4.** Efeitos da injeção i.p. de Salina ou Haloperidol (nas doses de 0,5 e 1,0 mg/kg) sobre o número **[A]** e duração **[B]** das vocalizações ultrassônicas (VUs) de 22 kHz durante o teste de catalepsia, nos intervalos de tempo de 0 a 15, de 15 a 30, de 30 a 45, de 45 a 60, e de 60 a 75 minutos, respectivamente T1, T2, T3, T4 e T5. Média + EPM.  $n = 6$  salina e  $n = 10$  haloperidol (0,5 e 1,0 mg/kg).

## **4. EXPERIMENTO II: Teste do campo aberto**

Para avaliar possíveis alterações motoras e o estado emocional dos animais, fizemos o teste do campo aberto ao mesmo tempo em que medimos as vocalizações ultrassônicas. Para confirmar se a droga estava fazendo efeito, fizemos o teste da catalepsia antes e depois de colocarmos o animal na arena.

### **4.1. MATERIAL E MÉTODOS**

#### **4.1.1. Animais**

Foram utilizados 19 ratos *Wistar* machos com peso variando entre 200 e 250 g, mantidos sob as mesmas condições descritas para o Experimento I.

#### **4.1.2. Drogas**

O haloperidol foi obtido na forma comercial para uso intravenoso (Haldol® - Janssen Pharmaceutica, Beerse, Bélgica). Uma ampola de haloperidol (5,0 mg/1,0 mL) foi diluída em 9,0 mL de salina fisiológica para obter a concentração de 1,0 mg/mL. A dose utilizada foi 1,0 mg/kg, administrada intraperitonealmente em volume constante de 1,0 mL/kg. O grupo controle recebeu o volume equivalente de salina fisiológica. A droga foi administrada 15 minutos antes do início dos testes. A dose de 0,5 mg/kg de haloperidol não foi utilizada neste estudo, já que observamos no experimento I que esta demorava mais tempo para produzir o efeito cataléptico.

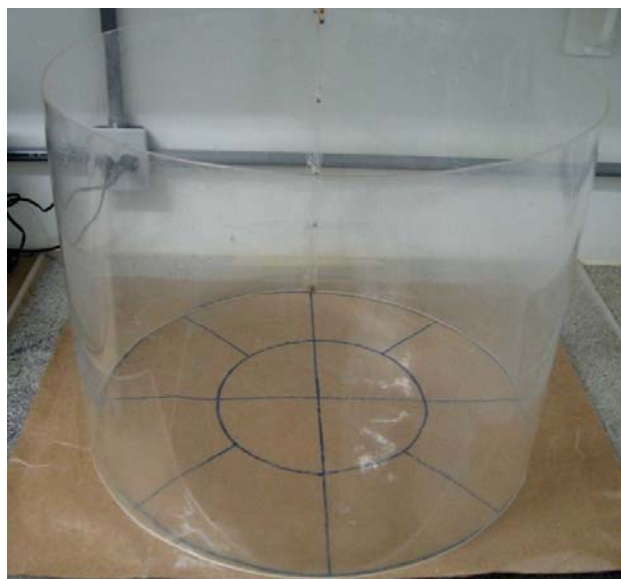
#### **4.1.3. Teste da catalepsia**

A caixa e o procedimento experimental utilizados foram os mesmos descritos no experimento I. Os animais receberam injeção i.p. de salina (n = 11) ou haloperidol na dose de 1,0 mg/kg (n = 8). Após 15 minutos da administração, a latência para retirada das patas foi medida. Após este teste, o animal foi colocado na arena por 30 minutos para avaliação de possíveis alterações motoras causadas pelo haloperidol. Ao final do teste do campo aberto, refizemos o teste de catalepsia para verificar a manutenção do efeito da droga.

#### **4.1.4. Teste do campo aberto**

Após o teste da catalepsia o animal foi submetido ao teste do campo aberto com duração de 30 min. Este teste visou avaliar o desempenho motor dos animais. Para tanto, utilizamos uma arena circular de acrílico transparente (60 cm de diâmetro e 50 cm de altura), colocada sobre um assoalho dividido em 12 quadrantes (Fig. 5).

O registro comportamental foi realizado minuto a minuto, e consistiu das medidas de cruzamentos (resposta de cruzar com as quatro patas um dos quadrantes do assoalho da arena), levantamentos (resposta de erguer-se sobre as duas patas traseiras, mantendo as duas patas dianteiras elevadas, com ou sem apoio na parede da arena), autolimpeza (higiene, com as patas dianteiras, da cabeça e/ou do corpo) e imobilidade (tempo em que o animal permanece parado).



**Figura 5.** Fotografia da arena na qual foi realizado o teste do campo aberto.

#### **4.1.5. Análise das vocalizações ultrassônicas**

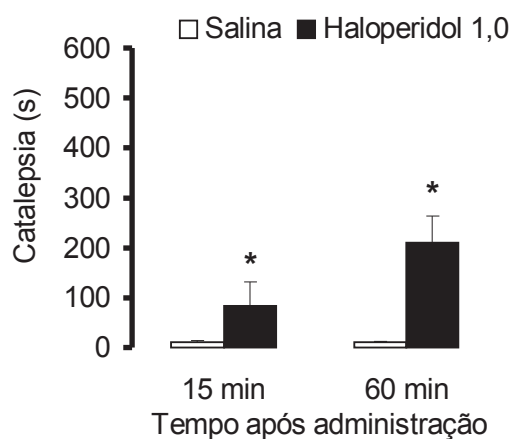
Foram utilizados o mesmo equipamento e o mesmo procedimento descritos no experimento I.

#### **4.1.6. Análise estatística**

Os dados são apresentados como média+EPM e foram analisados com o programa estatístico SigmaStat 3.11 (Systat Software Inc, IL, EUA). Para análise da catalepsia foi utilizada uma análise de variância (ANOVA) de duas vias com medidas repetidas. Para análise dos cruzamentos, levantamentos, autolimpeza e imobilidade do teste do campo aberto, e para análise das vocalizações ultrassônicas foi utilizado o *teste-t de Student*. Um valor de p menor que 0,05 foi considerado significativo.

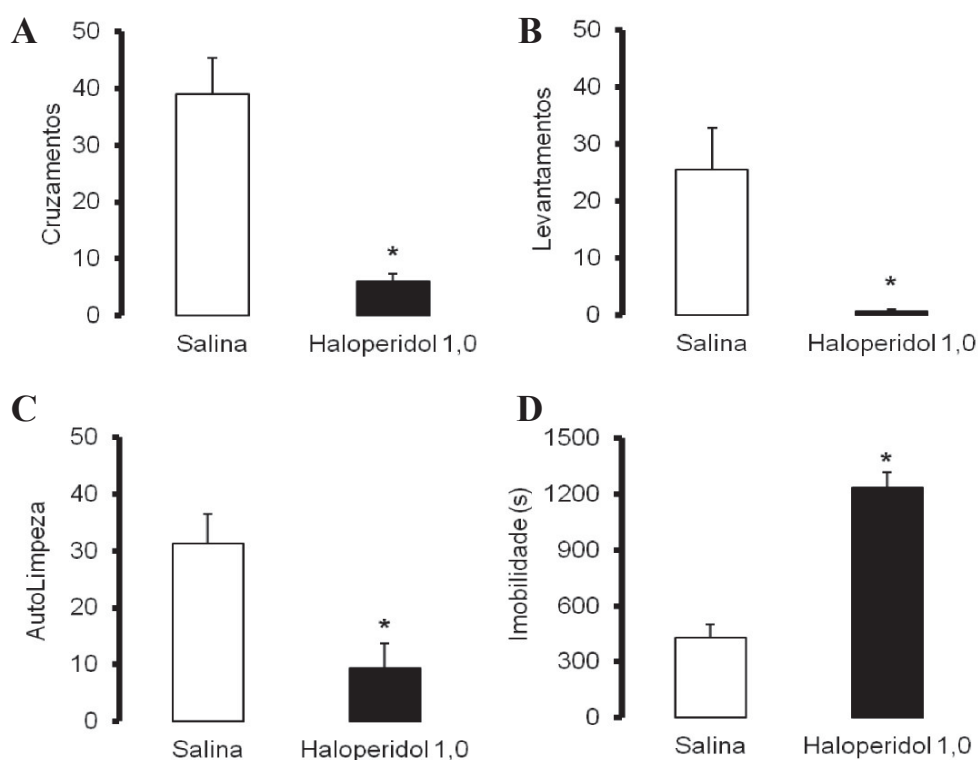
## 4.2. RESULTADOS

A figura 6 apresenta os resultados referentes à média da latência de retirada das patas no teste da catalepsia após a administração i.p. de salina ou de haloperidol na dose de 1,0 mg/kg antes (15 min) e após (60 min) a realização do teste do campo aberto. A ANOVA de duas vias com medidas repetidas revelou efeito significativo para o fator *tratamento*,  $F(1,17) = 21,48$ ,  $p < 0,05$ . Não houve diferença significativa entre os *tempos*,  $F(1,37) = 3,95$ ,  $p > 0,05$ , ou interação significativa entre os dois fatores (*tratamento x tempo*),  $F(1,37) = 4,07$ ,  $p > 0,05$ .



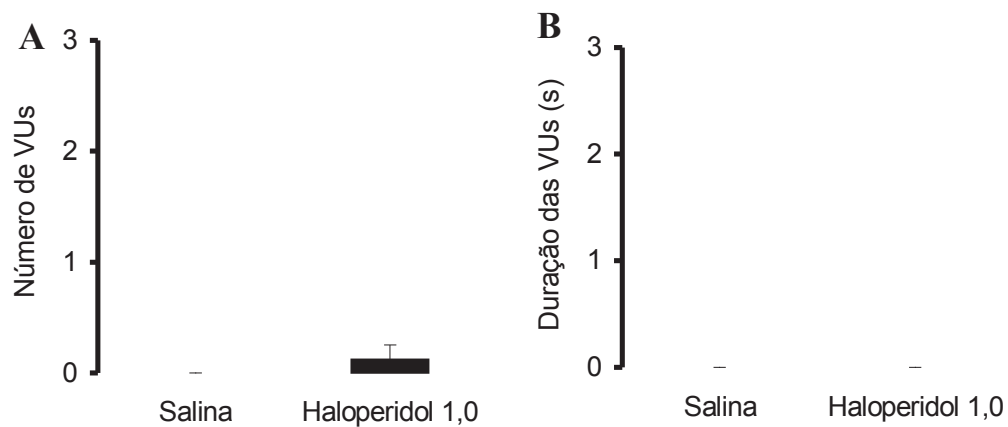
**Figura 6.** Efeitos da injeção i.p. de Salina ou Haloperidol na dose de 1,0 mg/kg sobre a latência para retirada das patas no teste de catalepsia, nos tempos 15 e 60 minutos, antes e depois do teste do campo aberto, respectivamente. \* Significância estatística em relação ao salina. ( $p < 0,05$ , teste de *Newman-Keuls*). Média + EPM.  $n = 11$  salina e  $n = 8$  haloperidol 1,0 mg/kg.

A figura 7 apresenta os resultados referentes aos 30 minutos de teste do campo aberto dos animais tratados com salina ou haloperidol na dose de 1,0 mg/kg. A figura 7A apresenta a média do número de cruzamentos entre os tratamentos, e o *teste-t de Student* revelou uma diminuição significativa dessa resposta nos animais tratados com haloperidol,  $t(17) = 4,37$ ,  $p < 0,05$ . As figuras 7B e 7C apresentam a média do número de levantamentos e autolimpeza, respectivamente. O *teste-t de Student* revelou uma diminuição significativa das respostas dos animais tratados com haloperidol em relação aos tratados com salina tanto para os levantamentos,  $t(17) = 2,88$ ,  $p < 0,05$ , como para a autolimpeza,  $t(17) = 3,02$ ,  $p < 0,05$ . Já a figura 7D apresenta a média do tempo de imobilidade dos animais, e o *teste-t de Student* revelou um aumento significativo da resposta dos animais tratados com haloperidol,  $t(17) = 7,33$ ,  $p < 0,05$ .



**Figura 7.** Efeitos da injeção i.p. de Salina ou Haloperidol na dose de 1,0 mg/kg sobre o número de cruzamentos [A], levantamentos [B], autolimpeza [C] e tempo de imobilidade [D] durante 30 minutos no teste do campo aberto. \* Significância estatística em relação ao salina. ( $p < 0,05$ , teste de Newman-Keuls). Média + EPM.  $n = 11$  salina e  $n = 8$  haloperidol 1,0 mg/kg.

A figura 8A ilustra o número de vocalizações ultrassônicas de 22 kHz e a figura 8B a duração destas vocalizações dos animais que receberam injeções i.p. de salina ou haloperidol na dose 1,0 mg/kg, durante os 30 minutos do teste do campo aberto. Note que mais uma vez quase não foram observadas vocalizações. O teste-*t de Student* não revelou efeitos significativos no número de vocalizações,  $t(17) = 1,19$ ,  $p > 0,05$ , ou na duração dessas vocalizações,  $t(17) = 1,19$ ,  $p > 0,05$ .



**Figura 8.** Efeitos da injeção i.p. de Salina ou Haloperidol na dose de 1,0 mg/kg sobre o número **[A]** e a duração **[B]** das vocalizações ultrassônicas de 22 kHz (VUs) durante os 30 minutos do teste do campo aberto. Média + EPM. n = 11 salina e n = 8 haloperidol 1,0 mg/kg.

## **5. EXPERIMENTO III: Teste do medo condicionado ao contexto**

Para avaliar o estado emocional do animal cataléptico em uma situação aversiva, fizemos o teste do medo condicionado ao contexto. Como este procedimento é dividido em dois dias (treino e teste), e visando distinguir aspectos motores e emocionais, subdividimos este experimento em duas fases. Assim, nas duas fases (A e B) fizemos os registros das vocalizações ultrassônicas durante ambos os dias (treino e teste), porém na fase A aplicamos salina ou haloperidol no dia do teste (expressão), enquanto na fase B aplicamos no dia do treino (aquisição). Nos dias em que foram administradas as drogas, foi feito o teste de catalepsia antes e depois de colocarmos os animais na caixa de medo condicionado para avaliar o efeito da droga.

### **5.1. MATERIAL E MÉTODOS**

#### **5.1.1. Animais**

Foram utilizados 45 ratos *Wistar* machos com peso variando entre 200 e 250 g, mantidos sob as mesmas condições descritas para o Experimento I.

#### **5.1.2. Drogas**

A droga e a dose utilizada foram iguais ao descrito no experimento II. Porém, desta vez esperamos 30 minutos antes de iniciarmos os testes. Como já descrito

acima, na fase A a droga foi administrada no dia do teste, enquanto que na fase B a droga foi administrada no dia do treino.

### **5.1.3. Teste da catalepsia**

A caixa e o procedimento experimental foram os mesmos descritos no experimento I. Na fase A, no dia do teste, os animais receberam injeção i.p. de salina (n = 13) ou haloperidol na dose de 1,0 mg/kg (n = 12). Após 30 minutos da administração, a latência para retirada das patas foi medida. Após este teste, o animal foi colocado na caixa experimental por 10 minutos para avaliação do congelamento condicionado ao contexto. Ao final do teste do medo condicionado ao contexto, refizemos o teste da catalepsia para verificar a manutenção do efeito da droga.

Na fase B, os animais receberam a injeção i.p. de salina (n = 8) ou haloperidol na dose de 1,0 mg/kg (n = 12) antes de iniciarmos o treino. Após 30 minutos da administração, os animais foram colocados na caixa da catalepsia e a latência da retirada da pata foi medida. Em seguida, os animais foram colocados na caixa de condicionamento por 15 minutos (5 minutos de habituação e aproximadamente 10 minutos de condicionamento). Refizemos o teste da catalepsia após o treino.

### **5.1.4. Teste do medo condicionado ao contexto**

O teste do medo condicionado ao contexto foi desenvolvido em uma caixa experimental que possuía 45 x 26 x 24 cm e cujas paredes laterais e

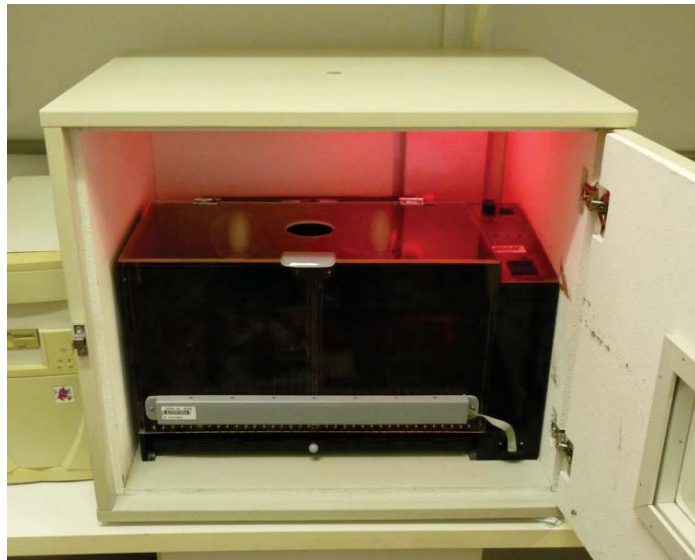
do fundo eram de acrílico preto. Já a porta, situada na face superior, e a parede frontal eram de acrílico transparente. O piso da caixa era constituído por 36 grades eletrificadas de 5 mm de diâmetro cada, separadas 1 cm uma da outra e conectadas a um gerador de choques (Insight, SP, Brasil). O equipamento estava contido em uma caixa (64 x 53 x 48 cm) de atenuação sonora constituída em madeira, evitando assim a interferência de estímulos ambientais durante a execução dos procedimentos (Fig. 9). Existia uma lâmpada incandescente vermelha disposta na parte superior da caixa que permaneceu ligada durante os experimentos, permitindo assim a observação do animal pelo experimentador. Um odor de ácido acético (2%) também foi utilizado para intensificar a caracterização do contexto. O odor advinha de um pequeno recipiente posicionado no piso da caixa de atenuação sonora, próximo à parede frontal da caixa de condicionamento.

O experimento de medo condicionado ao contexto foi dividido em dois dias: o dia do treino e o dia do teste.

- Sessão treino: Nessa etapa os animais foram colocados na caixa e, após 5 minutos de habituação nessa, receberam 10 choques nas patas. Os choques tinham intensidade de 0,6 mA, com duração de 1 segundo cada, sendo variável o intervalo entre os choques (faixa de 30 – 90 s). O tempo total despendido a essa sessão foi de aproximadamente 15 minutos.

- Sessão teste: Após 24 horas, os animais foram colocados na mesma caixa, desta vez sem choques. O tempo de congelamento foi registrado durante 10 minutos, sendo esse comportamento aqui definido

como a ausência total de movimentos do corpo e das vibrissas (exceto aqueles relacionados à respiração) por um período mínimo de 6 segundos.



**Figura 9.** Caixa experimental para o teste do medo condicionado ao contexto.

#### **5.1.5. Análise das vocalizações ultrassônicas**

Foram utilizados o mesmo equipamento e o mesmo procedimento descritos no experimento I.

#### **5.1.6. Análise estatística**

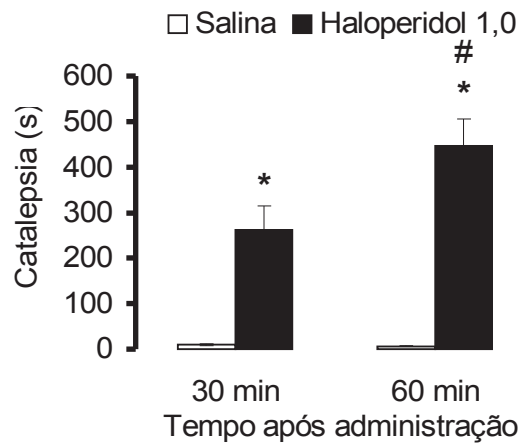
Os dados são apresentados como média+EPM e foram analisados com o programa estatístico SigmaStat 3.11 (Systat Software Inc, IL, EUA). Para análise da catalepsia e das vocalizações ultrassônicas foram utilizadas análises de variância (ANOVA) de duas vias com medidas repetidas. No

caso de significância estatística seguiu-se o teste de *Newman-Keuls*. Já para a análise do congelamento no teste de medo condicionado ao contexto foi utilizado o teste-*t* de *Student*. Um valor de *p* menor que 0,05 foi considerado significativo.

## 5.2. RESULTADOS

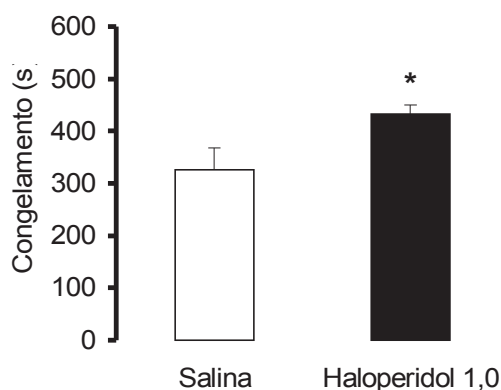
### 5.2.1. Fase A: Expressão do medo condicionado ao contexto

A figura 10 apresenta os resultados referentes à média da latência de retirada das patas no teste da catalepsia após a administração i.p. de salina ou de haloperidol na dose de 1,0 mg/kg antes (30 min) e após (60 min) a realização do teste do medo condicionado ao contexto. A análise ANOVA de duas vias com medidas repetidas revelou efeitos significativos para os fatores *tratamento*,  $F(1,23) = 57,50$ ,  $p < 0,05$ ; e *tempo*,  $F(1,49) = 10,65$ ,  $p > 0,05$ , e interação significativa entre os dois fatores (*tratamento x tempo*),  $F(1,49) = 11,35$ ,  $p > 0,05$ . A análise *post hoc* com o teste de *Newman-Keuls* revelou que a administração de haloperidol 1,0 mg/kg foi eficaz em produzir catalepsia nos tempos de 30 e 60 minutos ( $p < 0,05$ ), apresentando maior efeito no tempo de 60 min em relação ao de 30 min ( $p < 0,05$ ).



**Figura 10.** Efeitos da injeção i.p. de Salina ou Haloperidol na dose de 1,0 mg/kg sobre a latência para retirada das patas no teste de catalepsia nos tempos 30 e 60 minutos, antes e depois do teste do medo condicionado ao contexto, respectivamente. \* Significância estatística em relação ao salina; # Significância estatística em relação ao grupo Haloperidol 1,0 no tempo de 30 minutos. ( $p < 0,05$ , teste de *Newman-Keuls*). Média + EPM.  $n = 13$  salina e  $n = 12$  haloperidol 1,0 mg/kg.

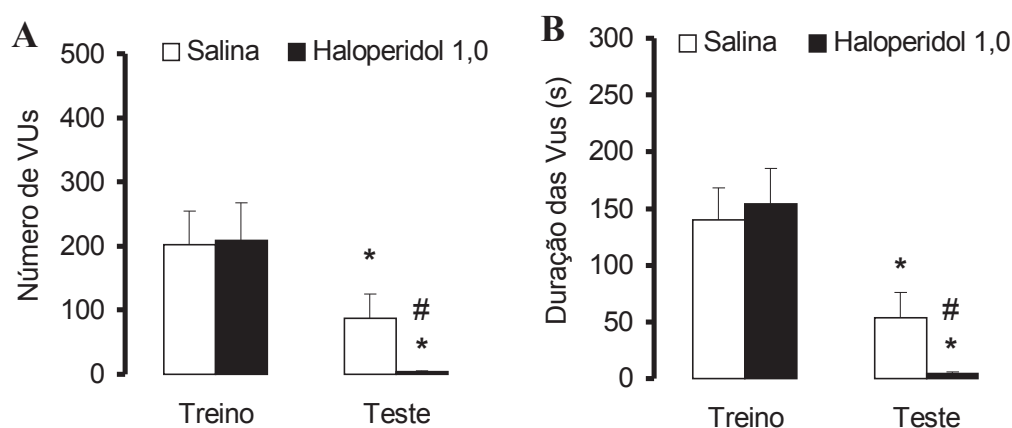
A figura 11 apresenta as médias de congelamento no dia do teste de medo condicionado ao contexto. Esse congelamento dos animais tratados com salina ou haloperidol na dose de 1,0 mg/kg foi medido durante 10 minutos. O teste-*t de Student* revelou um aumento significativo dessa resposta nos animais tratados com haloperidol,  $t(23) = 2,27$ ,  $p < 0,05$ .



**Figura 11.** Efeitos da injeção i.p. de Salina ou Haloperidol na dose de 1,0 mg/kg sobre o tempo de congelamento dos animais durante o teste do medo condicionado ao contexto. \* Significância estatística em relação ao salina. ( $p < 0,05$ , teste-*t* de Student). Média + EPM.  $n = 13$  salina e  $n = 12$  haloperidol 1,0 mg/kg.

A figura 12A ilustra o número de vocalizações ultrassônicas de 22 kHz e a figura 12B a duração destas vocalizações durante os dois dias (treino e teste), dos animais que receberam injeções i.p. de salina ou haloperidol na dose 1,0 mg/kg antes do teste. A ANOVA de duas vias com medidas repetidas não revelou efeito significativo no número de vocalizações para *tratamentos*,  $F(1,23) = 0,60$ ,  $p > 0,05$ ; ou interação significativa entre os dois fatores (*tratamento x condição*),  $F(1,49) = 1,47$ ,  $p > 0,05$ . Porém, revelou efeito significativo para a *condição*,  $F(1,49) = 13,66$ ,  $p < 0,05$ . A partir disso, fizemos um teste-*t* de Student que nos revelou uma diminuição da média do número de vocalizações pelos ratos tratados com haloperidol em relação aos ratos tratados com salina no dia do teste,  $t(23) = 2,25$ ,  $p < 0,05$ .

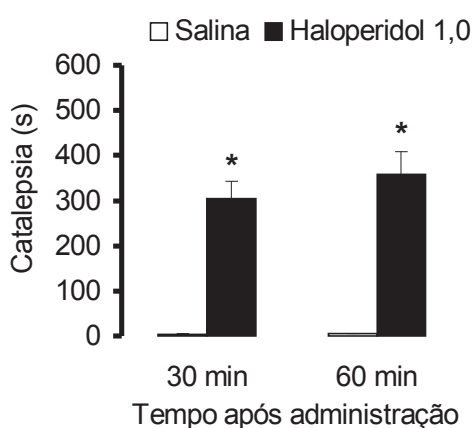
Para a análise da duração das vocalizações (fig. 12B), utilizamos uma ANOVA de duas vias com medidas repetidas que não revelou efeito significativo para *tratamento*,  $F(1,23) = 0,65$ ,  $p > 0,05$ ; ou interação significativa entre os dois fatores (*tratamento x condição*),  $F(1,49) = 2,03$ ,  $p > 0,05$ . Porém, revelou efeito significativo para a *condição*,  $F(1,49) = 25,53$ ,  $p < 0,05$ . A partir disso, fizemos um *teste-t de Student* que nos revelou uma diminuição da média da duração das vocalizações exibidas pelos ratos tratados com haloperidol em relação ratos tratados com salina no dia do teste,  $t(23) = 2,29$ ,  $p < 0,05$ .



**Figura 12.** Efeitos da injeção i.p. pré-teste de Salina ou Haloperidol na dose de 1,0 mg/kg sobre o número [A] e a duração [B] das vocalizações ultrassônicas de 22 kHz (VUs) emitidas pelos animais durante a sessão treino e a sessão teste de medo condicionado ao contexto. \* Significância estatística em relação à mesma condição no dia do treino; # Significância estatística em relação ao grupo Salina no dia do teste ( $p < 0,05$ , teste de *Newman-Keuls*). Média + EPM. N = 13 salina e n = 12 haloperidol 1,0 mg/kg.

### 5.2.2. Fase B: Aquisição do medo condicionado ao contexto

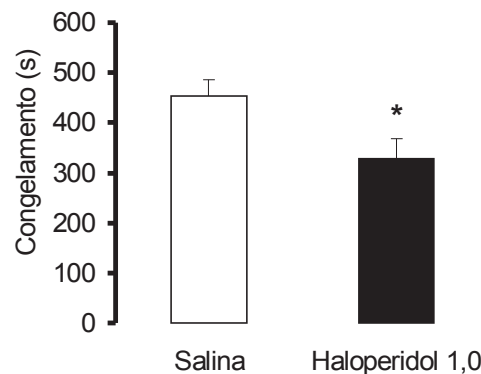
A figura 13 apresenta os resultados referente à média da latência de retirada das patas no teste da catalepsia após a administração i.p. de salina ou de haloperidol na dose de 1,0 mg/kg antes (30 min) e após (60 min) a realização do treino do medo condicionado ao contexto. A ANOVA de duas vias com medidas repetidas revelou efeito significativo para o fator *tratamento*,  $F(1,18) = 62,76$ ,  $p < 0,05$ . Não houve diferença significativa entre os *tempos*,  $F(1,39) = 0,64$ ,  $p > 0,05$ , ou interação significativa entre os dois fatores (*tratamento x tempo*),  $F(1,39) = 0,59$ ,  $p > 0,05$ .



**Figura 13.** Efeitos da injeção i.p. de Salina ou Haloperidol na dose de 1,0 mg/kg sobre a latência para retirada das patas no teste de catalepsia nos tempos 30 e 60 minutos, antes e depois do treino do medo condicionado ao contexto, respectivamente. \* Significância estatística em relação ao salina. ( $p < 0,05$ , teste de *Newman-Keuls*). Média + EPM.  $n = 8$  salina e  $n = 12$  haloperidol 1,0 mg/kg.

A figura 14 apresenta as médias de congelamento no dia do teste de medo condicionado ao contexto. Esse congelamento dos animais tratados com salina ou haloperidol na dose de 1,0 mg/kg foi medido durante 10

minutos. O *teste-t de Student* revelou uma diminuição significativa dessa resposta nos animais tratados com haloperidol no dia do treino,  $t(18) = 2,20$ ,  $p < 0,05$ .

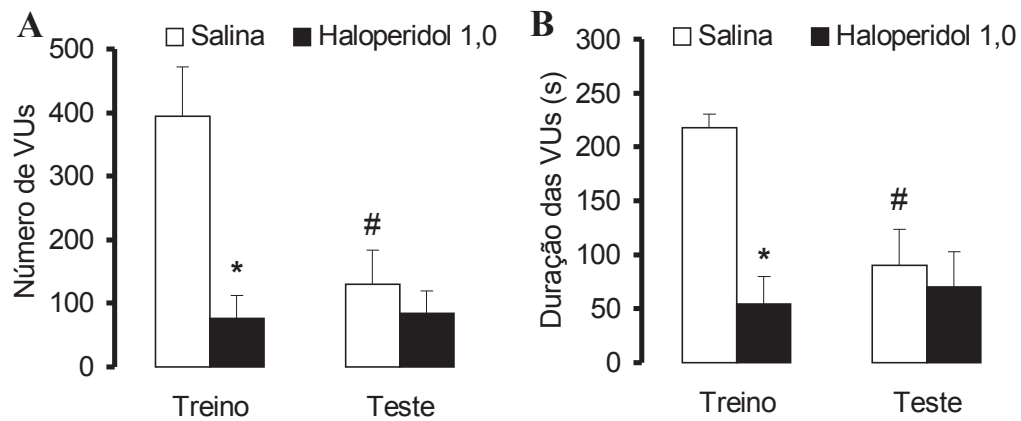


**Figura 14.** Efeitos da injeção i.p. de salina ou Haloperidol na dose de 1,0 mg/kg sobre o tempo de congelamento dos animais durante o teste do medo condicionado ao contexto. \* Significância estatística em relação ao salina. ( $p < 0,05$ , *teste-t de Student*). Média + EPM.  $n = 8$  salina e  $n = 12$  haloperidol 1,0 mg/kg.

A figura 15A ilustra o número de vocalizações ultrassônicas de 22 kHz e a figura 15B a duração destas vocalizações durante os dois dias (treino e teste), dos animais que receberam injeções i.p. pré-treino de salina ou haloperidol na dose 1,0 mg/kg. A ANOVA de duas vias com medidas repetidas revelou efeito significativo no número de vocalizações para *tratamento*,  $F(1,18) = 11,81$ ,  $p < 0,05$ ; *condição*,  $F(1,39) = 7,66$ ,  $p < 0,05$ ; e interação significativa entre os dois fatores (*tratamento x condição*),  $F(1,39) = 8,60$ ,  $p < 0,05$ . A análise *post hoc* com o teste de *Newman-Keuls* revelou que a administração de haloperidol 1,0 mg/kg diminuiu o número das vocalizações apenas no dia do treino quando comparados com o grupo salina ( $p < 0,05$ ). Além disso, os ratos tratados com salina apresentaram

uma diminuição significativa no número de vocalizações no dia do teste quando comparados com o dia do treino ( $p < 0,05$ ).

Para a análise da duração das vocalizações (fig. 15B), utilizamos uma ANOVA de duas vias com medidas repetidas que revelou efeitos significativos para *tratamento*,  $F(1,18) = 6,90$ ,  $p < 0,05$ ; *condição*,  $F(1,39) = 6,00$ ,  $p < 0,05$ ; e interação significativa entre os dois fatores (*tratamento x condição*),  $F(1,39) = 9,71$ ,  $p < 0,05$ . A análise *post hoc* com o teste de *Newman-Keuls* revelou que a administração de haloperidol 1,0 mg/kg diminuiu a duração das vocalizações apenas no dia do treino quando comparados com o grupo salina ( $p < 0,05$ ). Além disso, os ratos tratados com salina apresentaram uma diminuição significativa na duração das vocalizações no dia do teste quando comparadas com o dia do treino ( $p < 0,05$ ).



**Figura 15.** Efeitos da injeção i.p. pré-treino de Salina ou Haloperidol na dose de 1,0 mg/kg sobre o número [A] e a duração [B] das vocalizações ultrassônicas de 22 kHz (VUs) emitidas pelos animais durante a sessão treino e a sessão teste do medo condicionado ao contexto. \* Significância estatística em relação ao grupo salina; # Significância estatística em relação à mesma condição no dia do treino ( $p < 0,05$ , teste de *Newman-Keuls*). Média + EPM.  $n = 8$  salina e  $n = 12$  haloperidol 1,0 mg/kg.

## 6. DISCUSSÃO

Relatos clínicos demonstram que pacientes parkinsonianos são capazes de executar movimentos diante de uma situação ameaçadora, indicando que sua circuitaria motora permanece intacta mas incapaz de ser acionada devido a um possível fator emocional (JANKOVIC, 2008). Além disso, trabalho recente de Melo e colaboradores (2010) destacou a importância da neurotransmissão glutamatérgica do CI sobre o estado cataleptico induzido pelo haloperidol em ratos. Sabendo-se que o CI processa informações auditivas e possui conexões com vias motoras, além de fazer parte do sistema cerebral aversivo, investigamos no presente estudo se a catalepsia induzida pelo haloperidol, um tipo de imobilidade e um bom modelo para estudos sobre a doença de Parkinson, envolveria não apenas uma questão motora, mas também um estado emocional aversivo. Por isso, neste estudo avaliamos a resposta defensiva dos animais catalepticos através da análise das VUs durante os testes de catalepsia (experimento I), do campo aberto (experimento II) e do medo condicionado ao contexto (experimento III).

Os resultados do presente estudo confirmam os dados encontrados por outros autores de que o haloperidol, um antagonista de receptores  $D_2$ , induz catalepsia em ratos (DE RYCK et al., 1980; SANBERG, 1980; WADENBERG et al., 2001; VASCONCELOS et al., 2003). No experimento I, observamos que tanto a dose de haloperidol de 0,5 mg/kg quanto a de 1,0 mg/kg foram eficientes em causar a catalepsia. Esse efeito só foi observado após 30 min da administração da dose de

0,5 mg/kg, enquanto que a dose de 1,0 mg/kg produziu efeito a partir dos primeiros 15 minutos. Ambas as doses mantiveram o efeito até um período de 60 minutos após a administração. Por isso, utilizamos o haloperidol na dose de 1,0 mg/kg nos experimentos que se seguiram e observamos que esta dose foi sempre efetiva em causar catalepsia.

Ainda no experimento I, analisamos a emissão de VUs de 22 kHz pelos animais durante o teste da catalepsia. Nesse experimento não observamos quase nenhuma VU, independentemente do tratamento. Tal fato pode sugerir que talvez a catalepsia não esteja por si só associada a um estado emocional e, portanto, não leva o animal a emitir VUs.

Em seguida, foi realizado o teste do campo aberto em conjunto com a análise das VUs de 22 kHz. Este teste além de nos permitir analisar a atividade motora, representa uma situação de certo conflito para o animal: a possibilidade de explorar um ambiente novo em contraste à tendência em evitar o centro que é um espaço aberto, iluminado e desprotegido. Somado a isso, o comprometimento dos movimentos devido ao efeito do haloperidol pode impossibilitar o animal de explorar esse ambiente, tornando-se um fator adicional de conflito. Assim, refizemos o teste da catalepsia antes e após o teste do campo aberto e observamos o efeito da droga em ambos os tempos.

Verificamos que o haloperidol prejudicou a atividade motora no campo aberto, uma vez que diminuiu o número de cruzamentos, levantamentos e autolimpeza, e aumentou o tempo de imobilidade. Nossos dados estão de acordo com outros que mostraram uma diminuição da

locomoção causada pelo haloperidol (BRUHWYLER et al., 1991; MOLEWIJK et al., 1995). É importante destacar também o trabalho de Kovács e Wied (1978) que relatou uma diminuição da ambulação do animal neste mesmo teste com uma dose muito mais baixa de haloperidol (0,1 µg/rato) do que a utilizada no presente estudo. Portanto, a administração sistêmica de haloperidol afeta a atividade motora em ratos, induzindo a catalepsia e diminuindo a atividade exploratória no campo aberto. Novamente, não obtivemos quase nenhuma emissão de VU de 22 kHz, avaliada agora durante o teste do campo aberto. Portanto, a exposição ao campo aberto parece não ser uma situação aversiva suficiente para causar VUs e o estado emocional do animal cataléptico parece não ser alterado diante da exposição a um ambiente novo.

Na sequência, realizamos o experimento III visando observar a emissão dessas VUs indicativas de estados aversivos e analisar a aquisição e a expressão do medo condicionado ao contexto. Mais uma vez, fizemos o teste da catalepsia antes e após o teste ou o treino do medo condicionado ao contexto e observamos o efeito da droga em ambos os tempos. No experimento IIIA, no qual foi avaliado a expressão do medo condicionado contextual, obtivemos um aumento no congelamento do grupo tratado com haloperidol antes do teste em relação ao grupo salina. Esses resultados diferem de outros obtidos por Inoue e colaboradores (1996) que mostraram que o haloperidol não alterou a expressão desse congelamento. É provável que esse aumento em nosso experimento seja devido ao estado cataléptico em que o animal se encontrava e, portanto podendo não ser caracterizado

como um congelamento condicionado ao contexto, mas sim apenas como uma imobilidade. Já no experimento IIIB, no qual foi avaliado a aquisição do medo condicionado contextual, obtivemos uma diminuição significativa do congelamento dos animais tratados com haloperidol antes do treino em relação ao grupo salina. Nossos dados são congruentes com os resultados obtidos por Inoue e colaboradores (1996; 2005), que observaram que doses de 1,0 e 3,0 mg/kg de antipsicóticos típicos inibem significativamente a aquisição do congelamento condicionado.

É sabido que o estresse emocional condicionado produzido pelo choque nas patas inescapável aumenta as vocalizações ultrassônicas de 22 kHz (GROENINK et al., 1996). Os achados do experimento III corroboram os resultados descritos acima. Tanto na sessão treino como na sessão teste foram observadas emissões dessas VUs pelos animais controle, diferentemente dos outros testes nos quais quase não houve VUs. Além disso, ocorreu uma diminuição significativa no número e na duração das VUs emitidas pelo grupo salina na sessão teste quando comparada com a sessão treino nas duas etapas do experimento III. Por isso, podemos classificar a sessão treino como tendo um caráter mais aversivo do que a sessão teste, afinal é a sessão em que apresentou-se o estímulo aversivo incondicionado e inescapável, o choque nas patas.

O número e a duração das VUs do grupo tratado com haloperidol diminuiu significativamente no dia em que a droga foi aplicada, ou seja, no experimento IIIA em que a droga foi aplicada na sessão teste houve uma diminuição tanto no número quanto na duração das VUs na sessão teste do

grupo tratado com haloperidol neste dia. No experimento IIIB em que a droga foi aplicada na sessão treino também houve uma diminuição no número e na duração das VUs, agora na sessão treino, do grupo tratado com haloperidol nesse dia.

Nossos resultados sobre a diminuição das VUs causadas pela administração de haloperidol durante o teste do medo condicionado ao contexto (experimento IIIA) diferem do estudo de Molewijk e colaboradores (1995). Segundo eles, a dose de 1,0 mg/kg de haloperidol, mesma dose utilizada no presente estudo, não alterou o número ou a duração de VUs condicionadas ao contexto. Porém, esses autores observaram que em doses maiores (3 mg/kg) ocorreu uma diminuição das VUs.

Os resultados obtidos no experimento IIIB, que também mostraram a diminuição das VUs, agora durante o treino do medo condicionado ao contexto causadas pela administração de haloperidol, estão de acordo com os estudos de Naito e colaboradores (2003) durante o teste *air-puff*, caracterizado por ser tão aversivo quanto o choque nas patas por estes mesmos autores, indicando que talvez o haloperidol tenha um caráter ansiolítico. Porém, o efeito desse antipsicótico para essa medida é inconsistente. No estudo de Sánchez (2003) observou-se que o haloperidol não causou efeito ou causou um fraco efeito inibitório sobre as VUs eliciadas pelo choque nas patas, enquanto que no estudo de Cuomo e colaboradores (1988) não foi observado efeito desta dose de haloperidol sobre as VUs.

Ainda no experimento IIIB, observamos que o número e a duração das VUs do grupo tratado com haloperidol se manteve semelhante ao grupo salina na sessão teste. Possivelmente, esse padrão de resposta se deve ao fato de que animais que sofreram um estímulo aversivo anteriormente muitas vezes exercem, devido ao condicionamento contextual, vocalização antecipatória devido à re-exposição ao mesmo ambiente (para revisão ver MICZEK et al., 1995). O haloperidol administrado antes do treino não foi capaz de influenciar a aquisição do medo condicionado avaliado por meio da emissão de VUs no dia do teste.

A partir dos diferentes resultados para as VUs podemos inferir que a catalepsia induzida pela administração sistêmica de haloperidol talvez esteja afetando o aspecto motor dos músculos envolvidos com a emissão da VU. Diferentemente do que Molewijk e colaboradores (1995) sugeriram sobre a ausência de uma relação direta entre VU e o aspecto motor (já que observaram uma diminuição da atividade locomotora com a dose de 1,0 mg/kg, enquanto que a diminuição das VUs durante o teste do medo condicionado ocorreu apenas com a dose de 3,0 mg/kg), nossos resultados mostram que a mesma dose (1,0 mg/kg) causou uma diminuição da atividade motora e das VUs. Talvez haja uma interferência dopaminérgica sobre os músculos envolvidos na produção das VUs. Além disso, o haloperidol diminui a largura de banda de VUs de 50 kHz devido a uma interferência dopaminérgica sobre o mecanismo de modulação dessa VU que está envolvida com articulações a nível da laringe e a subsistemas respiratórios e próximos da língua (CIUCCI et al., 2007). Portanto, podemos

pensar que a emissão de VUs estava afetada em todos os experimentos desenvolvidos: teste da catalepsia, do campo aberto e do medo condicionado ao contexto.

Por tudo isso, não foi possível no presente estudo caracterizar de forma clara o aspecto emocional dos animais catalépticos. A catalepsia induzida pelo haloperidol afetou a atividade motora em ratos e, talvez, devido a esse componente motor tenha afetado também a emissão da VU. Apesar disso, ainda não descartamos a hipótese de que existe um estado emocional associado à catalepsia induzida pela administração sistêmica de haloperidol. Porém mais investigações são necessárias para verificar tal questão, entre elas: administração de diferentes doses de haloperidol para esclarecer as controvérsias na literatura sobre os efeitos desta droga no medo condicionado ao contexto; análise de alterações de parâmetros autonômicos (como temperatura, frequência cardíaca, pressão arterial) e a associação destas com os padrões comportamentais já avaliados; realização de outros testes comportamentais como o sobressalto acústico para verificar a influência do haloperidol sobre uma resposta reflexa e característica da espécie.

## 7. CONCLUSÕES

- A administração sistêmica de haloperidol afeta a atividade motora em ratos, induzindo a catalepsia e diminuindo a atividade exploratória no campo aberto.
- O haloperidol aumentou o congelamento quando administrado antes do teste, no entanto, é provável que esse aumento seja devido ao estado cataléptico e não possa ser caracterizado como um congelamento condicionado ao contexto.
- O haloperidol, quando administrado antes do treino, diminuiu o congelamento dos animais no dia do teste, ou seja, parece ter diminuído a aquisição do congelamento condicionado.
- Não foram observadas VUs de 22 kHz decorrentes do tratamento com haloperidol nos testes da catalepsia ou do campo aberto, sugerindo que a catalepsia não está associada a um estado emocional aversivo.
- No teste do medo condicionado, o haloperidol diminuiu as VUs no dia em que foi administrado (treino ou teste). Assim a catalepsia induzida pela administração sistêmica de haloperidol talvez esteja afetando o aspecto motor dos músculos envolvidos com a emissão das VUs.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALBANESE, A.; MINCIACCHI, D. Organization of the ascending projections from the ventral tegmental area: a multiple fluorescent retrograde tracer study in the rat. *The Journal of Comparative Neurology*, v. 216, p. 406-420, 1983.
- BARFIELD, R.J.; AUERBACH, P.; GEYER, L.A.; MCINTOSH, T.K. Ultrasonic vocalizations in rat sexual behavior. *American Zoologist*, v. 19, p. 469-480, 1979.
- BARROS, H.M.T.; MICZEK, K.A. Withdrawal from oral cocaine in rats: ultrasonic vocalizations and tactile startle. *Psychopharmacology (Berl)*, v. 125, p. 379-384, 1996.
- BIALY, M.; RYDZ, M.; KACZMAREK, L. Precontact 50-kHz vocalizations in male rats during acquisition of sexual experience. *Behavioral Neuroscience*, v. 114, p. 983-990, 2000.
- BLANCHARD, D.C.; GRIEBEL, G., BLANCHARD, R.J. Mouse defensive behaviors: pharmacological and behavioral assays for anxiety and panic. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, v. 25, p. 205-218, 2001.
- BLANCHARD, R.J.; BLANCHARD, D.C.; AGULLANA, R.; WEISS, S.M. Twenty-two kHz alarm cries to presentation of a predator, by laboratory rats living in visible burrow systems. *Physiology & Behavior*, v. 50, p. 967-72, 1991.
- BOLLES, R.C.; COLLIER, A.C. The effect of predictive cues on freezing in rats. *Animal Learning and Behavior*, v. 4, p. 6-8, 1976.
- BORTA, A.; WÖHR, M.; SCHWARTING, R.K.W. Rat ultrasonic vocalization in aversively motivated situations and the role of individual differences in Anxiety related behaviour. *Behavioural Brain Research*, v. 166, p. 271-280, 2006.
- BRANDÃO, M.L.; BORELLI, K.G.; NOBRE, M.J.; SANTOS, J.M.; ALBRECHET-SOUZA, L.; OLIVEIRA, A.R.; MARTINEZ, R.C. Gabaergic regulation of the neural organization of fear in the midbrain tectum. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, v. 29, p. 1299-1311, 2005.

- BRANDÃO, M.L.; CARDOSO, S.H., MELO, L.L.; MOTTA, V.; COIMBRA, N.C. Neural substrate of defensive behavior in the midbrain tectum. *Neuroscience and Biobehavioural Reviews*, v. 18, n. 3, p. 339-346, 1994.
- BRANDÃO, M.L.; MELO, L.L.; CARDOSO, S.H. Mechanisms of defense in the inferior colliculus. *Behavioural Brain Research*, v. 58, p. 49-55, 1993.
- BRANDÃO, M.L.; TOMAZ, C.; LEÃO-BORGES, P.C.; COIMBRA, N.C.; BAGRI, A. Defense reaction induced by microinjections of bicuculline into the inferior colliculus. *Physiology and Behaviour*, v. 44, p. 361-365, 1988.
- BRUDZYNSKI, S.M.; OCIEPA, D. Ultrasonic vocalization of laboratory rats in response to handling and touch. *Physiology & Behavior*, v. 52, p. 655-660, 1992.
- BRUHWYLER, J.; CHLEIDE, E.; LIÉGEOIS, J.F.; DELARGE, J. MERCIER, M. Effects of specific dopaminergic agonists and antagonists in the open-field test. *Pharmacology Biochemistry & Behavior*, v. 39, p. 367-371, 1991.
- BRUNELLI, S.A.; NIE, R.; WHIPPLE, C.; HOFER, M.A.; ZIMMERBERG, B. The effects of selective breeding for infant ultrasonic vocalizations on play behavior in juvenile rats. *Physiology & Behavior*, v. 87, p. 527-536, 2006.
- BURGDORF, J.; KNUTSON, B.; PANKSEPP, J. Anticipation of rewarding electrical brain stimulation evokes ultrasonic vocalization in rats. *Behavioral Neuroscience*, v. 114, p. 320-327, 2000.
- BURGDORF, J.; KNUTSON, B.; PANKSEPP, J.; IKEMOTO, S. Nucleus accumbens amphetamine microinjections unconditionally elicit 50-kHz ultrasonic vocalizations in rats. *Behavioral Neuroscience*, v. 115, p. 940-944, 2001.
- BURGER, R.M.; POLLAK, G.D. Analysis of the role of inhibition in shaping responses to sinusoidally amplitude-modulated signals in the inferior colliculus. *Journal of Neurophysiology*, v. 80, p. 1686-1701, 1998.
- CARRIVE, P. Conditioned fear to environmental context: cardiovascular and behavioral components in the rat. *Brain Research*, v. 858, p. 440-445, 2000.

- CIUCCI, M.R.; MA, S.T.; FOX, C. KANE, J.R.; RAMIG, L.O.; SCHALLERT, T. Qualitative changes in ultrasonic vocalization in rats after unilateral dopamine depletion or haloperidol: a preliminary study. *Behavioural Brain Research*, v. 182, p. 284-289, 2007.
- CIVELLI, O.; BUNZOW, J.R.; GRANDY, D.K. Molecular diversity of the dopamine receptors. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, v. 32, p. 281-307, 1993.
- CONSTANTINI, F.; D'AMATO, F. Ultrasonic vocalizations in mice and rats: social contexts and functions. *Current Zoology (formerly Acta Zoologica Sinica)*, v. 52, n. 4, p. 619-633, 2006.
- COVINGTON, H.E.; MICZEK, K.A. Vocalizations during withdrawal from opiates and cocaine: possible expressions of affective distress. *European Journal of Pharmacology*, v. 467, p. 1-13, 2003.
- CUOMO, V.; DE SALVIA, M.A.; MASELLI, M.A.; RENNA, G.; RACAGNI, G. Ultrasonic vocalization in response to unavoidable aversive stimuli in rats: effects of benzodiazepines. *Life Sciences*, v. 43, p. 485-491, 1988.
- DE RYCK, M.; SCHALLERT, T. TEITELBAUM, P. Morphine versus haloperidol catalepsy in the rat: a behavioral analysis of postural mechanisms. *Brain Research*, v. 201, p. 143-72, 1980.
- FANSELOW, M.S. The midbrain periaqueductal gray as a coordinator of action in response to fear and anxiety. In: DEPAULIS, A.; BANDLER, R. *The Midbrain Periaqueductal Gray Matter*. New York: Plenum Press. p. 151-173, 1991.
- FENDT, M.; FANSELOW, M.S. The neuroanatomical and neurochemical basis of conditioned fear. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, v. 23, p. 743-760, 1999.
- FRANCIS, R.L. 22-kHz calls by isolated rats. *Nature*, v. 265, p. 236-238, 1977.
- GEYER, L.A.; BARFIELD, R.J. Influence of gonadal hormones and sexual behavior on ultrasonic vocalization in rats. I. Treatment of females. *Journal of Comparative Physiological Psychology*, v. 92, p. 436-446, 1978.

- GROENINK, L.; MOS, J.; VAN DER GUGTEN, J.; OLIVIER, B. The 5-HT<sub>1A</sub> receptor is not involved in emotional stress-induced rises in stress hormones. *Pharmacology Biochemistry & Behavior*, Oct, v. 55, p. 303-308, 1996.
- HUFFMAN, R.F.; HENSON JR, O.W. The descending auditory pathway acousticmotor system: connections with the inferior colliculus. *Brain Research Review*, v. 15, p. 295-323, 1990.
- INOUE, T.; IZUMI, T.; BAI LI, X.; KITAICHI, Y.; NAKAGAWA, S.; KOYAMA, T. Effect of a dopamine D<sub>1/5</sub> receptor antagonist on haloperidol-induced inhibition of the acquisition of conditioned fear. *European Journal of Pharmacology*, v. 519, p. 253-258, 2005.
- INOUE, T.; TSUCHIYA, K; KOYAMA, T. Effects of typical and atypical antipsychotic drugs on freezing behavior induced by conditioned fear. *Pharmacology Biochemistry & Behavior*, v. 55, n. 2, p. 195-201, 1996.
- JANKOVIC, J. Parkinson's disease: clinical features and diagnosis. *Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry*, v. 79, p. 368-376, 2008.
- JANSSEN, P.A.J.; NIEMEGERES, C.J.E.; SCHELLEKENS, K.H.L. Is it possible to predict the clinical effects of neuroleptic drugs (major tranquilizers) from animal data? I. "Neuroleptic activity spectra" for rats. *Arzneimittel-Forschung*, v. 15, p. 104-117, 1965.
- JARDIM, M.C.; GUIMARÃES, F.S. Role of glutamate ionotropic receptors in the dorsomedial hypothalamic nucleus on anxiety and locomotor behavior. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, v. 79. p. 541-546, 2004.
- KALTWASSER, M.T. Acoustic signaling in the black rat (*Rattus rattus*). *Journal of Comparative Psychology*, v. 104, p. 227-232, 1990.
- KANE, J.M.; FREEMAN, H.L. Towards more effective antipsychotic treatment. *The British Journal of Psychiatry*, v. 165, p. 22-33, 1994.
- KLEMM, W.R. Behavioral arrest in search of the neural control system. *Progress in Neurobiology*, v. 65, p. 453-471, 2001.

- KOVÁCS, G.L.; WIED, D.D. Effects of amphetamine and haloperidol on avoidance behavior and exploratory activity. *European Journal of Pharmacology*, v. 53, p. 103-107, 1978.
- LORENC-KOCI, S.; WOLFARTH, S.; OSSOWSKA, K. Haloperidol-increased muscle tone in rats as a model of parkinsonian rigidity. *Experimental Brain Research*, v. 109, p. 268-276, 1996.
- MAVROJANNIS, M. L'action cataleptic de la morphine chez les rats. Contribution a la theorie toxique de la catalepsie. *Comptes Rendus des Séances et Mémoires de la Société de Biologie*, v. 55, p. 1092-1093, 1903.
- MEAD, A.; LI, M.; KAPUR, S. Clozapine and olanzapine exhibit an intrinsic anxiolytic property in two conditioned fear paradigms: contrast with haloperidol and chlordiazepoxide. *Pharmacology Biochemistry & Behavior*, v. 90, p. 551-562, 2008.
- MELO, L.L.; SANTOS, P.; MEDEIROS, P.; MELLO, R.O.; FERRARI, E.A.M.; BRANDÃO, M.L.; MAISONNETTE, S.S.; FRANCISCO, A.; COIMBRA, N.C. Glutamatergic neurotransmission mediated by NMDA receptors in the inferior colliculus can modulate haloperidol-induced catalepsy. *Brain Research*, v. 1349, p. 41-47, 2010.
- MICZEK, K.A.; WEERTS, E.M.; VIVIAN, J.A.; BARROS, H.M. Aggression, anxiety and vocalizations in animals: GABA<sub>A</sub> and 5-HT anxiolytics. *Psychopharmacology*, v. 121, p. 38-56, 1995.
- MOLEWIJK, H.E.; VAN DER POEL, A.M.; MOS, J.; VAN DER HEYDEN, J.A.; OLIVIER, B. Conditioned ultrasonic distress vocalizations in adult male rats as a behavioural paradigm for screening anti-panic drugs. *Psychopharmacology (Berl)*, v. 117, p. 32-40, 1995.
- MORELLI, M.; DI CHIARA, G. Catalepsy induced by SCH 23390 in rats. *European Journal Pharmacology*, v. 117, p. 179-185, 1985.
- NAITO, H.; NAKAMURA, A.; INOUE, M.; SUZUKI, Y. Effect of anxiolytic drugs on air-puff-elicited ultrasonic vocalization in adult rats. *Experimental Animals*, v. 52, p. 409-414, 2003.

- NYBY, J.; WHITNEY, G. Ultrasonic communication of adult myomorph rodents. *Neuroscience Biobehavioral Reviews*, v. 2, p. 1-14, 1978.
- OORSCHOT, M.; KWAPIL, T. Momentary assessment research in psychosis. *Psychological Assessment*, v. 21, p. 498-505, 2009.
- PEZZE, M.A.; FELDON, J. Mesolimbic dopaminergic pathways in fear conditioning. *Progress in Neurobiology*, v. 74, p. 301-320, 2004.
- REYNOLDS, G.P. Developments in the drug treatment of schizophrenia. *Trends in Pharmacological Science*, v. 13, p. 116-121, 1992.
- ROBERTS, L.H. The rodent ultrasound production mechanism. *Ultrasonics*, v. 13, p. 83-88, 1975.
- RUSSELL, K.H.; HAGENMEYER-HOUSER, S.H.; SANBERG, P.R. Haloperidol-induced emotional defecation: a possible model for neuroleptic anxiety syndrome. *Psychopharmacology*, v. 91, p. 45-49, 1987.
- SALES, G.D. Ultrasound and aggressive behaviour in rats and other small mammals. *Animal Behaviour*, v. 20, p. 88-100, 1972.
- SANBERG, P.R. Haloperidol-induced catalepsy is mediated by postsynaptic dopamine receptors. *Nature*, v. 284, p. 472-473, 1980.
- SÁNCHEZ, C. Stress-induced vocalization in adult animals. A valid model of anxiety? *European Journal of Pharmacology*, v. 463, p. 133-143, 2003.
- SEEMAN, P. Brain dopamine receptors. *Pharmacology Review*, v. 32, p. 229-313, 1980.
- SILVEIRA, M.C.; SANDNER, G; GRAEFF, F.G. Induction of Fos immunoreactivity in the brain by exposure to the elevated plus-maze. *Behavioural Brain Research*, v. 56, p. 115-118, 1993.
- TOKUNAGA, A; SUGITA, S; OTANI, K. Auditory and non-auditory subcortical afferents to the inferior colliculus in the rat. *Journal fur Hirnforschung*, v. 25, p. 461-72, 1984.

TONUE, T.; ASHIDA, Y.; MAKINO, H.; HATA, H. Inhibition of shock-induced ultrasonic vocalization by opioid peptides in the rat: a psychotropic effect. *Psychoneuroendocrinology*, v. 11, p. 177-184, 1986.

VASCONCELOS, S.M.M.; NASCIMENTO, V.S.; NOGUEIRA, C.R.A.; VIEIRA, C.M.A.G.; SOUSA, F.C.F.; FONTELES, M.M.F.; VIANA, G.S.B. Effects of haloperidol on rat behavior and density of dopaminergic D<sub>2</sub>-like receptors. *Behavioural Processes*, v. 63, p. 45-52, 2003.

WADENBERG, M.L.G.; SOLIMAN, A.; VANDERSPEK, S.C.; KAPUR, S. Dopamine D<sub>2</sub> receptor occupancy is a common mechanism underlying animal models of antipsychotics and their clinical effects. *Neuropsychopharmacology*, v. 25, n. 25, p. 633-641, 2001.

WALSH, R. N.; CUMMINS, R. A. The open-field test: a critical review. *Psychological Bulletin*, v. 83, p. 482-504, 1976.

WÖHR, M.; SCHWARTING, R.K.W. Maternal care, isolation-induced infant ultrasonic calling, and their relations to adult anxiety-related behavior in the rat. *Behavioral Neuroscience*, v. 122, p. 310-330, 2008.

ZHANG, H.; KELLY, J.B. AMPA and NMDA receptors regulate responses of neurons in the rat's inferior colliculus. *Journal of Neurophysiology*, v. 86, p. 871-880, 2001.