

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS**  
**CENTRO DE EDUCAÇÃO E CIÊNCIAS HUMANAS**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PSICOLOGIA**

**EFEITOS DA SULPIRIDA E DO HALOPERIDOL NA EXPRESSÃO  
E EXTINÇÃO DO MEDO CONDICIONADO À LUZ E AO  
CONTEXTO EM RATOS**

VIVIAN MARIA DE VITA

São Carlos - SP

2019

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS**  
**CENTRO DE EDUCAÇÃO E CIÊNCIAS HUMANAS**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PSICOLOGIA**

**EFEITOS DA SULPIRIDA E DO HALOPERIDOL NA EXPRESSÃO  
E EXTINÇÃO DO MEDO CONDICIONADO À LUZ E AO  
CONTEXTO EM RATOS**

VIVIAN MARIA DE VITA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Psicologia, da Universidade Federal de São Carlos, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Psicologia.

Orientadora: Profa. Dra. Amanda Ribeiro de Oliveira

**São Carlos - SP**

**2019**



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS

Centro de Educação e Ciências Humanas  
Programa de Pós-Graduação em Psicologia

---

Folha de Aprovação

---

Assinaturas dos membros da comissão examinadora que avaliou e aprovou a Defesa de Dissertação de Mestrado da candidata Vivian Maria de Vita, realizada em 28/08/2019:

---

Profa. Dra. Amanda Ribeiro de Oliveira  
UFSCar

---

Prof. Dr. Marcos Hortes Nishiana Chagas  
UFSCar

---

Profa. Dra. Janaina Menezes Zanoveli  
UFPR

Certifico que a defesa realizou-se com a participação à distância do(s) membro(s) Janaina Menezes Zanoveli e, depois das arguições e deliberações realizadas, o(s) participante(s) à distância está(ão) de acordo com o conteúdo do parecer da banca examinadora redigido neste relatório de defesa.

**Aos meus pais Luis Carlos de Vita e Elisabeth Regina Falarara de Vita  
e a minhas irmãs Aline Maria de Vita Marques e Thais Maria de Vita Domeniconi.**

## **AGRADECIMENTOS**

À professora Dra. Amanda Ribeiro de Oliveira, pela orientação no desenvolvimento do trabalho e, acima de tudo, pelo companheirismo e amizade sincera construída ao longo dos últimos anos.

Ao Programa CAPES/PROEX pelos recursos oferecidos indiretamente no trabalho apresentado em congresso, artigo científico e minha dissertação de mestrado.

À Professora Dra. Azair Liane Matos do Canto de Souza, por ter contribuído com informações relevantes durante a minha preparação à Qualificação e por ter fornecido apoio durante tal evento.

Aos Professores Doutores Marcos Nishara Chagas e Sofia Iost Pavarini pelas observações e sugestões no exame de qualificação.

Aos Professores Doutores Janaina Menezes Zanoveli e Marcos Nishara Chagas pelas importantes considerações durante a defesa de mestrado.

À coordenação do Programa de Pós-Graduação em Psicologia pelo apoio e atendimento. Aos Professores do Departamento de Psicologia e Gerontologia, pelo conhecimento transmitido ao longo das disciplinas e pelo incentivo ao meu aperfeiçoamento profissional e acadêmico.

Aos meus colegas do Laboratório de Psicologia de Aprendizagem pela contribuição na elaboração deste trabalho.

À técnica do Laboratório, Lara Maria Silveira, pelo auxílio técnico.

À parceria do amigo, Gabriel Villela Dessimoni, no desenvolvimento da importante etapa de ensaios experimentais desta dissertação de Mestrado.

À gerente, Sílvia Maria Poço, e à supervisora, Tatiana Micelli Ocanha, da UNIMED – São Carlos por permitirem o meu desenvolvimento profissional durante o período de realização deste mestrado. Aos meus colegas da UNIMED – São Carlos, principalmente Marinalva João e Lais Solim, pelo apoio e parceria.

Aos meus cunhados, José da Costa Marques Neto e Marcel Arouca Domeniconi, pela amizade e incentivo.

Às irmãs, Aline Maria de Vita Marques e Thais Maria de Vita Domeniconi, pelo apoio incondicional em todos momentos de minha vida.

Aos meus pais, Luis Carlos de Vita e Elisabeth Regina Falarara de Vita, pela paciência e ajuda na realização de meus sonhos.

A Deus, por me guiar e iluminar os meus passos.

## RESUMO

Evidências sugerem que a dopamina (DA) seja um dos neuromoduladores mais ativos em mecanismos subjacentes a estados de medo e ansiedade. Mais especificamente, durante a exposição a estímulos condicionados aversivos ocorre aumento na liberação de DA da área tegmental ventral (ATV) para estruturas como complexo basolateral da amígdala (BLA) e núcleo accumbens. Ainda, resultados apontam para um maior envolvimento dos receptores de DA do tipo D<sub>2</sub> na expressão do medo condicionado, uma vez que tanto a administração do agonista D<sub>2</sub>, quimpirrole, quanto do antagonista D<sub>2</sub>, sulpirida, causam significativa redução do congelamento condicionado, com ação das drogas em receptores na ATV e BLA, respectivamente. Assim, o objetivo geral deste estudo é ampliar a avaliação dos efeitos do bloqueio dos receptores D<sub>2</sub> em ratos na expressão e extinção do medo condicionado. Desejamos reproduzir os achados anteriores em relação aos efeitos da sulpirida na diminuição da expressão do medo condicionado, testar a hipótese de que o haloperidol – antagonista D<sub>2</sub> muito utilizado em contexto clínico para controlar sintomas da fase aguda da esquizofrenia – apresentaria efeitos similares aos da sulpirida, e ampliar a caracterização do envolvimento da DA no medo condicionado avaliando o efeito dessas duas drogas sobre processos de extinção. Para tanto, foram utilizados 146 ratos *Wistar* machos, pesando em torno de 300 g. Os animais foram treinados ao contexto ou à luz (estímulo condicionado) utilizando choques nas patas como estímulo aversivo incondicionado. Após 24 h, os ratos receberam administração intraperitoneal de droga (sulpirida ou haloperidol) ou veículo e foram expostos ao contexto ou à luz para avaliação da resposta de congelamento (teste). Após mais 24 h, os mesmos animais foram submetidos a um reteste, para avaliação da retenção da extinção. Para controle de possíveis efeitos motores adversos, foram realizados os testes de catalepsia e do campo aberto. Conforme esperado, a sulpirida diminuiu o congelamento no teste tanto para o medo condicionado ao contexto quanto à luz. Não foram observados prejuízos motores nos testes de catalepsia ou do campo aberto com a administração de sulpirida. A administração de haloperidol não causou efeitos significativos na expressão ou extinção do medo condicionado ao contexto ou à luz, apesar de uma clara tendência de diminuição do congelamento no teste ser observada. Por outro lado, de maneira geral, o haloperidol induziu catalepsia e prejudicou a atividade motora no campo aberto. Portanto, reproduzimos os achados anteriores para a sulpirida na diminuição do congelamento no teste de medo condicionado. Além disso, mostramos efeitos similares para o haloperidol no teste (ainda que não estatisticamente significativos), reforçando a ideia do envolvimento de receptores D<sub>2</sub> na expressão do medo condicionado.

**Palavras-chave:** Dopamina, Receptor D<sub>2</sub>, Condicionamento Aversivo, Extinção do medo condicionado e Congelamento.

## ABSTRACT

Evidence suggests that dopamine (DA) is one of the most active neuromodulators in mechanisms underlying states of fear and anxiety. More specifically, during the exposure to aversive conditioned stimuli, there is an increase in the release of DA from the ventral tegmental area (VTA) to structures such as the basolateral amygdala complex (BLA) and nucleus accumbens. Furthermore, results point to a greater involvement of the D2-type DA receptors in conditioned fear expression, since both the administration of the D2 agonist, quinpirole, and the D2 antagonist, sulpiride, cause a significant reduction of conditioned freezing with the action of the drugs in VTA and BLA receptors, respectively. Thus, the general objective of this study is to broaden the evaluation of the effects of D2 receptor blockade in rats on the expression and extinction of conditioned fear. We aim to replicate the previous findings regarding the effects of sulpiride on decreasing the expression of conditioned fear, to test the hypothesis that haloperidol - a D2 antagonist widely used in clinical settings to control symptoms of the acute phase of schizophrenia - would present similar effects to sulpiride, and to extend the characterization of the involvement of DA in conditioned fear by evaluating the effects of these two drugs on extinction processes. For this, 146 male Wistar rats weighing approximately 300 g were used. The animals were trained to the context or to the light (conditioned stimulus) using footshocks as an unconditioned aversive stimulus. After 24 hours, the rats received intraperitoneal administration of drug (sulpiride or haloperidol) or vehicle and they were exposed to the context or the light for evaluation of the freezing response (test). After another 24 hours, the same animals were submitted to a retest, to evaluate the retention of extinction. For control of possible adverse motor effects, catalepsy and open field tests were performed. As expected, sulpiride decreased the freezing response in the test for both context and light conditioned fear. No motor impairment was observed in the catalepsy or open field tests with sulpiride administration. The administration of haloperidol did not cause significant effects on the expression or extinction of the context or light conditioned fear, although a clear tendency to decrease the freezing in the test was observed. On the other hand, in general, haloperidol induced catalepsy and impaired motor activity in the open field. Therefore, we reproduce the previous findings for sulpiride in decreasing freezing in the conditioned fear test. In addition, we have shown similar effects for haloperidol in the test (although not statistically significant), reinforcing the idea of D2 receptor involvement in conditioned fear expression.

**Keywords:** Dopamine, D2 receptor, Conditioned fear, Fear extinction and Freezing.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Fotografia da caixa experimental utilizada para o procedimento de condicionamento aversivo ao contexto nas fases de treino, teste e reteste, para todos os grupos .....	22
<b>Figura 2.</b> Fotografia da caixa experimental utilizada para o procedimento de medo condicionado à luz, nas fases de teste e reteste, para todos os grupos. ....	23
<b>Figura 3.</b> Fotografias dos instrumentos que compõem, respectivamente, o teste de catalepsia à esquerda e o teste do campo aberto à direita.....	24
<b>Figura 4.</b> Delineamento do experimento 1A. ....	25
<b>Figura 5.</b> Delineamento do experimento 1B. ....	26
<b>Figura 6.</b> Delineamento do experimento 2A. ....	26
<b>Figura 7.</b> Delineamento do experimento 2B. ....	27
<b>Figura 8.</b> Delineamento do experimento 3A. ....	27
<b>Figura 9.</b> Delineamento do experimento 3B. ....	28
<b>Figura 10.</b> Efeitos da administração de sulpirida sobre a expressão e extinção da resposta de congelamento no protocolo de condicionamento aversivo ao contexto. <b>A)</b> Porcentagem média de congelamento, em relação ao tempo total da sessão, de animais tratados com sulpirida nas doses 20 e 40 mg/kg ou veículo (Controle) e submetidos ao Teste e ao Reteste no protocolo de condicionamento aversivo ao contexto. <b>B)</b> Índice de retenção da extinção do medo condicionado dos mesmos ratos. <b>C)</b> Porcentagem média de congelamento, em relação aos dois minutos de duração de cada um dos blocos de cada sessão do protocolo de medo condicionado ao contexto, dos mesmos animais.....	31
<b>Figura 11.</b> Efeitos da administração de haloperidol sobre a expressão e extinção da resposta de congelamento no protocolo de condicionamento aversivo ao contexto. <b>A)</b> Porcentagem média de congelamento, em relação ao tempo total da sessão, de animais tratados com haloperidol nas doses 0,1 e 0,25 mg/kg ou veículo (Controle) e submetidos ao Teste e Reteste no protocolo de condicionamento aversivo ao contexto. <b>B)</b> Índice de retenção da extinção do medo condicionado dos mesmos ratos. <b>C)</b> Porcentagem média de congelamento, em relação aos dois minutos de duração de cada um dos blocos de cada sessão do protocolo de medo condicionado ao contexto, dos mesmos animais.....	34
<b>Figura 12.</b> Efeitos da administração de sulpirida sobre a expressão e extinção da resposta de congelamento no protocolo de condicionamento aversivo à luz. <b>A)</b> Porcentagem média	



de congelamento, em relação ao tempo total de apresentação de luz durante a sessão, de animais tratados com sulpirida nas doses 20 e 40 mg/kg ou veículo (Controle) e submetidos ao Teste e ao Reteste no protocolo de condicionamento aversivo à luz. **B)** Índice de retenção da extinção do medo condicionado nos mesmos ratos. **C)** Porcentagem média de congelamento, em relação aos 20 segundos de cada apresentação do estímulo luz nas fases de treino, teste e reteste.. ..... 37

**Figura 13.** Efeitos da administração de haloperidol sobre a expressão e extinção da resposta de congelamento no protocolo de condicionamento aversivo à luz. **A)** Porcentagem média de congelamento, em relação ao tempo total de apresentação de luz durante a sessão, de animais tratados com haloperidol nas doses 0,1 e 0,25 mg/kg ou veículo (Controle) e submetidos ao Teste e Reteste no protocolo de condicionamento aversivo à luz. **B)** Índice de retenção da extinção do medo condicionado nos mesmos ratos. **C)** Porcentagem média de congelamento, em relação aos 20 segundos de cada apresentação do estímulo luz nas fases de treino, teste e reteste..... 40

**Figura 14.** Média da latência para descida da barra no teste de catalepsia de animais tratados com sulpirida nas doses 20 e 40 mg/kg ou veículo (Controle), 15 e 45 min após a administração das drogas..... 41

**Figura 15.** Média do total de cruzamentos (**A**) e levantamentos (**B**), e tempo de imobilidade (**C**) apresentados por animais tratados com sulpirida nas doses 20 e 40 mg/kg ou veículo (Controle) e submetidos ao Teste do Campo Aberto..... 42

**Figura 16.** Média de cruzamentos no centro (**A**) e do tempo de permanência no centro (**B**) de animais tratados com sulpirida nas doses 20 e 40 mg/kg ou veículo (Controle) e submetidos ao Teste do Campo Aberto. **C)** Média do tempo de autolimpeza dos mesmos animais..... 43

**Figura 17.** Média da latência para descida da barra no teste de catalepsia dos animais tratados com haloperidol nas doses 0,1 e 0,25 mg/kg ou veículo (Controle), 15 e 45 min após a administração das drogas..... 44

**Figura 18.** Média do total de cruzamentos (**A**), levantamentos (**B**) e tempo de imobilidade (**C**) apresentados por animais tratados com haloperidol nas doses 0,1 e 0,25 mg/kg ou veículo (Controle) e submetidos ao Teste do Campo Aberto..... 45

**Figura 19.** Média de cruzamento no centro (**A**) e do tempo de permanência no centro (**B**) de animais tratados com haloperidol nas doses 0,1 e 0,25 mg/kg ou veículo (Controle) e

submetidos ao Teste do Campo Aberto. C) Média do tempo de autolimpeza dos mesmos animais..... 46

## **LISTA DE SIGLAS**

**APA:** American Psychiatric Association;

**ATV:** Área Tegmental Ventral;

**BLA:** Complexo Basolateral da Amígdala;

**CS:** Estímulo Condicionado;

**DA:** Dopamina;

**DSM-V:** Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais – Quinta Edição;

**Halo 0,1:** Haloperidol na dose de 0,1 mg/kg;

**Halo 0,25:** Haloperidol na dose de 0,25 mg/kg;

**L-Dopa:** Levedopa;

**Proteína G:** Proteína da membrana ligada à guanosina trifosfato;

**Sul 20:** Sulpirida na dose de 20 mg/kg;

**Sul 40:** Sulpirida na dose de 40 mg/kg;

**US:** Estímulo Incondicionado.

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	13
2. OBJETIVOS.....	19
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	20
3.1. Sujeitos.....	20
3.2. Drogas.....	20
3.3. Equipamentos e Procedimentos.....	21
3.3.1. Experimento 1: Medo condicionado ao contexto.....	21
3.3.2. Experimento 2: Medo condicionado à luz.....	22
3.3.3. Experimento 3: Controle dos efeitos motores.....	23
3.4. Delineamento Experimental.....	25
3.5. Análise de Dados.....	28
4. RESULTADOS.....	29
4.1. Experimento 1: Medo condicionado ao contexto.....	29
4.1.1. Experimento 1A: Efeitos da sulpirida.....	29
4.1.2. Experimento 1B: Efeitos do haloperidol.....	32
4.2. Experimento 2: Medo condicionado à luz.....	35
4.2.1. Experimento 2A: Efeitos da sulpirida.....	35
4.2.2. Experimento 2B: Efeitos do haloperidol.....	38
4.3. Experimento 3: Controle dos efeitos motores.....	41
4.3.1. Experimento 3A: Efeitos da sulpirida.....	41
4.3.2. Experimento 3B: Efeitos do haloperidol.....	43
5. DISCUSSÃO.....	47
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	56
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	57
ANEXO A.....	64

## 1. INTRODUÇÃO

Os transtornos de ansiedade são considerados hoje como os transtornos mentais mais comuns e que provocam grande demanda nos serviços de saúde, por isso mesmo, nota-se a importância de estudar essa temática com grande rigor. O número total estimado de pessoas que vivem com transtornos de ansiedade no mundo é de 264 milhões (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2017). Este dado mostra um aumento de 14,9 % no número de afetados, de 2005 até 2015, colocando os transtornos de ansiedade em 6º lugar dentre os principais contribuintes da deficiência global (GLOBAL BURDEN OF DISEASE, 2015; WHO, 2017). No Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais – Quinta Edição (DSM-V), são denominados de transtornos de ansiedade todos aqueles que compartilham características de medo/ansiedade excessivas e perturbações comportamentais relacionadas (AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION, 2014). De acordo com o DSM-V, os transtornos de ansiedade podem ser classificados em: transtorno de ansiedade generalizada, transtorno de pânico/agorafobia, fobia específica, fobia social, mutismo, transtorno de ansiedade de separação (APA, 2014).

Os transtornos de ansiedade se diferenciam do medo ou da ansiedade adaptativos por serem excessivos em intensidade ou persistirem além de períodos apropriados (APA, 2014). De forma geral, a ansiedade pode ser conceituada como uma resposta normal e adaptativa, que adverte o indivíduo sobre ameaças de dano corporal, dor, impotência, possível punição ou frustração de necessidades sociais ou corporais (SADOCK et al., 2017). A diferença entre o medo e a ansiedade é que o primeiro é a resposta emocional frente à ameaça iminente real, enquanto a segunda é a antecipação da ameaça futura, com alto grau de incerteza e conflito (SYLVERS et al., 2011). Medo e ansiedade são emoções que, mesmo com toda a sua complexidade, podem ter determinados aspectos objetivamente estudados em laboratório a partir da análise de respostas defensivas exibidas por animais expostos a diversas situações aversivas (DAVIS, 1992). Tais pesquisas científicas em diversas espécies animais têm permitido um melhor entendimento das raízes biológicas dos transtornos associados ao medo e à ansiedade em humanos (DAVIS, 1992).

Os estímulos aversivos presentes em situações estressantes podem ser classificados em dois grupos: os condicionados e os incondicionados. Os estímulos aversivos incondicionados, como estímulos nociceptivos ou exposição ao predador,

evocam respostas defensivas do tipo fuga/luta ou congelamento incondicionado, independentemente de processos de aprendizagem (BRANDÃO et al., 2005; BRANDÃO et al., 2015). Já os estímulos aversivos condicionados são aqueles que eram estímulos neutros, mas que, a partir de um processo de condicionamento aversivo, passam a eliciar respostas defensivas que antes eram eliciadas por estímulos aversivos incondicionados (SKINNER, 2003; BRANDÃO et al., 2015). Então, no laboratório, é possível tornar estímulos neutros (por exemplo, uma luz ou um determinado contexto), quando emparelhados com estímulos incondicionados aversivos (por exemplo, choques nas patas), em estímulos aversivos condicionados (BOLLES & COLLIER, 1976).

Já as respostas defensivas podem ser caracterizadas como ativas ou passivas, por exemplo. As respostas ativas são geralmente adaptativas quando o estressor é percebido como escapável e de possível remoção dele no ambiente, por exemplo comportamentos de lutar ou de fugir da situação de perigo (BANDLER et al., 2000; LLOYD & DAYAN, 2016). Já as respostas passivas, como a imobilidade e a quiescência, podem ser mais adaptativas diante do estresse inescapável, promovendo a conservação de recursos a longo prazo (BANDLER et al., 2000; LLOYD & DAYAN, 2016). O comportamento de congelamento (*freezing*), que consiste em uma "imobilidade atenta", pode ser interpretado como um estado de alto envolvimento "interno" na monitoração de ameaças e, portanto, enquadrado como resposta defensiva ativa (LLOYD & DAYAN, 2016). Em termos evolutivos, essa resposta foi selecionada provavelmente por ser uma reação de defesa eficiente, uma vez que predadores têm dificuldade em detectar uma presa imóvel, e o movimento representa um estímulo que desencadearia uma resposta de ataque pelo predador (FANSELOW & LESTER, 1988; CRUZ & LANDEIRA-FERNANDEZ, 2012). Esse comportamento, em laboratório, é a principal resposta observada quando os ratos são expostos a pistas associadas a choques nas patas e é um índice de medo muito utilizado (FANSELOW, 1991; MAREN & HOLT, 2000; DE OLIVEIRA et al., 2006), sendo geralmente definido como uma postura de abaixamento do corpo do animal em direção ao chão e cessação de todos os movimentos observáveis, exceto aqueles relacionados à respiração (BINDRA & ANCHEL, 1963; BOLLES & RILEY, 1973; CRUZ & LANDEIRA-FERNANDEZ, 2012).

A aprendizagem obtida a partir do condicionamento aversivo requer circuitos neurais que incluem amígdala, hipocampo, núcleo accumbens, córtex frontal, entre outras estruturas (DE OLIVEIRA et al., 2014; SADOCK et al., 2017). Estudos demonstram que

a função da amígdala pode estar vinculada à associação do afeto negativo com novos estímulos (SADOCK et al., 2017); o hipocampo, estaria relacionado com a representação de contexto (MARTINEZ et al., 2008; DE SOUZA CAETANO et al., 2013; SADOCK et al., 2017); e, o córtex frontal teria um papel fundamental durante o processo de extinção (SADOCK et al., 2017) e, mais especificamente o córtex pré-frontal medial, na avaliação de se o estímulo aversivo é controlável ou não (BOLLES & FANSELOW, 1980; LLOYD & DAYAN, 2016). Lesões na amígdala reduzem ou bloqueiam o medo condicionado a estímulos unimodais, como uma luz ou um som, e ao contexto, enquanto alguns processos no hipocampo, incluindo a plasticidade sináptica, estão envolvidos no medo condicionado ao contexto, mas não à luz ou ao som (BLANCHARD & BLANCHARD, 1972; HITCHCOCK & DAVIS, 1987; KIM & FANSELOW, 1992; PHILLIPS & LEDOUX, 1992; DE SOUZA CAETANO et al., 2013). Já o núcleo accumbens fornece uma interface entre os estímulos com valor emocional e as áreas motoras, além de ter também participação fundamental na expressão do medo condicionado (JACKSON & MOGHADDAM, 2001; MARTINEZ et al., 2008).

Vários neurotransmissores têm sido tradicionalmente implicados nos circuitos neurais do medo e da ansiedade, tais como a noradrenalina, a serotonina, o GABA e o glutamato (GRAEFF & BRANDÃO, 1999). Mais recentemente, diversas evidências têm apontado para a dopamina como sendo um dos neuromoduladores mais ativos em mecanismos subjacentes aos estados de medo e ansiedade (DE OLIVEIRA et al., 2011; DE OLIVEIRA et al., 2014 e DE OLIVEIRA et al., 2017). Ou seja, mecanismos dopaminérgicos têm sido associados à produção e elaboração do estresse agudo e crônico (FEENSTRA et al., 1995; FINLAY et al., 1995); bem como, na sua interação com diferentes aspectos da memória emocional, na formação, evocação e expressão da mesma (PEZZE & FELDON, 2004). A compreensão do papel da dopamina no condicionamento apetitivo respondente e instrumental progrediu dramaticamente nas últimas décadas (DATLA et al., 2001; BURGDORF & PANKSEPP, 2006; FRANK & CLAUS, 2006; SCHULTZ, 2015). Em contraste, apesar da participação de mecanismos dopaminérgicos no condicionamento aversivo ser atualmente bem aceita, menos consenso existe sobre a natureza exata de tal participação (LLOYD & DAYAN, 2016).

A área tegmental ventral (ATV) é uma estrutura encefálica heterogênea, importante fonte de dopamina, onde vários sub-circuitos estão envolvidos em diferentes funções e podem ser individualmente afetados nos distúrbios neuropsiquiátricos

(BRANDÃO & COIMBRA, 2018). A ATV recebe uma rica variedade de influências de múltiplas fontes ascendentes e descendentes, mas ainda não está claro como a ATV interage com os circuitos do medo e da ansiedade (BRANDÃO & COIMBRA, 2018). Os neurônios dopaminérgicos da ATV projetam-se ascendentemente para o prosencéfalo límbico e ao córtex orbitofrontal, formando as vias mesolímbica e mesocortical, respectivamente (GRAEFF & GUIMARÃES, 2012; BRANDÃO & COIMBRA, 2018). Pesquisas demonstram que durante a exposição a estímulos condicionados aversivos ocorrem alterações na neurotransmissão dopaminérgica, em que há um aumento na liberação de dopamina da ATV para estruturas pertencentes ao sistema mesolímbico como o complexo basolateral da amígdala e o núcleo accumbens (MARTINEZ et al., 2008; DE OLIVEIRA et al., 2011). Outros estudos também mostram que a via mesolímbica é particularmente sensível aos estímulos ambientais e tem sido associada a respostas exageradas a situações de medo (DEUTCH et al., 1985; GUARRACI et al., 1999). Além do mais, a ativação da via mesolímbica dopaminérgica é importante na seleção de quais comportamentos devem ser codificados na memória para fazer parte do repertório comportamental do indivíduo (BRANDÃO & COIMBRA, 2018).

Mais da metade das catecolaminas do sistema nervoso central é dopaminérgica (BRANDÃO & COIMBRA, 2018). A síntese da dopamina inicia-se com a captação ativa de L-tirosina que, pela ação da enzima tirosina hidroxilase, é transformada em L-Dopa e, posteriormente, pela ação da L-Dopa descarboxilase, em dopamina (GRAEFF & GUIMARÃES, 2012). A dopamina é armazenada em vesículas no interior da célula e, com a chegada do potencial de ação, é liberada por processo de exocitose (GRAEFF & GUIMARÃES, 2012). Com isso, a dopamina pode atuar nos receptores dopaminérgicos, que são proteínas transmembrana pertencentes à família de receptores metabotrópicos acoplados à proteína G (GRAEFF & GUIMARÃES, 2012; BRANDÃO & COIMBRA, 2018). Existem cinco diferentes receptores dopaminérgicos, que estão agrupados em duas famílias com base em seus efeitos opostos em certas cascatas de sinalização intracelular: D1 (D1 e D5) e D2 (D2, D3 e D4). Os receptores da família D1 são excitatórios, favorecendo a despolarização neuronal, e os receptores da família D2 são inibitórios, causando hiperpolarização (MONSMA et al., 1990; CALLIER et al., 2003). Aproximadamente 60% dos neurônios da ATV são dopaminérgicos, e a densidade do receptor D1 é de moderada a baixa nessa estrutura (BRANDÃO & COIMBRA, 2018).



Em comparação, os receptores D2 são altamente expressos na ATV (ZARRINDAST & KHAKPAI, 2015; BRANDÃO & COIMBRA, 2018).

Estudos demonstram um maior envolvimento dos receptores da família D2 na expressão do medo condicionado em ratos (DE OLIVEIRA et al., 2006, 2009, 2011, 2017; DE SOUZA CAETANO et al., 2013). Nesses estudos, observou-se que tanto a administração sistêmica do agonista D2, quimpirole, quanto do antagonista D2, sulpirida, causaram uma significativa redução da expressão da resposta de congelamento condicionado. Posteriormente, demonstrou-se que a ação das drogas se deu em receptores dopaminérgicos em diferentes áreas encefálicas: ATV no caso da quimpirole e amígdala basolateral no caso da sulpirida (DE SOUZA CAETANO et al., 2013; DE OLIVEIRA et al., 2017). Com isso, nota-se que ao administrar antagonistas e agonistas dopaminérgicos, tais como sulpirida e quimpirole, em estudos realizados em laboratório por meio do condicionamento aversivo, foram identificadas as particularidades sobre os receptores dopaminérgicos da família D2 encontrados, sobretudo, na via mesolímbica (SCHOEMAKER et al., 1997).

Um outro importante antagonista D2, utilizado em contexto clínico e hospitalar, é o haloperidol (EL-KHAYAT & BALWIN, 1998; PARK et al., 2018). Ele é um antipsicótico do grupo das butirofenonas, indicado principalmente para controlar a agitação e agressividade apresentadas durante a fase aguda da esquizofrenia (MACHADO et al., 2009). O haloperidol é amplamente utilizado em decorrência da sua eficácia, baixo custo e grande disponibilidade no sistema público de saúde. No entanto, um aspecto negativo presente no uso do haloperidol são os efeitos colaterais extrapiramidais que podem surgir dependendo da dose utilizada – tais como o estado de acinesia e a rigidez dos movimentos, muito semelhantes aos sintomas observados na doença de Parkinson (DE RYCK et al., 1980; LORENC-KOCI et al., 1996). Os efeitos extrapiramidais estão associados a alta afinidade existente entre o haloperidol e os receptores D2 da via nigroestriatal (SCHOEMAKER et al., 1997). A via nigroestriatal origina-se no mesencéfalo, a partir da substância negra, e projeta-se às zonas motoras dos núcleos da base, principalmente, ao núcleo estriado, cujo sistema é considerado como o maior trato dopaminérgico do encéfalo (STANDAERT & GALANTER, 2008).

Tem sido relatado que com o uso do haloperidol em doses que não induzem comprometimentos motores em ratos, ocorre redução de comportamentos de esQUIVA condicionada (BALDESSARINI & TARAZI, 1996). Outro estudo mostrou que a

administração sistêmica de haloperidol reduziu as vocalizações ultrassônicas emitidas durante a sessão de teste em um paradigma de condicionamento contextual aversivo (COLOMBO et al., 2013). Por outro lado, em outros estudos, demonstrou-se que o haloperidol bloqueou a extinção após injeção sistêmica ou administração local no núcleo accumbens (HOLTZMAN-ASSIF & LAURENT, 2010; YAN-WEI SHI et al., 2017).

Assim, apesar de anunciado desde os pioneiros experimentos com esquiva condicionada, o envolvimento da neurotransmissão dopaminérgica no medo/ansiedade continua a ser alvo de interesse e estudo até os dias de hoje (MILLER et al., 1957; POSLUNS, 1962; BRANDÃO & COIMBRA, 2018; BARROCA et al., 2019). De maneira geral, a dopamina parece mediar o medo condicionado através de sua ação em receptores D2 na via mesolímbica e modular o medo incondicionado atuando em estruturas mais caudais do encéfalo, como os colículos inferiores (DE OLIVEIRA et al., 2014; BRANDÃO et al., 2015). No presente estudo, buscamos contribuir para essa temática, ampliando a avaliação do papel dos receptores D2 na expressão e extinção do medo condicionado ao contexto e à luz em ratos. Esperamos reproduzir os achados anteriores em relação aos efeitos da sulpirida na diminuição da expressão do medo condicionado à luz e ao contexto; testar a hipótese de que o haloperidol apresentaria efeitos similares aos da sulpirida; verificar se doses específicas de sulpirida e haloperidol são capazes de diminuir a expressão do medo condicionado sem alterar a atividade motora; e ampliar a caracterização do envolvimento da neurotransmissão dopaminérgica no medo condicionado avaliando os efeitos dessas duas drogas sobre o processo de extinção.

## **2. OBJETIVOS**

O objetivo geral deste estudo é ampliar a avaliação do envolvimento de receptores dopaminérgicos do tipo D2 no medo condicionado. Os objetivos específicos são:

- Examinar os efeitos do bloqueio dos receptores D2 sobre a expressão e extinção do medo condicionado ao contexto e à luz em ratos;
- Avaliar os efeitos da administração sistêmica pré-teste dos antagonistas D2 sulpirida e haloperidol sobre a resposta de congelamento condicionado;
- Avaliar eventuais alterações no desempenho motor dos animais causadas pelas drogas por meio dos testes de catalepsia e do campo aberto.

### **3. MATERIAL E MÉTODOS**

#### **3.1. Sujeitos**

Foram utilizados 146 ratos Wistar machos, provenientes do biotério central da Universidade Federal de São Carlos, pesando em torno de 300 g. Os animais foram agrupados (quatro animais por caixa) em gaiolas de polipropileno (24 × 39 × 30,5 cm), forradas com maravalha, com acesso livre a alimento e à água. Eles ficaram alojados no biotério setorial do Laboratório de Psicologia da Aprendizagem e mantidos sob um ciclo de 12 h de luz e de 12 h de escuridão, sendo as luzes acesas a partir das 07h00. Todos os experimentos aconteceram durante a fase clara do ciclo. Os animais foram transportados individualmente até as salas experimentais em caixas de polipropileno forradas com maravalha, medindo 12 × 30,5 × 19,5 cm. Cada grupo experimental teve 12 sujeitos, com a exceção do grupo que recebeu sulpirida 20 mg/kg no experimento de medo condicionado à luz, que teve 14 sujeitos. Os procedimentos foram submetidos e aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal de São Carlos (protocolo 9143060617 – Anexo A) e seguem as recomendações do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA).

#### **3.2. Drogas**

As drogas utilizadas foram os antagonistas dopaminérgicos de receptores do tipo D2 sulpirida e haloperidol. A sulpirida (Tocris Bioscience, Bristol, UK) foi dissolvida em solução salina fisiológica (0,9 %) contendo 2 % de Tween 80, de maneira a se obter as seguintes concentrações: 20 e 40 mg/ml. O haloperidol (Tocris Bioscience, Bristol, UK) foi dissolvido em solução fisiológica contendo 2 % de Tween 80, de maneira a obter as seguintes concentrações: 0,10 e 0,25 mg/ml. Foram utilizadas injeções sistêmicas administradas intraperitonealmente 15 min antes do início dos experimentos, em um volume constante de 1 ml/kg. Os grupos controles receberam volume equivalente de salina fisiológica contendo 2 % de Tween 80 (veículo). As doses e os tempos de espera foram selecionados com base em estudos anteriores (COLOMBO et al., 2013; DE SOUZA CAETANO et al., 2013).

### 3.3. Equipamentos e Procedimentos

#### 3.3.1. Experimento 1: Medo condicionado ao contexto

O protocolo experimental para o medo condicionado ao contexto foi baseado nos experimentos de De Souza Caetano e colaboradores (2013) e Zapparoli (2017).

*Treino:* A caixa do experimento possui  $26 \times 20 \times 20$  cm. A parede do fundo, as duas paredes laterais e o teto desta caixa são de metal de cor branca, e sua porta, de vidro transparente. O assoalho da caixa é constituído por 13 barras de metal de 5 mm de diâmetro, distando 1,5 cm entre si (Fig.1). Esse equipamento esteve dentro de uma caixa de atenuação sonora feita de alumínio ( $66 \times 43 \times 45$  cm), evitando dessa maneira a interferência de estímulos ambientais durante a execução dos procedimentos. Para tanto, foi necessário que o exaustor da caixa de atenuação ficasse ligado durante toda a sessão de treino. Choques elétricos, de intensidade de 0,6 mA e duração de 1 s, foram administrados por meio de um gerador de choques. O próprio ambiente da caixa serviu como estímulo condicionado (CS). Na sessão de treino, os animais foram colocados na caixa e passaram por 5 min de habituação. Nesta etapa, entre 2 min e 4 min, foram analisadas as respostas de congelamento dos ratos. Depois destes 5 min, os animais foram submetidos a 10 choques nas patas, com duração de 1 s cada, aplicados pela experimentadora. Os choques foram aplicados em intervalos variáveis médios de 60 s, sendo o intervalo mínimo de 30 s e o máximo de 90 s. Após a última apresentação do choque, durante os próximos 2 min, o tempo gasto na resposta de congelamento pelos ratos foi analisado. A duração de cada sessão de treino foi de aproximadamente 16 min.

*Teste/Reteste:* Vinte e quatro e quarenta e oito horas depois do condicionamento aversivo foram realizadas as sessões de teste e reteste, sem a apresentação de choques, na mesma caixa onde aconteceu a sessão de treino (Fig.1). A medida utilizada para avaliar o medo condicionado foi o tempo que os ratos gastaram na resposta de congelamento durante as sessões de teste e reteste. Nas sessões de teste e reteste, os animais foram expostos ao contexto aversivo por 10 min. O congelamento condicionado foi operacionalmente definido como ausência total de movimentos do animal, exceto aqueles relacionados à respiração, com retração das orelhas, exoftalmia e arqueamento do dorso, em um período mínimo de 6 s por episódio.



**Figura 1.** Fotografia da caixa experimental utilizada para o procedimento de condicionamento aversivo ao contexto nas fases de treino, teste e reteste, para todos os grupos. Fonte: Zapparoli (2017).

### ***3.3.2. Experimento 2: Medo condicionado à luz***

O protocolo experimental para o medo condicionado à luz foi baseado naquele descrito por De Oliveira e colaboradores (2013) e Zapparoli (2017).

*Treino:* Durante a fase de treino do procedimento de condicionamento aversivo à luz, foi utilizada a mesma caixa descrita para o treino ao contexto (Fig.1). Esta caixa estava dentro de uma câmara de atenuação acústica, que tinha o seu exaustor ligado durante a sessão de treino. Choques elétricos, de intensidade de 0,6 mA e duração de 1 s, foram administrados por meio de um gerador de choques. O estímulo condicionado utilizado foi uma luz branca, proveniente de uma lâmpada de 6 W, que estava localizada no alto de uma das paredes laterais da caixa experimental. Na sessão de treino, os animais foram colocados na caixa e passaram por 5 min de habituação. Após isso, passaram pela fase de treino, com duração de 15 min, em que cada animal recebeu 8 apresentações de luz e choques nas patas. Cada apresentação de luz durou 20 s e o choque foi aplicado no último segundo de cada apresentação do CS. O intervalo entre as apresentações de luz variou entre 60 e 120 s, com intervalo médio de 90 s. As respostas de congelamento eliciadas na primeira e na última apresentação de luz foram analisadas. O tempo de cada sessão de condicionamento foi de aproximadamente 20 min.

*Teste/Reteste:* Vinte e quatro e quarenta e oito horas depois do condicionamento aversivo à luz, foram realizadas as sessões de teste e reteste com apresentação da luz-CS, mas sem a apresentação de choques, em caixa distinta daquela na qual aconteceu a sessão de treino. A caixa para o teste possuía 26 × 25 × 20 cm, com o fundo e as laterais de metal

cinza, a porta e o teto de acrílico transparente e o assoalho constituído por 18 barras de metal com 3 mm de diâmetro, distando 1 cm entre si (Fig.2). Esta caixa possuía uma lâmpada acoplada no lado externo do teto de acrílico, que foi utilizada durante o teste e o reteste. Ela também se encontrou em uma câmara de atenuação acústica, semelhante àquela descrita para o treino, mas durante o teste o exaustor da caixa de atenuação acústica não foi ligado. A medida de comportamento que foi utilizada para avaliar o medo condicionado foi o tempo que os ratos gastaram na resposta de congelamento durante as sessões de teste e reteste. O congelamento condicionado foi operacionalmente definido como ausência total de movimentos do animal, exceto aqueles relacionados à respiração, com retração das orelhas, exoftalmia e arqueamento do dorso, em um período mínimo de 6 s por episódio. Nas sessões teste e reteste, com duração de 15 min, os animais foram expostos a 8 apresentações de luz (20 s cada). O intervalo entre as apresentações de luz variou randomicamente entre 60 e 120 s, com intervalo médio de 90 s.



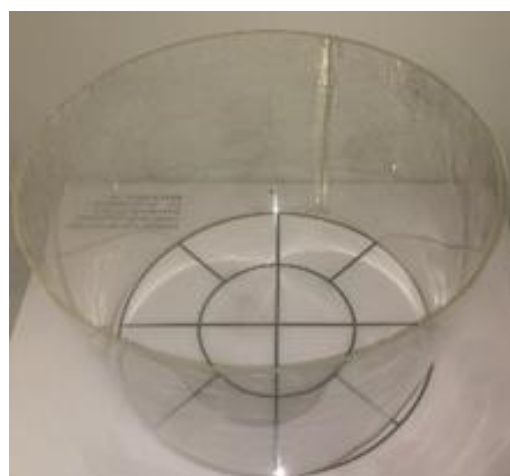
**Figura 2.** Fotografia da caixa experimental utilizada para o procedimento de medo condicionado à luz, nas fases de teste e reteste, para todos os grupos. **Fonte:** Zapparoli (2017)

### ***3.3.3. Experimento 3: Controle dos efeitos motores***

*Teste de catalepsia:* O protocolo experimental para o teste de catalepsia foi baseado naquele descrito por Colombo e colaboradores (2013). Nesse teste, é utilizada uma caixa de 41 × 33 × 17 cm, na qual encontra-se uma barra de acrílico horizontal, posicionada a 8 cm acima do chão da caixa, com 30 cm de comprimento e 1 cm de diâmetro (Fig.3 - esquerda). As patas dianteiras do animal eram posicionadas cuidadosamente sobre essa barra, enquanto as patas traseiras permaneceram ao chão. A

latência para descer da barra horizontal foi medida 15 e 45 min após a administração da droga. Essa latência foi registrada quatro vezes seguidas para cada período de avaliação. Caso o animal ficasse por menos de 30 s, deveria ser recolocado imediatamente para um novo teste e o dado utilizado foi a maior latência observada nas quatro tentativas. Se, em qualquer tentativa, o animal saísse da barra depois de 30 s, este valor deveria ser usado e não deveriam ser realizados mais testes.

*Teste do campo aberto:* O protocolo experimental para o teste do campo aberto foi baseado naquele descrito por De Oliveira e colaboradores (2006). Para o teste de campo aberto, foi utilizada uma arena constituída por um invólucro de acrílico transparente circular (60 cm de diâmetro e 50 cm de altura), com o solo dividido em 12 seções (Fig.3 - direita). Os comportamentos emitidos pelos animais foram registrados por uma câmera de vídeo posicionada acima da arena. Cada animal foi colocado na arena para um período de 15 min de exploração livre. As seguintes respostas comportamentais foram registradas: número total de cruzamentos (número de seções de chão percorrido), número de cruzamentos no centro (número de seções de chão do centro da arena percorrido), tempo de permanência no centro, número de levantamentos (em pé com as patas dianteiras levantadas no meio da arena ou contra as paredes), tempo das respostas de autolimpeza (limpeza da cabeça e/ou do corpo com as patas dianteiras por mais de 10 s) e imobilidade (ausência de movimentos do corpo).



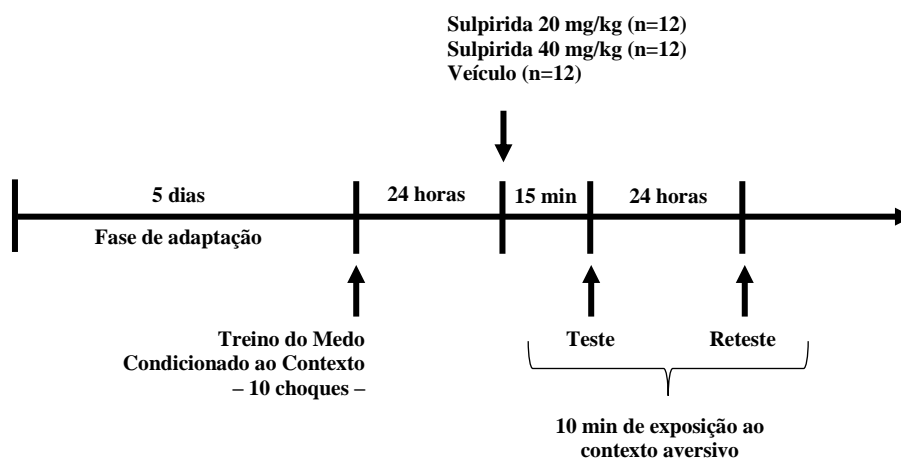
**Figura 3.** Fotografias dos instrumentos que compõem, respectivamente, o teste de catalepsia à esquerda e o teste do campo aberto à direita.



### 3.4. Delineamento Experimental

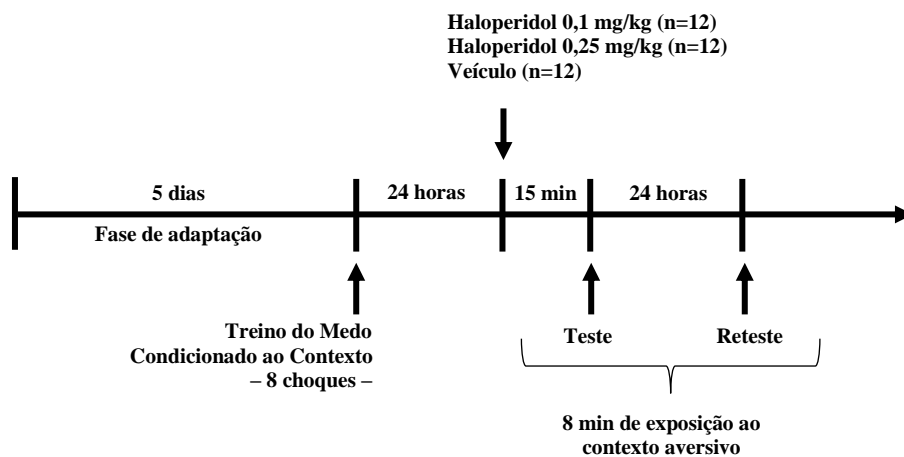
Após a chegada dos ratos do biotério central da UFSCar ao laboratório, eles passaram por pelo menos cinco dias de adaptação ao novo ambiente. O Experimento 1 investigou os efeitos da sulpirida (Experimento 1A) e do haloperidol (Experimento 1B) sobre o medo condicionado ao contexto e o Experimento 2 os efeitos da sulpirida (Experimento 2A) e do haloperidol (Experimento 2B) sobre o medo condicionado à luz. No Experimento 3, avaliamos os potenciais efeitos motores da sulpirida (Experimento 3A) e do haloperidol (Experimento 3B) com os testes de catalepsia e do campo aberto.

*Experimento 1A* (Fig.4): Após adaptação ao biotério setorial, os ratos passaram pela fase de treino do condicionamento aversivo ao contexto, em que houve a apresentação dos choques nas patas (US). Após 24 h, houve administração de sulpirida ou veículo e, em seguida, os ratos foram submetidos ao teste para avaliação da expressão do medo condicionado ao contexto, por meio da quantificação da resposta de congelamento. Após mais 24 h, os ratos passaram por um reteste, para avaliação da retenção da extinção, mais uma vez por meio da quantificação da resposta de congelamento.



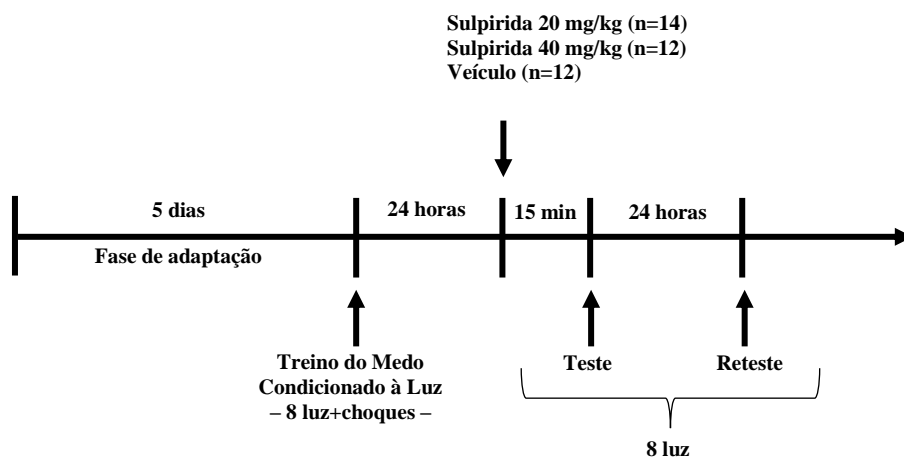
**Figura 4.** Delineamento do experimento 1A.

*Experimento 1B* (Fig.5): Aconteceram os mesmos passos descritos para o Experimento 1A, com a diferença da droga utilizada ser o haloperidol.



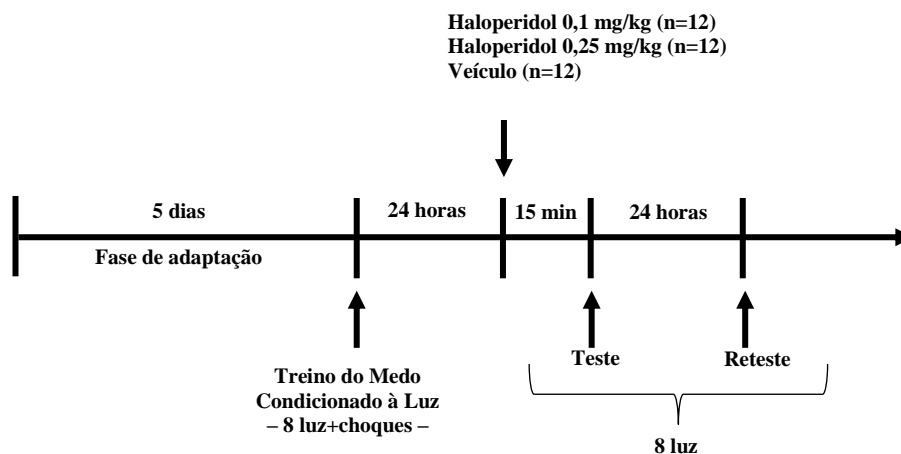
**Figura 5.** Delineamento do experimento 1B.

*Experimento 2A* (Fig.6): Após adaptação ao biotério setorial, os ratos passaram pela fase de treino do condicionamento aversivo à luz, em que houve a apresentação de luz (CS) e dos choques nas patas (US). Após 24 h, houve administração de sulpirida ou veículo e, em seguida, os ratos foram submetidos ao teste para avaliação da expressão do medo condicionado à luz, por meio da quantificação da resposta de congelamento. Após mais 24 h, os ratos passaram por um reteste, para avaliação da retenção da extinção, mais uma vez por meio da quantificação da resposta de congelamento.



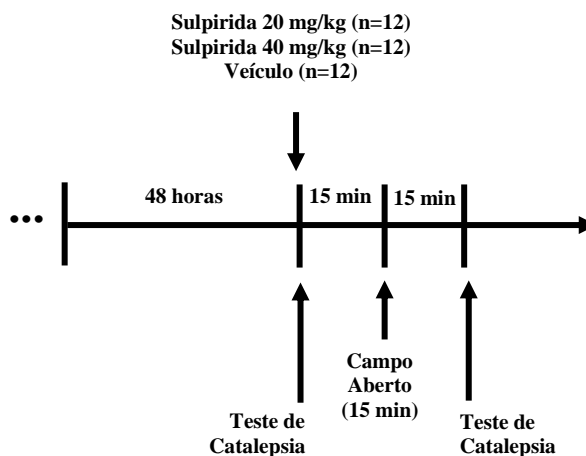
**Figura 6.** Delineamento do experimento 2A.

*Experimento 2B* (Fig.7): Aconteceram os mesmos passos descritos para o Experimento 2A, com a diferença da droga utilizada ser o haloperidol.



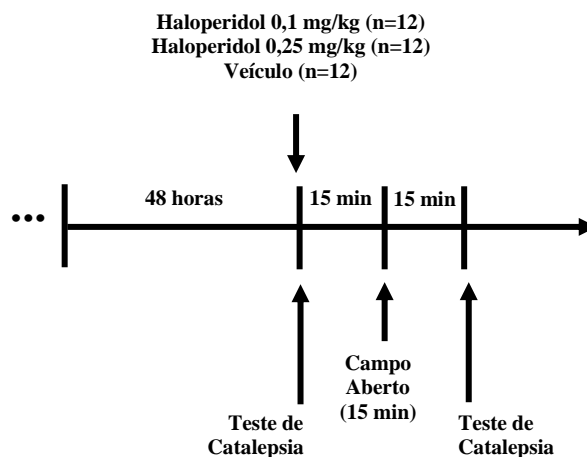
**Figura 7.** Delineamento do experimento 2B.

*Experimento 3A* (Fig.8): Dois dias após exposição ao reteste de medo condicionado ao contexto, os mesmos ratos receberam administração de veículo ou sulpirida e, após 15 e 45 min, passaram pelo teste de catalepsia. Entre os dois testes de catalepsia, os animais passaram pelo teste de campo aberto com duração de 15 min.



**Figura 8.** Delineamento do experimento 3A.

*Experimento 3B* (Fig.9): Aconteceram os mesmos passos descritos para o Experimento 3A, com a diferença da droga utilizada ser o haloperidol.



**Figura 9.** Delineamento do experimento 3B.

### 3.5. Análise de Dados

Os dados são apresentados como média  $\pm$  EPM. Para análise dos dados de congelamento no teste e reteste (expressão e extinção), para os diferentes experimentos, foram utilizadas análises de variância (ANOVAs) de duas vias com medidas repetidas, com um fator para fase do procedimento (teste  $\times$  reteste) e outro para tratamentos (Controle  $\times$  Sul 20  $\times$  Sul 40 ou Controle  $\times$  Halo 0,10  $\times$  Halo 0,25). Para análise dos dados de retenção da extinção (% congelamento exibido durante a porção final da sessão treino - % congelamento exibido durante a sessão de reteste), para os diferentes experimentos, foram utilizadas ANOVAs de uma via para tratamentos (Controle  $\times$  Sul 20  $\times$  Sul 40 ou Controle  $\times$  Halo 0,10  $\times$  Halo 0,25). Para análise dos dados de congelamento ao longo dos blocos, para os diferentes experimentos, foram utilizadas ANOVAs de duas vias com medidas repetidas, com um fator para fase do procedimento (blocos) e outro para tratamentos (Controle  $\times$  Sul 20  $\times$  Sul 40 ou Controle  $\times$  Halo 0,10  $\times$  Halo 0,25). Para análise dos dados de catalepsia, para os diferentes experimentos, foram utilizadas ANOVAs de duas vias com medidas repetidas, com um fator para fase do procedimento (15 min  $\times$  45 min) e outro para tratamentos (Controle  $\times$  Sul 20  $\times$  Sul 40 ou Controle  $\times$  Halo 0,10  $\times$  Halo 0,25). Para análise dos dados do campo aberto, para os diferentes experimentos, foram utilizadas ANOVAs de uma via para tratamentos (Controle  $\times$  Sul 20  $\times$  Sul 40 ou Controle  $\times$  Halo 0,10  $\times$  Halo 0,25). Após essas análises, no caso de significância estatística, foi utilizado o teste *post-hoc* de Newman-Keuls. Um valor de  $p$  inferior a 0,05 foi considerado significativo.

## 4. RESULTADOS

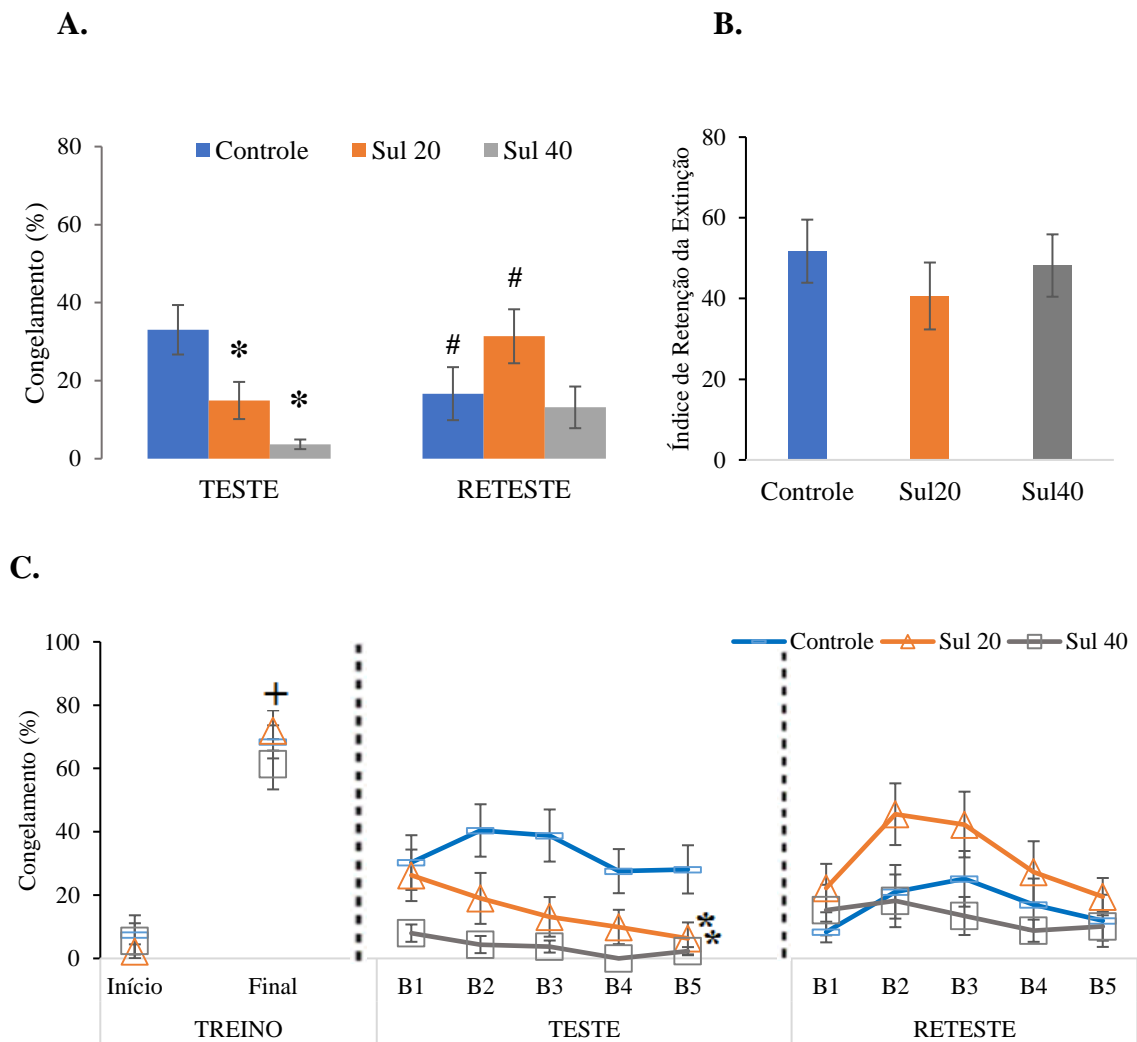
### 4.1. Experimento 1: Medo condicionado ao contexto

#### 4.1.1. Experimento 1A: Efeitos da sulpirida

A Figura 10 apresenta os efeitos da administração de sulpirida sobre a expressão e extinção da resposta de congelamento no protocolo de condicionamento aversivo ao contexto. Na Figura 10A podem ser observadas as porcentagens médias de congelamento, em relação ao tempo total das sessões, dos grupos tratados com veículo (Controle) ou sulpirida nas doses de 20 (Sul 20) ou 40 mg/kg (Sul 40) e submetidos ao Teste e Reteste, realizados 24 e 48 h após a sessão Treino. A porcentagem de congelamento dos animais nestas sessões foi submetida à ANOVA de duas vias com medidas repetidas que revelou efeito significativo para o fator tratamento (Controle  $\times$  Sul 20  $\times$  Sul 40;  $F_{2,33} = 3,73$ ;  $p < 0,05$ ) e interação significativa entre os fatores (tratamento  $\times$  sessão;  $F_{2,71} = 8,07$ ;  $p < 0,05$ ), mas não para o fator sessão (Teste  $\times$  Reteste;  $F_{1,71} = 0,82$ ;  $p > 0,05$ ). O teste *post hoc* de Newman-Keuls indicou menor congelamento dos grupos Sul 20 e Sul 40 em relação ao grupo Controle no Teste ( $p < 0,05$ ). Não houve diferença significativa entre os grupos no Reteste ( $p > 0,05$ ). A análise apontou ainda diminuição significativa do congelamento do grupo Controle no Reteste em relação ao Teste ( $p < 0,05$ ) e aumento significativo do congelamento do grupo Sul 20 no Reteste em relação ao Teste ( $p < 0,05$ ).

Na Figura 10B podem ser observados os índices de retenção da extinção dos grupos tratados com veículo (Controle) ou sulpirida nas doses de 20 (Sul 20) ou 40 mg/kg (Sul 40). A ANOVA de uma via não revelou efeito significativo para os tratamentos (Controle  $\times$  Sul 20  $\times$  Sul 40;  $F_{2,33} = 0,51$ ;  $p > 0,05$ ). Na figura 10C, estão representadas as porcentagens médias de congelamento por grupo em relação a blocos de 2 min durante o início e final da sessão Treino, durante o Teste e o Reteste. Para o Treino, a ANOVA de duas vias com medidas repetidas revelou efeito significativo para o fator bloco (Início  $\times$  Final;  $F_{1,71} = 134,31$ ;  $p < 0,05$ ), mas não para tratamento (Controle  $\times$  Sul 20  $\times$  Sul 40;  $F_{2,33} = 0,46$ ;  $p > 0,05$ ) ou interação entre os fatores (tratamento  $\times$  bloco;  $F_{2,71} = 0,58$ ;  $p > 0,05$ ). O teste *post hoc* de Newman-Keuls indicou aumento do congelamento ao final do treino em relação ao congelamento observado antes da apresentação dos choques ( $p < 0,05$ ). Para o Teste, a ANOVA de duas vias com medidas repetidas revelou efeito

significativo para os fatores tratamento (Controle  $\times$  Sul 20  $\times$  Sul 40;  $F_{2,132} = 10,22$ ;  $p < 0,05$ ) e bloco (B1  $\times$  B2  $\times$  B3  $\times$  B4  $\times$  B5;  $F_{4,179} = 3,12$ ;  $p < 0,05$ ), mas não para interação entre os fatores (tratamento  $\times$  bloco;  $F_{8,179} = 1,13$ ;  $p > 0,05$ ). O teste *post hoc* de Newman-Keuls indicou diminuição do congelamento dos grupos Sul 20 e Sul 40 em relação ao grupo Controle ( $p < 0,05$ ). Para o Reteste, a ANOVA de duas vias com medidas repetidas revelou efeito significativo para o fator bloco (B1  $\times$  B2  $\times$  B3  $\times$  B4  $\times$  B5;  $F_{4,179} = 5,91$ ;  $p < 0,05$ ), mas não para tratamento (Controle  $\times$  Sul 20  $\times$  Sul 40;  $F_{2,132} = 2,29$ ;  $p > 0,05$ ) ou interação entre os fatores (tratamento  $\times$  bloco;  $F_{8,179} = 1,41$ ;  $p > 0,05$ ). O teste *post hoc* de Newman-Keuls indicou diferença do congelamento dos blocos 1, 4 e 5 em relação aos blocos 2 e 3 ( $p < 0,05$ ), mas independente do tratamento utilizado.



**Figura 10.** Efeitos da administração de sulpirida sobre a expressão e extinção da resposta de congelamento no protocolo de condicionamento aversivo ao contexto. A) Porcentagem média de congelamento, em relação ao tempo total da sessão, de animais tratados com sulpirida nas doses 20 e 40 mg/kg ou veículo (Controle) e submetidos ao Teste e ao Reteste no protocolo de condicionamento aversivo ao contexto. B) FEI - Índice de retenção da extinção do medo condicionado dos mesmos rats (% congelamento exibido durante a porção final da sessão treino - % congelamento exibido durante a sessão de reteste). C) Porcentagem média de congelamento, em relação aos dois minutos de duração de cada um dos blocos de cada sessão do protocolo de medo condicionado ao contexto, dos mesmos animais. \*  $p < 0,05$ : diferente do grupo Controle na mesma sessão; #  $p < 0,05$ : diferente do respectivo grupo na sessão Teste. +  $p < 0,05$ : diferente do início do treino. Média  $\pm$  EPM. ANOVA seguida pelo teste de Newman Keuls.  $n = 12$  por grupo.

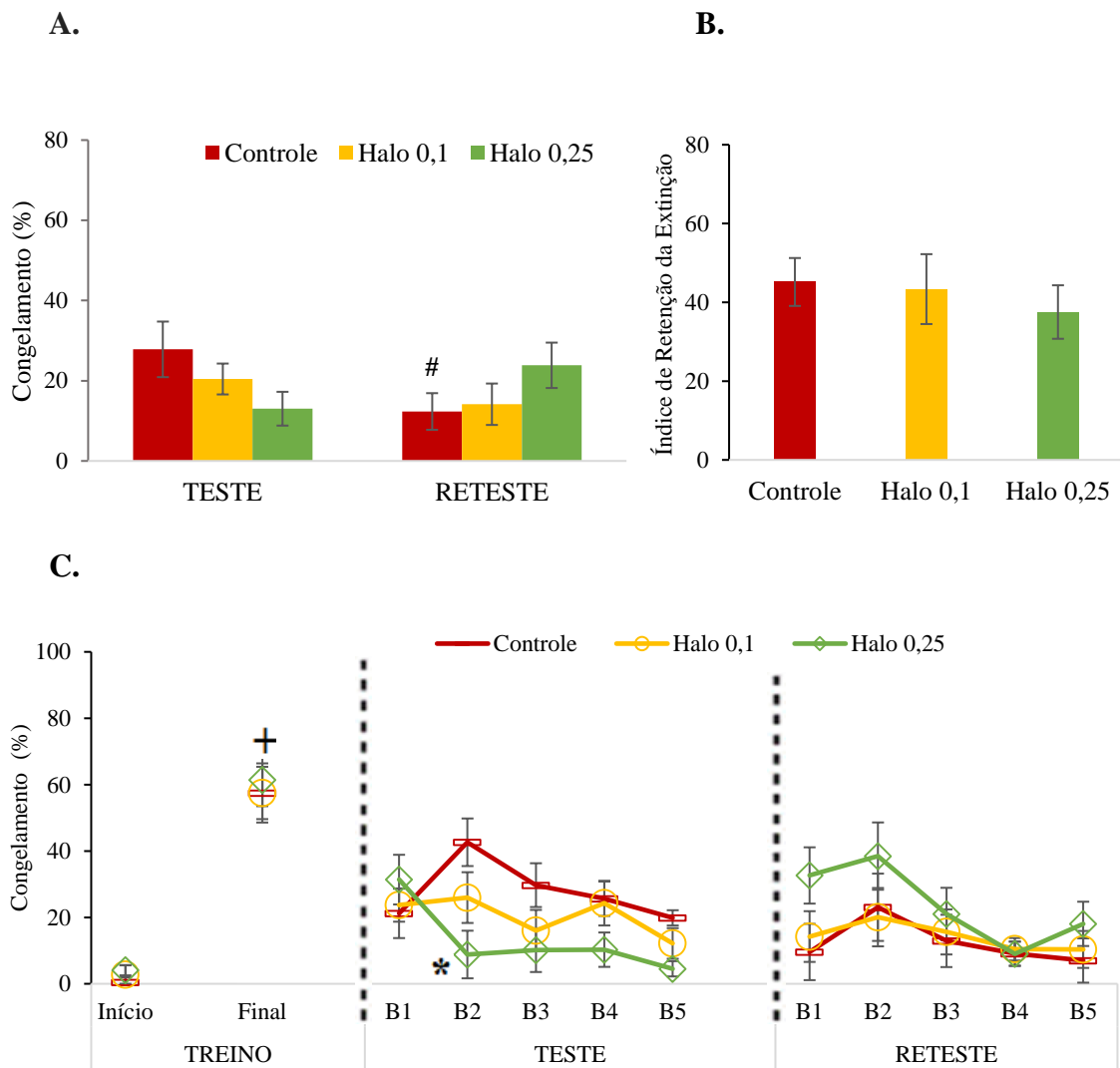
#### 4.1.2. Experimento 1B: Efeitos do haloperidol

A Figura 11 apresenta os efeitos da administração de haloperidol sobre a expressão e extinção da resposta de congelamento no protocolo de condicionamento aversivo ao contexto. Na Figura 11A, podem ser observadas as porcentagens médias de congelamento, em relação ao tempo total das sessões, dos grupos tratados com veículo (Controle) ou haloperidol nas doses de 0,1 (Halo 0,1) ou 0,25 mg/kg (Halo 0,25) e submetidos ao Teste e Reteste, realizados 24 e 48 h após a sessão Treino. A porcentagem de congelamento dos animais nestas sessões foi submetida à ANOVA de duas vias com medidas repetidas que revelou efeito significativo para a interação entre os fatores (tratamento  $\times$  sessão;  $F_{2,71} = 4,99$ ;  $p < 0,05$ ), mas não para o fator tratamento (Controle  $\times$  Halo 0,1  $\times$  Halo 0,25;  $F_{2,33} = 0,11$ ;  $p > 0,05$ ) ou para o fator sessão (Teste  $\times$  Reteste;  $F_{1,71} = 1,12$ ;  $p > 0,05$ ). O teste *post hoc* de Newman-Keuls não indicou diferença estatística do congelamento dos grupos Halo 0,1 e Halo 0,25 em relação ao grupo Controle no Teste ( $p > 0,05$ ) ou Reteste ( $p > 0,05$ ). Mas a análise apontou diminuição significativa do congelamento do grupo Controle no Reteste em relação ao Teste ( $p < 0,05$ ). Não houve diferença significativa do congelamento dos grupos Halo 0,1 e Halo 0,25 no Reteste em relação ao Teste ( $p > 0,05$ ).

Na Figura 11B podem ser observados os índices de retenção da extinção dos grupos tratados com veículo (Controle) ou haloperidol nas doses de 0,1 (Halo 0,1) ou 0,25 mg/kg (Halo 0,25). A ANOVA de uma via não revelou efeito significativo para os tratamentos (Controle  $\times$  Halo 0,1  $\times$  Halo 0,25;  $F_{2,33} = 0,29$ ;  $p > 0,05$ ). Na figura 11C, estão representadas as porcentagens médias de congelamento por grupo em relação a blocos de 2 minutos durante o início e final da sessão Treino, durante o Teste e o Reteste. Para o Treino, a ANOVA de duas vias com medidas repetidas revelou efeito significativo para o fator bloco (Início  $\times$  Final;  $F_{1,71} = 159,74$ ;  $p < 0,05$ ), mas não para tratamento (Controle  $\times$  Halo 0,1  $\times$  Halo 0,25;  $F_{2,33} = 0,19$ ;  $p > 0,05$ ) ou interação entre os fatores (tratamento  $\times$  bloco;  $F_{2,71} = 0,03$ ;  $p > 0,05$ ). O teste *post hoc* de Newman-Keuls indicou aumento do congelamento ao final do treino em relação ao congelamento observado antes da apresentação dos choques ( $p < 0,05$ ). Para o Teste, a ANOVA de duas vias com medidas repetidas revelou efeito significativo para o fator bloco (B1  $\times$  B2  $\times$  B3  $\times$  B4  $\times$  B5;  $F_{4,179} = 3,55$ ;  $p < 0,05$ ) e interação significativa entre os fatores (tratamento  $\times$  bloco;  $F_{8,179} = 2,57$ ;  $p < 0,05$ ), mas nenhum efeito para tratamento (Controle  $\times$  Halo 0,1  $\times$  Halo 0,25;



$F_{2,132} = 2,04$ ;  $p > 0,05$ ). O teste *post hoc* de Newman-Keuls indicou diminuição do congelamento do grupo Halo 0,25 em relação ao grupo Controle apenas no bloco 2 ( $p < 0,05$ ). O teste de Newman-Keuls apontou ainda diferença significativa entre o bloco 2 e os blocos 1 e 5 para o grupo Controle, e entre o bloco 1 e os demais blocos para o grupo Halo 0,25 ( $p < 0,05$ ). Para o Reteste, a ANOVA de duas vias com medidas repetidas revelou efeito significativo para o fator bloco ( $B1 \times B2 \times B3 \times B4 \times B5$ ;  $F_{4,179} = 6,28$ ;  $p < 0,05$ ), mas não para tratamento (Controle  $\times$  Halo 0,1  $\times$  Halo 0,25;  $F_{2,132} = 1,45$ ;  $p > 0,05$ ) ou interação entre os fatores (tratamento  $\times$  bloco;  $F_{8,179} = 1,15$ ;  $p > 0,05$ ). O teste *post hoc* de Newman-Keuls indicou diferença do congelamento entre o bloco 2 e os demais blocos ( $p < 0,05$ ), mas independente do tratamento utilizado.



**Figura 11.** Efeitos da administração de haloperidol sobre a expressão e extinção da resposta de congelamento no protocolo de condicionamento aversivo ao contexto. A) Porcentagem média de congelamento, em relação ao tempo total da sessão, de animais tratados com haloperidol nas doses 0,1 e 0,25 mg/kg ou veículo (Controle) e submetidos ao Teste e Reteste no protocolo de condicionamento aversivo ao contexto. B) FEI - Índice de retenção da extinção do medo condicionado dos mesmos ratos (% congelamento exibido durante a porção final da sessão treino - % congelamento exibido durante a sessão de reteste). C) Porcentagem média de congelamento, em relação aos dois minutos de duração de cada um dos blocos de cada sessão do protocolo de medo condicionado ao contexto, dos mesmos animais. #  $p < 0,05$ : diferente do respectivo grupo na sessão Teste. +  $p < 0,05$ : diferente do início do treino; \*  $p < 0,05$ : diferente do grupo Controle no mesmo bloco. Média  $\pm$  EPM. ANOVA seguida pelo teste de Newman Keuls.  $n = 12$  por grupo.

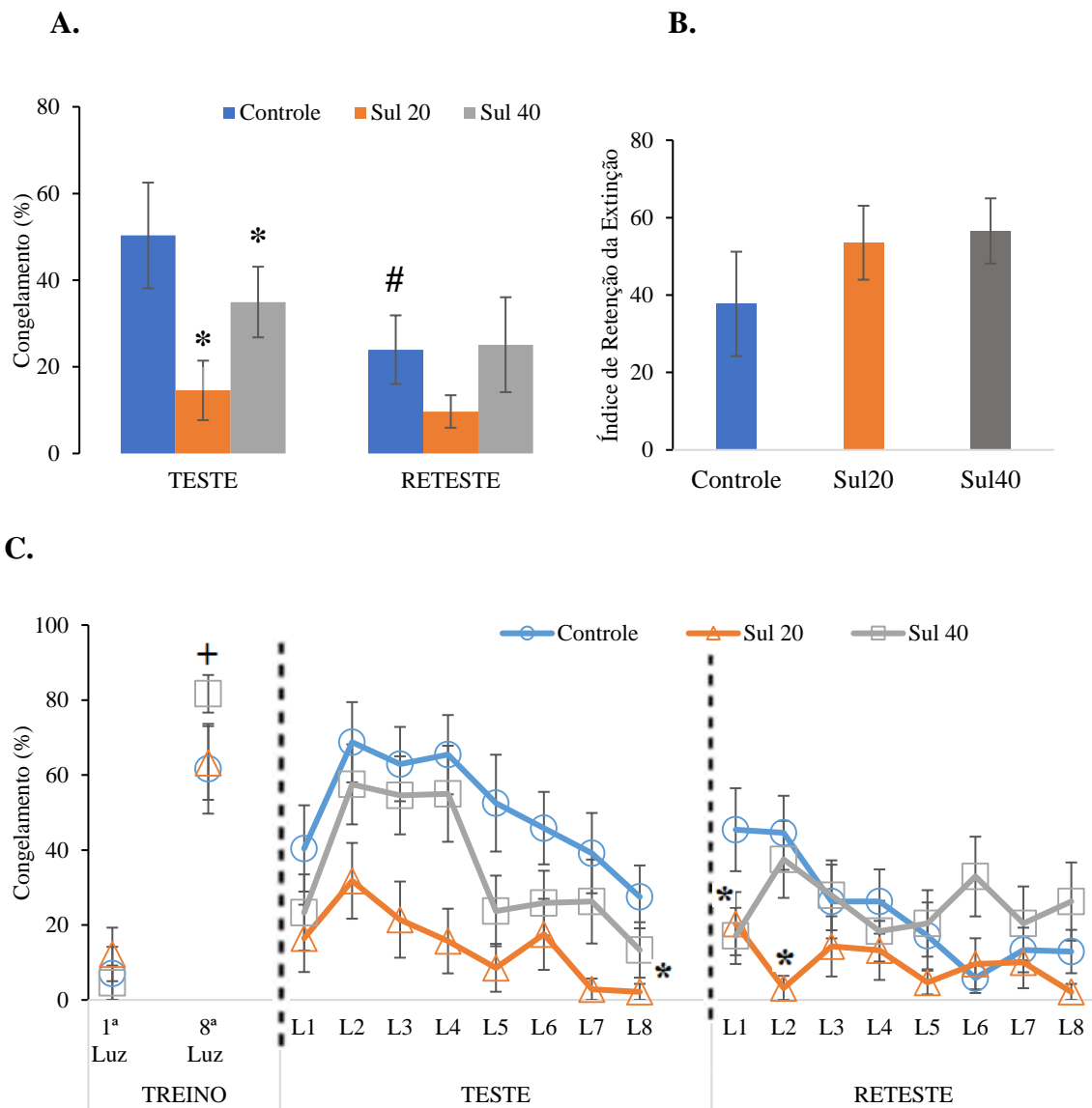
## 4.2. Experimento 2: Medo condicionado à luz

### 4.2.1. Experimento 2A: Efeitos da sulpirida

A Figura 12 apresenta os efeitos da administração de sulpirida sobre a expressão e extinção da resposta de congelamento no protocolo de condicionamento aversivo à luz. Na figura 12A, podem ser observadas as porcentagens médias de congelamento, em relação ao tempo total de apresentação de luz durante as sessões, dos grupos tratados com veículo (Controle) ou sulpirida nas doses de 20 (Sul 20) ou 40 mg/kg (Sul 40) e submetidos ao Teste e Reteste, realizados 24 e 48 h após a sessão Treino. A porcentagem de congelamento dos animais nestas sessões foi submetida à ANOVA de duas vias com medidas repetidas que revelou efeito significativo para o fator tratamento (Controle × Sul 20 × Sul 40;  $F_{2,35} = 7,89$ ;  $p < 0,05$ ), para o fator sessão (Teste × Reteste;  $F_{1,75} = 22,73$ ;  $p < 0,05$ ), e interação significativa entre os fatores (tratamento × sessão;  $F_{2,75} = 5,11$ ;  $p < 0,05$ ). O teste *post hoc* de Newman-Keuls indicou menor congelamento dos grupos Sul 20 e Sul 40 em relação ao grupo Controle no Teste ( $p < 0,05$ ). No Reteste, não houve diferença estatística entre os grupos ( $p > 0,05$ ). O teste de Newman-Keuls apontou ainda diminuição significativa do congelamento do grupo Controle no Reteste em relação ao Teste ( $p < 0,05$ ).

Na Figura 12B podem ser observados os índices de retenção da extinção dos grupos tratados com veículo (Controle) ou sulpirida nas doses de 20 (Sul 20) ou 40 mg/kg (Sul 40). A ANOVA de uma via não revelou efeito significativo para os tratamentos (Controle × Sul 20 × Sul 40;  $F_{2,35} = 0,87$ ;  $p > 0,05$ ). Na figura 12C, estão representadas as porcentagens médias de congelamento por grupo em relação a blocos de 20 segundos, referentes ao tempo de cada apresentação de luz, durante o início e final do Treino, o Teste e o Reteste. Para o Treino, a ANOVA de duas vias com medidas repetidas revelou efeito significativo para o fator bloco (1ª. Luz × 8ª. Luz;  $F_{1,75} = 72,02$ ;  $p < 0,05$ ), mas não para tratamento (Controle × Sul 20 × Sul 40;  $F_{2,35} = 0,67$ ;  $p > 0,05$ ) ou interação entre os fatores (tratamento × bloco;  $F_{2,75} = 1,28$ ;  $p > 0,05$ ). O teste *post hoc* de Newman-Keuls indicou aumento do congelamento ao final do treino em relação ao congelamento observado antes do pareamento da luz com choques ( $p < 0,05$ ). Para o Teste, a ANOVA de duas vias com medidas repetidas revelou efeito significativo para os fatores tratamento (Controle × Sul 20 × Sul 40;  $F_{2,245} = 10,16$ ;  $p < 0,05$ ) e bloco (L1 × L2 × L3 × L4 × L5 × L6 × L7 × L8;  $F_{7,303} = 8,02$ ;  $p < 0,05$ ), mas não para interação entre os fatores (tratamento

× bloco;  $F_{14,303} = 0,70$ ;  $p > 0,05$ ). O teste *post hoc* de Newman-Keuls indicou diminuição do congelamento do grupo Sul 20 em relação ao grupo Controle ( $p < 0,05$ ) e diferença do congelamento dos blocos L2, L3 e L4 em relação aos demais blocos ( $p < 0,05$ ), mas independente do tratamento utilizado. Para o Reteste, a ANOVA de duas vias com medidas repetidas revelou efeito significativo para os fatores bloco ( $L1 \times L2 \times L3 \times L4 \times L5 \times L6 \times L7 \times L8$ ;  $F_{7,303} = 2,39$ ;  $p < 0,05$ ) e tratamento (Controle × Sul 20 × Sul 40;  $F_{2,245} = 3,29$ ;  $p < 0,05$ ), e interação entre os fatores (tratamento × bloco;  $F_{14,303} = 2,14$ ;  $p < 0,05$ ). O teste *post hoc* de Newman-Keuls indicou diminuição significativa do congelamento dos grupos Sul 20 e Sul 40 em relação ao grupo Controle na primeira apresentação de luz do reteste ( $p < 0,05$ ) e do grupo sul 20 em relação ao grupo Controle na segunda apresentação de luz ( $p < 0,05$ ). O teste apontou ainda diferença significativa para o grupo Controle entre os blocos L1 e L2 e os blocos L5-L8 ( $p < 0,05$ ).



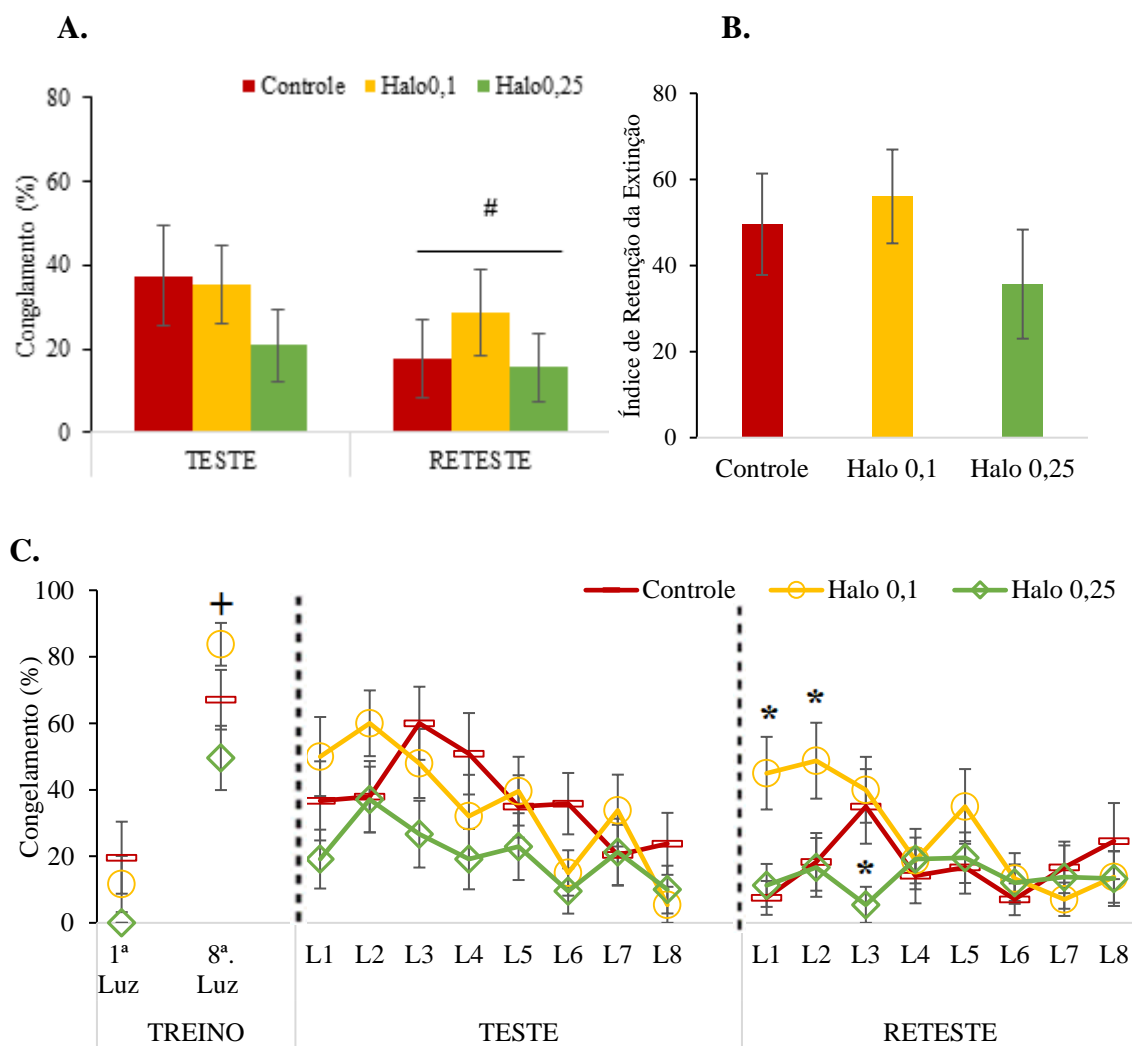
**Figura 12.** Efeitos da administração de sulpirida sobre a expressão e extinção da resposta de congelamento no protocolo de condicionamento aversivo à luz. A) Porcentagem média de congelamento, em relação ao tempo total de apresentação de luz durante a sessão, de animais tratados com sulpirida nas doses 20 e 40 mg/kg ou veículo (Controle) e submetidos ao Teste e ao Reteste no protocolo de condicionamento aversivo à luz. B) FEI - Índice de retenção da extinção do medo condicionado nos mesmos ratos (% congelamento exibido durante a porção final da sessão treino - % congelamento exibido durante a sessão de reteste). C) Porcentagem média de congelamento, em relação aos 20 segundos de cada apresentação do estímulo luz nas fases de treino, teste e reteste. \*  $p < 0,05$ : diferente do grupo Controle na mesma sessão; #  $p < 0,05$ : diferente do respectivo grupo na sessão Teste; +  $p < 0,05$ : diferente do início do treino (1ª. Luz). Média  $\pm$  EPM. ANOVA seguida pelo teste de Newman Keuls.  $n_{Sul20} = 14$ ;  $n_{Sul40} = 12$ ;  $n_{Controle} = 12$ .

#### 4.2.2. Experimento 2B: Efeitos do haloperidol

A Figura 13 apresenta os efeitos da administração de haloperidol sobre a expressão e extinção da resposta de congelamento no protocolo de condicionamento aversivo à luz. Na figura 13A, podem ser observadas as porcentagens médias de congelamento, em relação ao tempo total de apresentação de luz durante as sessões, dos grupos tratados com veículo (Controle) ou haloperidol nas doses de 0,1 (Halo 0,1) ou 0,25 mg/kg (Halo 0,25) e submetidos ao Teste e Reteste, realizados 24 e 48 h após a sessão Treino. A porcentagem de congelamento dos animais nestas sessões foi submetida à ANOVA de duas vias com medidas repetidas que revelou efeito significativo para o fator sessão (Teste × Reteste;  $F_{1,71} = 9,20$ ;  $p < 0,05$ ), mas não para o fator tratamento (Controle × Halo 0,1 × Halo 0,25;  $F_{2,33} = 2,28$ ;  $p > 0,05$ ) ou para interação entre os fatores (tratamento × sessão;  $F_{2,71} = 1,25$ ;  $p > 0,05$ ). O teste *post hoc* de Newman-Keuls apontou diminuição significativa do congelamento no Reteste em relação ao Teste ( $p < 0,05$ ).

Na Figura 13B podem ser observados os índices de retenção da extinção dos grupos tratados com veículo (Controle) ou haloperidol nas doses de 0,1 (Halo 0,1) ou 0,25 mg/kg (Halo 0,25). A ANOVA de uma via não revelou efeito significativo para os tratamentos (Controle × Halo 0,1 × Halo 0,25;  $F_{2,33} = 0,78$ ;  $p > 0,05$ ). Na figura 13C, estão representadas as porcentagens médias de congelamento por grupo em relação a blocos de 20 segundos, correspondentes a cada apresentação de luz, durante o início e final do Treino, o Teste e o Reteste. Para o Treino, a ANOVA de duas vias com medidas repetidas revelou efeito significativo para o fator bloco (1<sup>a</sup>. Luz × 8<sup>a</sup>. Luz;  $F_{1,71} = 70,38$ ;  $p < 0,05$ ) e para tratamento (Controle × Halo 0,1 × Halo 0,25;  $F_{2,33} = 4,43$ ;  $p < 0,05$ ), mas não interação significativa entre os fatores (tratamento × bloco;  $F_{2,71} = 1,37$ ;  $p > 0,05$ ). O teste *post hoc* de Newman-Keuls indicou aumento do congelamento ao final do treino em relação ao congelamento observado antes do pareamento da luz com choques ( $p < 0,05$ ). Para o Teste, a ANOVA de duas vias com medidas repetidas revelou efeito significativo para o fator bloco (L1 × L2 × L3 × L4 × L5 × L6 × L7 × L8;  $F_{7,287} = 5,78$ ;  $p < 0,05$ ), mas não para tratamento (Controle × Halo 0,1 × Halo 0,25;  $F_{2,231} = 2,14$ ;  $p > 0,05$ ) ou para interação entre os fatores (tratamento × bloco;  $F_{14,287} = 1,48$ ;  $p > 0,05$ ). O teste *post hoc* de Newman-Keuls indicou diferença do congelamento ao longo dos blocos ( $p < 0,05$ ), mas independente do tratamento utilizado. Para o Reteste, a ANOVA de duas vias com medidas repetidas revelou efeito significativo para o fator bloco (L1 × L2 × L3 × L4 ×

L5 × L6 × L7 × L8;  $F_{7,287} = 2,52$ ;  $p < 0,05$ ) e para interação entre os fatores (tratamento × bloco;  $F_{14,287} = 2,63$ ;  $p < 0,05$ ), mas não para tratamento (Controle × Halo 0,1 × Halo 0,25;  $F_{2,231} = 1,71$ ;  $p > 0,05$ ). O teste *post hoc* de Newman-Keuls indicou aumento significativo do congelamento do grupo Halo 0,1 em relação ao grupo Controle nas duas primeiras apresentações de luz do reteste e diminuição do grupo Halo 0,25 em relação ao grupo Controle na terceira apresentação de luz ( $p < 0,05$ ).



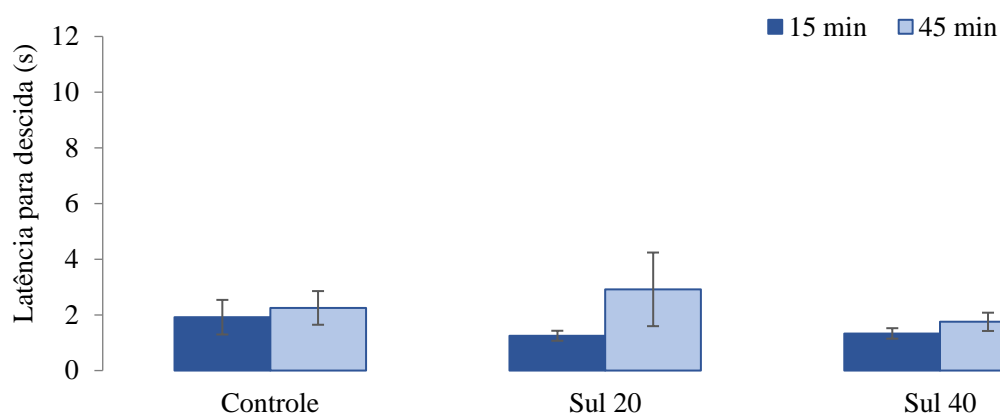
**Figura 13.** Efeitos da administração de haloperidol sobre a expressão e extinção da resposta de congelamento no protocolo de condicionamento aversivo à luz. A) Porcentagem média de congelamento, em relação ao tempo total de apresentação de luz durante a sessão, de animais tratados com haloperidol nas doses 0,1 e 0,25 mg/kg ou veículo (Controle) e submetidos ao Teste e Reteste no protocolo de condicionamento aversivo à luz. B) FEI - Índice de retenção da extinção do medo condicionado nos mesmos ratos (% congelamento exibido durante a porção final da sessão treino - % congelamento exibido durante a sessão de reteste). C) Porcentagem média de congelamento, em relação aos 20 segundos de cada apresentação do estímulo luz nas fases de treino, teste e reteste. #  $p < 0,05$ : diferente da sessão Teste; +  $p < 0,05$ : diferente do início do treino (1ª. Luz); \*  $p < 0,05$ : diferente do grupo Controle no mesmo bloco. Média  $\pm$  EPM. ANOVA seguida pelo teste de Newman Keuls.  $n = 12$  por grupo.



### 4.3. Experimento 3: Controle dos efeitos motores

#### 4.3.1. Experimento 3A: Efeitos da sulpirida

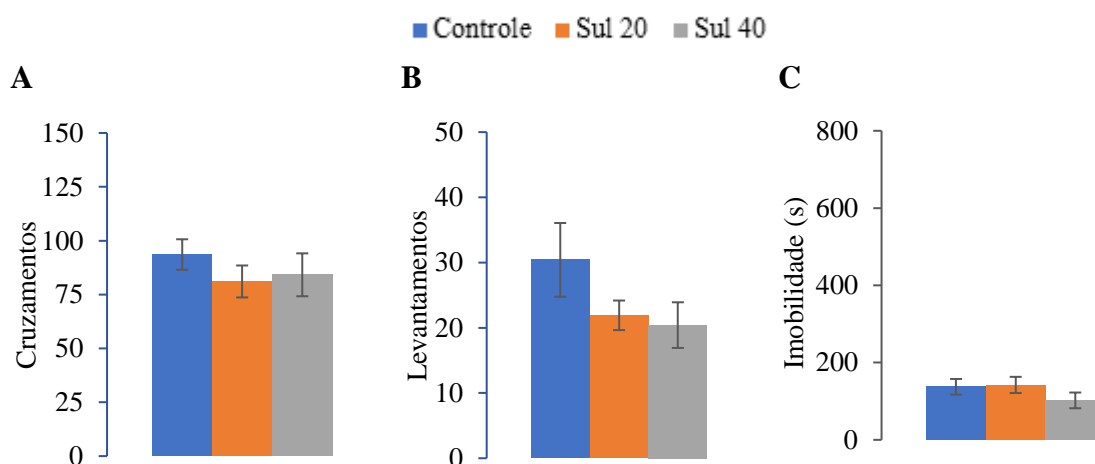
A Figura 14 apresenta os efeitos da administração de sulpirida sobre a latência para descer da barra no teste de Catalepsia. Nela, estão contidas as médias do tempo, em segundos, dos grupos tratados com veículo (Controle) ou sulpirida nas doses de 20 (Sul 20) ou 40 mg/kg (Sul 40) e submetidos ao teste 15 e 45 min após a administração das drogas. As médias da latência para descer da barra dos animais nestas sessões foram submetidas à ANOVA de duas vias com medidas repetidas que não revelou efeito significativo para os fatores tratamento (Controle  $\times$  Sul 20  $\times$  Sul 40;  $F_{2,33} = 0,36$ ;  $p > 0,05$ ) ou tempo (15  $\times$  45 min;  $F_{1,71} = 2,83$ ;  $p > 0,05$ ). Também não houve interação significativa entre os fatores (tratamento  $\times$  tempo;  $F_{2,71} = 0,81$ ;  $p > 0,05$ ).



**Figura 14.** Média da latência para descida da barra no teste de catalepsia de animais tratados com sulpirida nas doses 20 e 40 mg/kg ou veículo (Controle), 15 e 45 min após a administração das drogas. Média  $\pm$  EPM. ANOVA de duas vias com medidas repetidas.  $n = 12$  por grupo.

A Figura 15 apresenta os efeitos motores da administração de sulpirida sobre os cruzamentos, os levantamentos e a imobilidade no teste de Campo Aberto. Na Figura 15A, podem ser observadas as médias do número de cruzamentos totais, na arena, dos grupos tratados com veículo (Controle) ou sulpirida nas doses de 20 (Sul 20) ou 40 mg/kg (Sul 40) e que foram submetidos ao teste do campo aberto, realizado entre o primeiro e o segundo períodos do teste de catalepsia, com 15 minutos de duração. A ANOVA de uma

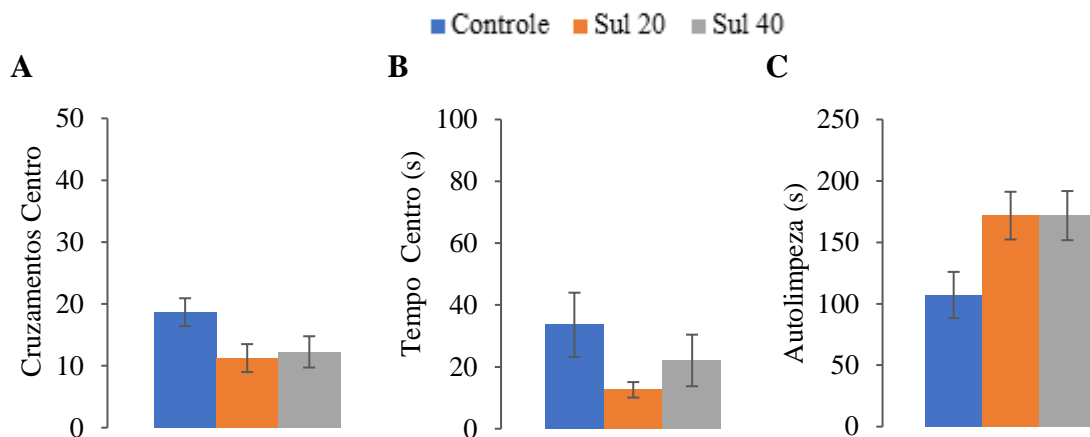
via não revelou efeito significativo para os tratamentos (Controle  $\times$  Sul 20  $\times$  Sul 40;  $F_{2,33} = 0,62$ ;  $p > 0,05$ ). Na Figura 15B, são apresentadas as médias do número de levantamentos na arena dos mesmos grupos. A ANOVA de uma via não indicou efeito significativo para os tratamentos (Controle  $\times$  Sul 20  $\times$  Sul 40;  $F_{2,33} = 1,77$ ;  $p > 0,05$ ). Na Figura 15C, são apresentadas as médias de tempo, em segundos, de imobilidade, na arena, dos mesmos grupos. A ANOVA de uma via também não apontou diferença estatística para os tratamentos (Controle  $\times$  Sul 20  $\times$  Sul 40;  $F_{2,33} = 1,13$ ;  $p > 0,05$ ).



**Figura 15.** Média do total de cruzamentos (A) e levantamentos (B), e tempo de imobilidade (C) apresentados por animais tratados com sulpirida nas doses 20 e 40 mg/kg ou veículo (Controle) e submetidos ao Teste do Campo Aberto. Média  $\pm$  EPM. ANOVA de uma via.  $n = 12$  por grupo.

A Figura 16 apresenta os efeitos da administração de sulpirida sobre o medo incondicionado avaliado no teste do campo aberto (exploração do centro do aparato) e sobre a resposta de autolimpeza. Na Figura 16A, podem ser observadas as médias de cruzamentos no centro dos grupos tratados com veículo (Controle) ou sulpirida nas doses de 20 (Sul 20) ou 40 mg/kg (Sul 40) e submetidos ao teste campo aberto. A ANOVA de uma via não revelou efeito significativo para os tratamentos (Controle  $\times$  Sul 20  $\times$  Sul 40;  $F_{2,33} = 2,93$ ;  $p > 0,05$ ). Na Figura 16B, a média do tempo, em segundos, de permanência no centro da arena foi submetida à ANOVA de uma via que também não indicou efeito significativo para os tratamentos (Controle  $\times$  Sul 20  $\times$  Sul 40;  $F_{2,33} = 1,80$ ;  $p > 0,05$ ). Já, na Figura 16C, estão demonstradas as médias do tempo, em segundos, de autolimpeza,

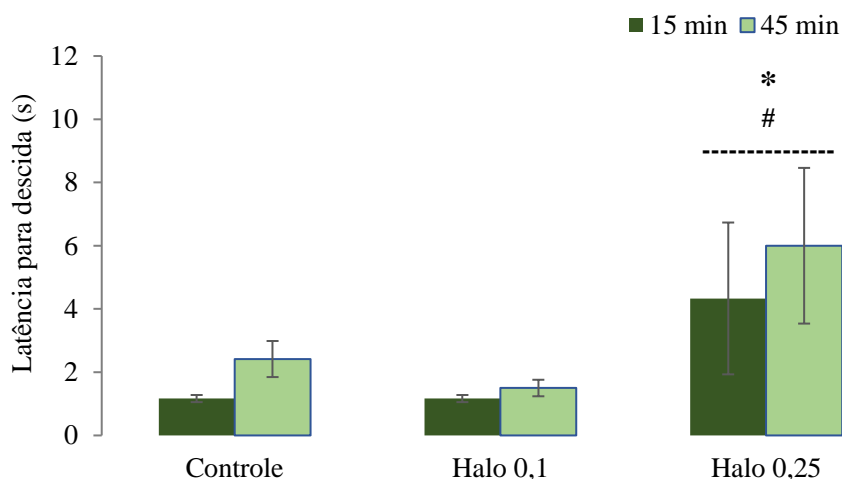
na arena, dos mesmos grupos. A ANOVA indicou diferença estatística para tratamentos (Controle  $\times$  Sul 20  $\times$  Sul 40;  $F_{2,33} = 3,69$ ;  $p < 0,05$ ). No entanto, o teste *post hoc* de Newman-Keuls, não apontou diferença significativa entre os grupos ( $p > 0,05$ ).



**Figura 16.** Média de cruzamentos no centro (A) e do tempo de permanência no centro (B) de animais tratados com sulpirida nas doses 20 e 40 mg/kg ou veículo (Controle) e submetidos ao Teste do Campo Aberto. C) Média do tempo de autolimpeza dos mesmos animais. Média  $\pm$  EPM. ANOVA de uma via.  $n = 12$  por grupo.

#### 4.3.2. Experimento 3B: Efeitos do haloperidol

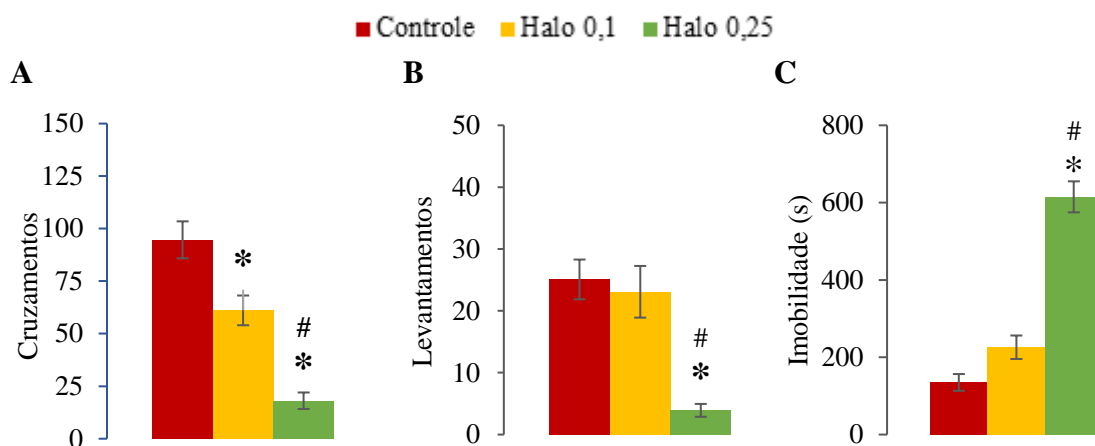
A Figura 17 apresenta os efeitos da administração de haloperidol sobre a latência para descer da barra no teste de Catalepsia. Estão apresentadas nesta figura as médias do tempo, em segundos, dos grupos tratados com veículo (Controle) ou haloperidol nas doses de 0,1 (Halo 0,1) ou 0,25 mg/kg (Halo 0,25) e submetidos ao teste 15 e 45 min após a administração das drogas. As médias da latência para descer da barra nestas sessões foram submetidas à ANOVA de duas vias com medidas repetidas que revelou efeito significativo para o fator tratamento (Controle  $\times$  Halo 0,1  $\times$  Halo 0,25;  $F_{2,33} = 3,61$ ;  $p < 0,05$ ), mas não para o fator tempo (15  $\times$  45min;  $F_{1,71} = 1,07$ ;  $p > 0,05$ ) ou interação significativa entre os fatores (tratamento  $\times$  tempo;  $F_{2,71} = 0,14$ ;  $p > 0,05$ ). O teste *post hoc* de Newman-Keuls apontou aumento significativo na latência para descida da barra, do grupo Halo 0,25 em relação ao grupo Controle e ao grupo Halo 0,1 ( $p < 0,05$ ).



**Figura 17.** Média da latência para descida da barra no teste de catalepsia dos animais tratados com haloperidol nas doses 0,1 e 0,25 mg/kg ou veículo (Controle), 15 e 45 min após a administração das drogas. \*  $p < 0,05$ : diferença entre os grupos Halo 0,25 e Controle; #  $p < 0,05$ : diferença entre os grupos Halo 0,25 e Halo 0,1. Média  $\pm$  EPM. ANOVA de duas vias com medidas repetidas seguida pelo teste de Newman Keuls.  $n = 12$  por grupo.

A Figura 18 apresenta os efeitos motores da administração de haloperidol sobre os cruzamentos, os levantamentos e a imobilidade no teste Campo Aberto. Na Figura 18A, podem ser avaliadas as médias do número de cruzamentos totais, na arena, dos grupos tratados com veículo (Controle) ou haloperidol nas doses de 0,1 (Halo 0,1) ou 0,25 mg/kg (Halo 0,25) e que foram submetidos ao teste do campo aberto, realizado entre o primeiro e o segundo períodos do teste de catalepsia. A ANOVA de uma via revelou efeito significativo para os tratamentos (Controle  $\times$  Halo 0,1  $\times$  Halo 0,25;  $F_{2,33} = 30,91$ ;  $p < 0,05$ ). O teste *post hoc* de Newman-Keuls indicou diminuição significativa dos cruzamentos totais dos grupos Halo 0,1 e Halo 0,25 em relação ao grupo Controle ( $p < 0,05$ ) e diminuição também significativa de Halo 0,25 em relação ao Halo 0,1 ( $p < 0,05$ ). Na Figura 18B, podem ser observadas as médias do número de levantamentos na arena dos mesmos grupos. A ANOVA de uma via também mostrou efeito significativo para os tratamentos (Controle  $\times$  Halo 0,1  $\times$  Halo 0,25;  $F_{2,33} = 14,18$ ;  $p < 0,05$ ). O teste *post hoc* de Newman-Keuls sinalizou diminuição significativa dos levantamentos do grupo Halo 0,25 em relação aos grupos Controle e Halo 0,1 ( $p < 0,05$ ). Na Figura 18C, podem ser analisadas as médias do tempo, em segundos, de imobilidade dos ratos, na arena, dos mesmos grupos. A ANOVA de uma via mais uma vez revelou efeito significativo para

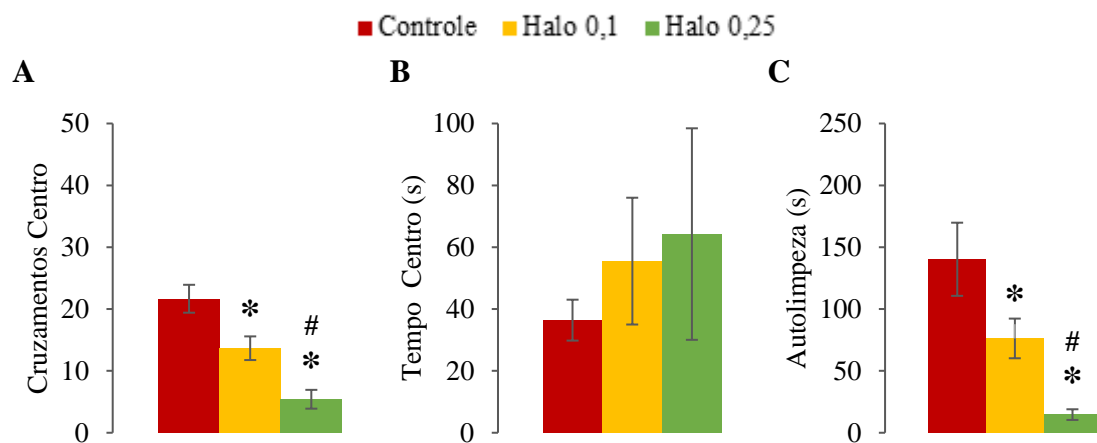
os tratamentos (Controle  $\times$  Halo 0,1  $\times$  Halo 0,25;  $F_{2,33} = 64,99$ ;  $p < 0,05$ ). O teste *post hoc* de Newman-Keuls indicou aumento significativo da imobilidade do grupo Halo 0,25 em relação aos grupos Controle e Halo 0,1 ( $p < 0,05$ ).



**Figura 18.** Média do total de cruzamentos (A), levantamentos (B) e tempo de imobilidade (C) apresentados por animais tratados com haloperidol nas doses 0,1 e 0,25 mg/kg ou veículo (Controle) e submetidos ao Teste do Campo Aberto. \*  $p < 0,05$ : diferença em relação ao grupo Controle; #  $p < 0,05$ : diferença em relação ao grupo Halo 0,1. Média  $\pm$  EPM. ANOVA de uma via seguida por Newman-Keuls.  $n = 12$  por grupo.

A Figura 19 apresenta os efeitos da administração de haloperidol sobre o medo incondicionado avaliado no teste do campo aberto (exploração do centro do aparato) e sobre a resposta de autolimpeza. Na Figura 19A, podem ser observadas as médias de cruzamentos no centro dos grupos tratados com veículo (Controle) ou haloperidol nas doses de 0,1 (Halo 0,1) ou 0,25 mg/kg (Halo 0,25) e submetidos ao Teste do Campo Aberto. A ANOVA de uma via mostrou efeito significativo dos tratamentos (Controle  $\times$  Halo 0,1  $\times$  Halo 0,25;  $F_{2,33} = 15,04$ ;  $p < 0,05$ ). O teste *post hoc* de Newman-Keuls revelou diminuição significativa dos cruzamentos no centro dos grupos Halo 0,1 e Halo 0,25 em relação ao grupo Controle ( $p < 0,05$ ) e diminuição também significativa do Halo 0,25 em relação ao Halo 0,1 ( $p < 0,05$ ). Na figura 19B, a média do tempo, em segundos, de permanência no centro da arena foi submetida à ANOVA de uma via que não mostrou efeito significativo para os tratamentos (Controle  $\times$  Halo 0,1  $\times$  Halo 0,25;  $F_{2,33} = 0,37$ ;  $p$

> 0,05). Já na Figura 19C, podem ser verificadas as médias do tempo, em segundos, de autolimpeza, na arena, dos mesmos grupos. A ANOVA evidenciou efeito significativo dos tratamentos (Controle  $\times$  Halo 0,1  $\times$  Halo 0,25;  $F_{2,33} = 10,29$ ;  $p < 0,05$ ). O teste *post hoc* de Newman-Keuls indicou diminuição significativa da autolimpeza dos grupos Halo 0,1 e Halo 0,25 em relação ao grupo Controle ( $p < 0,05$ ) e diminuição também significativa do Halo 0,25 em relação a Halo 0,1 ( $p < 0,05$ ).



**Figura 19.** Média de cruzamento no centro (A) e do tempo de permanência no centro (B) de animais tratados com haloperidol nas doses 0,1 e 0,25 mg/kg ou veículo (Controle) e submetidos ao Teste do Campo Aberto. C) Média do tempo de autolimpeza dos mesmos animais. \*  $p < 0,05$ : diferença em relação ao grupo Controle; #  $p < 0,05$ : diferença em relação ao grupo Halo 0,1. Média  $\pm$  EPM. ANOVA de uma via seguida por Newman-Keuls.  $n = 12$  por grupo.

## 5. DISCUSSÃO

A capacidade de reconhecer e reagir apropriadamente a estímulos de valência negativa é crítica para a sobrevivência e para a saúde mental, podendo encontrar-se disfuncional em psicopatologias como os transtornos de ansiedade e o transtorno obsessivo-compulsivo. Nesse sentido, o presente estudo teve por objetivo ampliar a avaliação dos efeitos do bloqueio dos receptores dopaminérgicos D2 em ratos na expressão e extinção do medo condicionado ao contexto e à luz. Examinamos os efeitos dos antagonistas D2 sulpirida e haloperidol, em diferentes doses. Reproduzimos os achados anteriores para a sulpirida em relação à diminuição da expressão da resposta de congelamento condicionado ao contexto e à luz (DE OLIVEIRA et al., 2013; DE SOUZA CAETANO et al., 2013). Efeitos similares para o haloperidol também foram demonstrados, ainda que estes não tenham se apresentado de forma estatisticamente significativa. Os efeitos da sulpirida sobre a resposta de congelamento não parecem estar relacionados à ação inespecífica da droga sobre a motricidade, uma vez que a mesma não afetou o desempenho dos animais nos testes de catalepsia ou do campo aberto. Por outro lado, o principal efeito observado para o haloperidol foi o prejuízo motor, com indução de catalepsia e diminuição da atividade dos animais no campo aberto, principalmente para a maior dose utilizada. Além disso, em relação aos efeitos dos antagonistas D2 sobre a retenção da extinção do medo condicionado, mostramos que sulpirida e haloperidol, nas duas doses e nos dois protocolos experimentais utilizados, não mostraram efeitos significativos. De maneira geral, o presente estudo reforça a ideia de um importante envolvimento de receptores D2 na expressão do medo condicionado.

Com intuito de garantir que os protocolos de medo condicionado foram utilizados adequadamente no presente estudo, além das análises gerais, realizamos também uma análise temporal de cada uma das etapas dos experimentos – de dois em dois minutos para o medo condicionado ao contexto e para cada apresentação de luz (20 s) no caso do medo condicionado à luz. Na fase de treino, para todos os experimentos envolvendo medo condicionado, observa-se um aumento considerável da porcentagem de respostas de congelamento dos ratos ao se comparar o início e o final da sessão. Isto indica que realmente os estímulos inicialmente neutros (contexto e luz) foram emparelhados com o estímulo incondicionado (choque) e se tornaram estímulos aversivos condicionados. Na fase inicial do teste, os grupos controle (que receberam apenas veículo) de todos os

experimentos apresentaram resposta de congelamento maior do que aquela apresentada no início do treino, fornecendo mais uma evidência da ocorrência de aprendizagem durante o treino e, ainda, de que houve consolidação da memória da relação CS-US. Além disso, os resultados encontrados para os grupos controle ao longo do teste mostram uma tendência de diminuição do congelamento, indicando aprendizagem de extinção, ou seja, de que o CS não mais é associado à apresentação do US na fase final do experimento. Já os resultados do reteste permitem concluir que nosso protocolo garantiu também a retenção da extinção, uma vez que os animais dos grupos controle apresentam congelamento nessa etapa semelhante àquela apresentado no final do teste. Dessa forma, demonstramos que os protocolos utilizados são válidos para o estudo da expressão e extinção do medo condicionado ao contexto e à luz (BOLLES & COLLIER, 1976; DE OLIVEIRA et al., 2006; DE SOUZA CAETANO et al., 2013; REIMER et al., 2018).

Embora os sistemas dopaminérgicos sejam mais comumente associados aos efeitos reforçadores de diversos estímulos (BECKSTEAD et al., 1979; VOLKOW et al., 2002; IKEMOTO & WISE, 2004; XAVIER et al., 2005; BEYELER et al., 2016), numerosos estudos também têm demonstrado que esses mesmos sistemas parecem estar relacionados a estados de medo/ansiedade (COCO et al., 1992; NADER & LEDOUX, 1999; PEZZE & FELDON, 2004; FADOK et al., 2009; ZWEIFEL et al., 2011). Os resultados aqui relatados fornecem mais uma evidência de que a neurotransmissão dopaminérgica está envolvida na expressão do medo condicionado utilizando o contexto ou uma luz como estímulos condicionados e choques nas patas com estímulos incondicionados aversivos. Além do mais, esses mesmos resultados também indicam que os receptores D2 desempenham um importante papel na expressão do medo condicionado, o que está de acordo com estudos anteriores (DE OLIVEIRA et al., 2006, 2009, 2011; DE SOUZA CAETANO et al., 2013).

As doses de sulpirida aqui utilizadas foram selecionadas com base em estudos anteriores (DE OLIVEIRA et al., 2006, 2013; DE SOUZA CAETANO et al., 2013). Doses maiores de sulpirida não foram utilizadas, uma vez que elevadas doses podem afetar a atividade motora e causar comportamentos estereotipados (KURASHIMA et al., 1995; STUHLIK et al., 2007; COLOMBO et al. 2013). Ao utilizar doses de 10, 20 e 40 mg/kg de sulpirida, em um experimento que aborda a expressão do medo condicionado ao contexto (DE SOUZA CAETANO et al., 2013), a única dose que diminuiu significativamente a resposta de congelamento foi a de 40 mg/kg. No experimento do



medo condicionado ao contexto, deste estudo, as duas doses utilizadas de sulpirida – 20 e 40 mg/kg – geraram efeito significativo na diminuição da expressão do congelamento condicionado no teste. Este resultado está condizente com o modo de ação bimodal da sulpirida nos neurônios localizados na via mesolímbica. A sulpirida pode atuar seletivamente nos receptores D2 pós-sinápticos localizados na amígdala e núcleo accumbens, por exemplo, bloqueando e diminuindo a ação dopaminérgica nos neurônios (DE OLIVEIRA et al., 2011; DE SOUZA CAETANO et al., 2013; PIRI et al., 2013); bem como, nos autoreceptores pré-sinápticos da área tegmental ventral, cujo bloqueio diminui o controle sobre a liberação de dopamina, aumentando consequentemente a concentração desse neurotransmissor na fenda sináptica (DE OLIVEIRA et al., 2011; DE SOUZA CAETANO et al., 2013; PIRI et al., 2013). No presente estudo, as duas doses de sulpirida utilizadas diminuíram a resposta de congelamento, sugerindo um efeito sobre receptores D2 pós-sinápticos da amígdala basolateral, uma vez que a administração local da sulpirida nesta região também é capaz de diminuir a expressão do medo condicionado (DE SOUZA CAETANO et al., 2013).

Já em um estudo realizado, a respeito do medo condicionado à luz, foi demonstrado que as doses de 20 e 40 mg/kg de sulpirida não foram capazes de diminuir significativamente a expressão do congelamento condicionado, mas diminuíram a expressão do medo condicionado avaliado por meio da resposta de sobressalto (DE OLIVEIRA et al., 2006). Já em outro estudo, no qual o congelamento foi avaliado independentemente de qualquer outra resposta defensiva, a dose de sulpirida de 40 mg/kg levou a uma redução significativa no tempo de respostas de congelamento (DE OLIVEIRA et al., 2013). No experimento do condicionamento do medo à luz realizado no presente estudo, houve uma redução significativa para ambas as doses utilizadas, tendo a menor dose de sulpirida causado, entretanto, uma diminuição mais pronunciada do congelamento. Mais uma vez os resultados apontam para uma ação da sulpirida em receptores D2 pós-sinápticos, provavelmente da amígdala basolateral (DE OLIVEIRA et al., 2011).

Com isso, observa-se que tanto os dados do condicionamento aversivo ao contexto quanto a luz, com administração de sulpirida, sugerem, de maneira geral, a participação fundamental da neurotransmissão dopaminérgica na expressão do medo condicionado, mesmo que os resultados obtidos, em função das doses, neste estudo, diverjam um pouco nas comparações dos resultados de outros estudos e entre os próprios experimentos

(contexto e luz). Essas divergências podem ser justificadas pelo uso de manipulações farmacológicas e de paradigmas distintos, entre os estudos; e na utilização de estímulos condicionados aversivos diferentes, nos experimentos deste estudo. De fato, utilizar, nos experimentos, estímulos condicionados aversivos diferentes é favorecer para que ocorra um efeito também diferencial nas várias regiões do encéfalo (ALBRECHET-SOUZA et al., 2011; DE SOUZA CAETANO et al., 2013). Ou seja, apesar de tanto o medo condicionado ao contexto quanto à luz requererem a participação da neurotransmissão dopaminérgica na amígdala (DE OLIVEIRA et al., 2011; DE SOUZA CAETANO et al., 2013), o medo condicionado ao contexto está mais relacionado possivelmente a um modelo de ansiedade que exige regiões específicas do encéfalo para produzir os sintomas característicos de tal emoção, como o hipocampo, por exemplo (ALBRECHET-SOUZA et al., 2011). O medo condicionado à luz está mais associado ao modelo de medo com envolvimento da amígdala, apenas (ALBRECHET-SOUZA et al., 2011). Então, tais experimentos podem proporcionar um melhor entendimento das raízes biológicas dos transtornos psiquiátricos associados ao medo e à ansiedade (DAVIS, 1992).

No presente estudo, também avaliamos aspectos relacionados à extinção do medo condicionado ao contexto e à luz. Pudemos observar diminuição significativa da resposta de congelamento dos grupos Controle ao longo das fases de teste e reteste. A atividade dopaminérgica também parece desempenhar um papel importante na extinção (PONNUSAMY et al., 2005; HOLTZMAN-ASSIF & LAURENT, 2010; ABRAHAM et al., 2014; YAN-WEI SHI et al., 2017), uma vez que já foi demonstrada a diminuição das respostas dos neurônios dopaminérgicos do mesencéfalo com a apresentação repetida de estímulos condicionados aversivos (RESCORLA, 2001; ABRAHAM et al., 2014).

Em um estudo anterior, foi utilizada sulpirida sistêmica para verificar o papel dos receptores D2 na extinção do medo condicionado ao som (PONNUSAMY et al., 2005). Tais autores utilizaram as mesmas doses de sulpirida, mas em camundongos, em vez de ratos. Os resultados encontrados indicam que a sulpirida facilitou a extinção condicionada. No presente estudo, no que se refere ao grupo experimental sulpirida, é possível observar a diminuição do congelamento ao longo da sessão teste, o que poderia indicar diminuição da expressão ou aumento da extinção do medo. Acreditamos tratar-se de diminuição da expressão, pois tal redução do congelamento se dá desde o início do teste e não se mantém durante o reteste. Sobre esses dois estudos, observa-se que os estímulos condicionados são diferentes e, além do mais, as espécies de roedores também

são diferentes, o que pode acarretar conseqüentemente resultados também distintos. Em outro estudo, em que foi administrada a racloprida (que possui maior especificidade e é mais potente em antagonizar os receptores D2) na área infralímbica, foi demonstrado que o bloqueio do receptor dopaminérgico D2 dificultou a consolidação da extinção do medo (MUELLER et al., 2010). Já, em um experimento mais recente, a infusão de quimpirole e sulpirida facilitou a extinção do medo contextual e prejudicou a extinção do medo condicionado ao som, respectivamente (YAN-WEI SHI et al., 2017). No experimento da sulpirida, em que fora empregado o medo condicionado à luz poderia, portanto, ser esperado prejuízo significativo da extinção do medo condicionado de tal forma como fora encontrado nos artigos anteriores, por utilizarem estímulos condicionados unimodais (som e luz). De fato, houve uma variação não significativa da média do tempo das respostas de congelamento, na fase reteste, para a menor dose de sulpirida, o que poderia indicar um possível facilitação, em vez de prejuízo, na extinção do medo condicionado à luz. Entretanto, quando analisada com mais profundidade a questão da extinção do medo condicionado através do cálculo do índice de retenção da extinção (REIMER et al., 2018), os resultados para as doses de sulpirida nos dois protocolos não apontam para diferença estatística com seus respectivos controles. De maneira geral, a ausência de efeito na retenção da extinção do medo condicionado ao contexto e à luz, com a administração de sulpirida intraperitoneal no presente trabalho, não parece estar em desconformidade com os achados dos artigos anteriores, mas indica que mais estudos se fazem necessários.

A respeito das doses de haloperidol utilizadas nos experimentos do medo condicionado, elas foram baseadas em um experimento em que foram avaliadas as emissões de vocalizações ultrassônicas, em ratos, com a administração intraperitoneal de haloperidol nas doses de 0,5 e 1,0 mg/kg, em vários tempos de espera para o efeito da droga (15, 30, 45 e 60 min) (COLOMBO et al., 2013). A dose que induziu menor catalepsia nesse experimento foi a de 0,5 mg/kg, quando eram esperados apenas 15 minutos para submeter os animais aos testes comportamentais. Levando em consideração esse experimento e, a fim de adequar as doses de haloperidol na tentativa de não comprometer a atividade motora dos ratos no presente estudo, foram propostas e aqui administradas intraperitonealmente as doses de haloperidol de 0,1 e 0,25 mg/kg, com tempo de espera também de 15 minutos, nos dois experimentos realizados.

Os resultados do medo condicionado ao contexto e à luz mostraram uma tendência em diminuir a expressão do medo condicionado pelo haloperidol, mas de forma não

significativa. Além disso, observamos comprometimento motor, mesmo diminuindo as doses de haloperidol. Em um artigo, no qual utilizou-se o paradigma de sobressalto potencializado à luz e administrou-se intraperitonealmente haloperidol em 3 doses diferentes (0,065, 0,125 e 0,25 mg/kg), observa-se, em comparação ao grupo controle, diminuição direta da amplitude média do sobressalto ao aumentar a dose do fármaco (HIJZEN et al, 1995). Neste mesmo artigo, não foram relatados testes controles necessários para averiguar os efeitos motores extrapiramidais das doses de haloperidol, como fora feito neste estudo, o que pode gerar dúvidas com relação a esses dados encontrados, principalmente para a maior dose de haloperidol administrada (HIJZEN et al, 1995).

Nossos resultados referentes ao haloperidol mostraram que, de forma parecida com os dados da sulpirida, há realmente uma tendência em diminuir a expressão do medo condicionado, mas o comprometimento motor foi bastante significativo, mesmo diminuindo as doses. O modo de ação do haloperidol se dá geralmente pelo bloqueio de receptores D2 pós-sinápticos, onde o haloperidol bloqueia a ligação da dopamina, impedindo assim a transmissão dopaminérgica (MARGONATO et. al., 2004; STANDAERT & GALANTER, 2008). O bloqueio dos receptores D2 nas terminações da via mesolímbica pode ter sido responsável pela tendência de diminuição da expressão do medo condicionado ao contexto e à luz observada em nosso estudo. Entretanto, os efeitos motores extrapiramidais do haloperidol parecem ter sido os mais proeminentes, justificando-se provavelmente pela alta afinidade existente entre esse fármaco e os receptores D2 da via nigroestriatal.

Em um estudo utilizando a amisulprida, um neuroléptico atípico, com grande semelhança à sulpirida, mostrou-se uma característica importante dessa droga que é a seletividade límbica, isto é, uma seletividade maior para as projeções límbicas do que para as projeções estriatais (SCHOEMAKER et al., 1997). Já, o haloperidol, diferentemente, apresenta efeitos mais pronunciados nos receptores de dopamina nos tecidos das regiões do estriado (SCHOEMAKER et al., 1997). Portanto, tais especificidades de afinidade podem justificar porque a sulpirida teve um efeito mais significativo na expressão do medo condicionado e o porquê do haloperidol ter tido mais efeitos nas funções motoras, de maneira geral ao longo dos nossos experimentos.

No que se refere à extinção, um estudo mostrou que, ao administrar haloperidol sistemicamente nas doses de 0,05, 0,1 e 1 mg/kg, utilizando-se condicionamento aversivo

ao som, prejudicou-se a extinção do medo condicionado principalmente com as maiores doses (HOLTZMAN-ASSIF & LAURENT, 2010). No experimento, utilizando o medo condicionado ao contexto, realizado no presente trabalho, ao utilizar haloperidol sistêmico nas doses de 0,1 e 0,25 mg/kg, não foram encontrados resultados significativos que mostrassem que o haloperidol prejudicasse, como no artigo anterior (HOLTZMAN-ASSIF & LAURENT, 2010), a extinção do medo condicionado. Entretanto, um pequeno aumento, não estatisticamente significativo, pode ser observado para o congelamento do grupo haloperidol 0,25 mg/kg no reteste, mas foi demonstrado nos testes controles que tal dose parece comprometer as atividades motoras dos ratos.

No experimento associado ao condicionamento do medo à luz, observa-se que a característica do estímulo condicionado é unimodal (luz), tal como no estudo relatado anteriormente (som) (HOLTZMAN-ASSIF & LAURENT, 2010). Este dado contribui com a hipótese feita em outros estudos, relacionando os estímulos condicionados unimodais (modelos de medo) com a região do hipocampo ventral, entre outras (BLANCHARD & BLANCHARD, 1972; ALBRECHET-SOUZA et al., 2011; DE SOUZA CAETANO et al., 2013). Com isso, comparando o resultado encontrado no experimento do condicionamento aversivo à luz, deste estudo, com o estudo relacionado ao som (HOLTZMAN-ASSIF & LAURENT, 2010), observa-se que houve um pequeno aumento do congelamento na menor dose de haloperidol, não estatisticamente significativo, mas que pode ser justificado, parecido com os estudos com estímulo condicionado, som, em que houve uma tendência em prejudicar a extinção do medo. Da mesma maneira como foram feitas as análises da retenção da extinção do medo condicionado para as doses de sulpirida nos dois protocolos por meio do índice de retenção da extinção, tal estratégia também foi aplicada nos experimentos em que foram administradas as doses de haloperidol para melhor investigar os efeitos do haloperidol sobre a extinção. No medo condicionado ao contexto e à luz, os resultados não indicaram qualquer prejuízo na retenção da extinção do medo condicionado em nosso estudo.

Evidências extensas indicam que a extinção da memória do medo condicionado requer plasticidade tanto no córtex pré-frontal medial quanto na amígdala basolateral (FALLS et al., 1992; QUIRK et al., 2000; AKIRAV & MAROUN, 2007). Outra pesquisa mostrou que o núcleo accumbens pode estar envolvido na codificação dos mecanismos de erro que regulam a aprendizagem inibitória na extinção do medo condicionado (HOLTZMAN-ASSIF & LAURENT, 2010). Outro artigo indicou, ainda, que a

inativação do hipocampo ventral prejudica a expressão e a extinção do medo condicionado ao som (SIERRA-MERCADO et al., 2011). Em um estudo mais recente mostrou-se que a ativação farmacológica dos receptores D1 localizados no estriado dorsal, durante a extinção do medo, não impactou a aquisição ou a memória do medo, mas bloqueou a recuperação do medo em um novo contexto (BOUCHET et al, 2018). Assim, a partir desses dados, também se faz necessária uma investigação mais aprofundada da participação da neurotransmissão dopaminérgica por meio de receptores D2 nessas regiões, no que se refere à extinção do medo condicionado ao contexto e à luz, uma vez que a maior parte dos achados utilizaram o estímulo condicionado som.

Apesar do envolvimento de mecanismos dopaminérgicos no medo condicionado ser relativamente bem estabelecido, o papel da dopamina no medo incondicionado é menos explorado. Nesse sentido, alguns estudos sugerem um efeito pró-aversivo de antagonistas D2 na expressão do medo incondicionado (REIS et al., 2004; DE OLIVEIRA et al., 2014; BRANDÃO et al., 2015). O teste do campo aberto aqui utilizado não é só importante na demonstração da diminuição ou aumento das atividades motoras em roedores (como discutido anteriormente), mas também pode sinalizar se uma determinada droga (ou outro tipo de manipulação) tem efeito pró-aversivo ou antiaversivo, em um protocolo de medo incondicionado (PRUT & BELZUNG, 2003). O aumento do número de cruzamentos na parte central ou do tempo de permanência nessa mesma parte da arena, sem modificação do número de cruzamentos totais e/ou da exploração vertical (levantamentos), pode ser interpretado como efeito antiaversivo, enquanto o contrário pode sinalizar aumento de ansiedade (PRUT & BELZUNG, 2003). No caso da sulpirida, apesar de pequena diminuição na exploração do centro, nenhuma dose teve efeito significativo nessas variáveis analisadas durante o teste do campo aberto. Já, com as duas doses de haloperidol utilizadas, apesar da diminuição significativa do número de cruzamentos no centro, houve também diminuição da exploração da arena como um todo. Então, mais provável do que um efeito do tipo pró-aversivo do haloperidol, observamos o efeito motor desse fármaco no teste do campo aberto.

Em suma, o presente estudo mostrou que ao bloquear os receptores dopaminérgicos da família D2, por meio da sulpirida (e em menor escala por meio do haloperidol), temos efeitos na expressão do medo condicionado. Além do mais, com relação ao emprego de estímulos condicionados aversivos distintos nos procedimentos, foi possível verificar que, apesar de variações sutis nos resultados encontrados, os efeitos

dos fármacos são semelhantes independente do estímulo condicionado utilizado. De acordo com os resultados, o antagonista dopaminérgico sulpirida teve um efeito significativo no bloqueio da expressão do medo condicionado ao contexto e à luz. Neste estudo, a menor dose da sulpirida (20 mg/kg) foi a que apresentou efeito mais pronunciado. Já, a atuação do antagonista dopaminérgico haloperidol apresentou um efeito menos significativo em comparação à sulpirida, provavelmente por conta da sua maior afinidade pelos receptores dopaminérgicos localizados na via nigroestriatal, o que é corroborado pela diminuição significativa da atividade motora dos ratos nos testes de catalepsia e campo aberto. Mesmo assim, nota-se que a atuação do haloperidol também foi maior na expressão do medo, quando o estímulo condicionado aversivo se tratava do contexto. Pelo fato da administração dos fármacos ter sido sistêmica, esses resultados dão indícios importantes de que há necessidade de estudos mais aprofundados sobre o envolvimento da neurotransmissão dopaminérgica em áreas encefálicas relacionadas à expressão e extinção do medo condicionado e o papel dos receptores D2 nessas estruturas. Dessa maneira, poderão ser feitas conclusões mais assertivas a respeito do envolvimento de mecanismos dopaminérgicos nesses processos e como estímulos ambientais, de natureza aversiva e excessiva, poderiam afetar a transmissão dopaminérgica de forma a favorecer o desencadeamento de comportamentos defensivos associados aos Transtornos de Ansiedade.

## 6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente estudo atingiu seu objetivo de ampliar o conhecimento acerca dos efeitos do bloqueio dos receptores dopaminérgicos D2 em ratos na expressão e extinção do medo condicionado ao contexto e à luz. De fato, a administração intraperitoneal de sulpirida favoreceu a diminuição da expressão do medo condicionado. Efeitos similares para o haloperidol também foram demonstrados, ainda que estes não tenham sido apresentados de forma estatisticamente significativa. Os efeitos observados durante o teste parecem realmente estar relacionados à diminuição da expressão do medo condicionado, e não sobre à facilitação da extinção, uma vez que nenhum efeito significativo foi observado em relação à retenção da extinção. Além do mais, os efeitos da sulpirida sobre a resposta de congelamento não parecem estar relacionados à ação inespecífica da droga sobre a motricidade nos ratos, uma vez que não houve alteração dos comportamentos motores avaliados com os testes de catalepsia e do campo aberto. A administração de haloperidol causou prejuízo motor, com indução de catalepsia e diminuição da atividade dos animais no campo aberto. Então, a partir desses dados, sugere-se que:

- Mecanismos dopaminérgicos mediados por D2 estão prioritariamente envolvidos na expressão e não na extinção do medo condicionado;
- Maior ação da sulpirida sobre a via dopaminérgica mesolímbica, enquanto o haloperidol parece atuar preferencialmente sobre a via dopaminérgica nigroestriatal.



## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABRAHAM, A.D.; NEVE, K.A.; LATTAL, K.M. (2014). Dopamine and extinction: A convergence of theory with fear and reward circuitry. **Neurobiology of Learning and Memory**. v. 108, p. 65-77.
- AKIRAV, I.; MAROUN, M. (2007). The Role of the Medial Prefrontal Cortex-Amygdala Circuit in Stress Effects on the Extinction of Fear. **Neural Plasticity**. v. 2007, p. 01-11.
- ALBRECHET-SOUZA, L.; BORELLI, K.G.; ALMADA, R.C.; BRANDÃO, M.L. (2011). Midazolam reduces the selective activation of the rhinal cortex by contextual fear stimuli. : **Behavioural Brain Research**. v. 216, p. 631-638.
- AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION - APA (2014). **DSM-5: Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais**. 5ª. Ed. Porto Alegre: Artmed, p. 992.
- BALDESSARINI, R.J.; TARAZI, F.I. (1996). Brain dopamine receptors: a primer on their current status, basic and clinical. **Harvard Review of Psychiatry**. v. 3, p. 301-325.
- BANDLER, R.; KEAY, K.A.; FLOYD, N.; PRICE, J. (2000). Central circuits patterned autonomic activity during active versus passive emotional coping. **Brain Research**. v. 53, p. 95-104.
- BARROCA, N.; GUARDA, M.; DA SILVA, N.; REIMER, A.; BRANDÃO, M.; DE OLIVEIRA, A.R. (2019). Influence of aversive stimulation on haloperidol-induced catalepsy in rats. **Behavioural Pharmacology**. v.30, p. 229 - 238.
- BECKSTEAD, R.M.; DOMESICK, V.B.; NAUTA, W.J.H. (1979). Efferent connections of the substantia nigra and ventral tegmental area in the rats. **Brain Research**. v. 175, p. 191-217.
- BEYELER, A.; NAMBURI, P.; GLOBER, G.F.; SIMONNET, C.; CALHOON, G.G.; CONYERS, G. F.; SORTE, R.; WILDES, C.P.; TYE, K.M.(2016). Divergent routing of positive and negative information from the amygdala during memory retrieval. **Neuron**. v. 90, p. 348-361.
- BINDRA, D.; ANCHEL, H. (1963). Immobility as an avoidance response, and its disruption by drugs. **Journal of the Experimental Analysis of Behavior**. v. 6, p. 213-218.
- BLANCHARD, D.C.; BLANCHARD R.J. (1972). Innate and conditioned reactions to threat in rats with amygdaloid lesions. **Journal Comparative Physiological Psychology**. v. 81, p. 281-290.
- BOLLES, R.C.; RILLEY, A.L. (1973). Freezing as an avoidance response: Another look at the operant-respondent distinction. **Learning and Motivation**. v. 4, p. 268-275.
- BOLLES, R.C.; COLLIER, A.C. (1976). Effect of predictive cues on freezing in rats. **Animal Learning & Behavior**. v. 4, p. 6-8.

- BOLLES, R. C.; FANSELOW, M. S (1980). A perceptual-defensive-recuperative model of fear and pain. **Behavior Brain Science**. v. 3, p. 291-323.
- BOUCHET, C.A.; MINER, M.A.; LOETZ, E.C.; ROSBERG, A.J.; HAKE, H.S.; FARMER, C.E.; OSTROVSKYY, M.; GRAY, N.; GREENWOOD, B.N. (2018). Activation of nigrostriatal dopamine neurons during fear extinction prevents the renewal of fear. **Neuropsychopharmacology**. v. 43, p. 665-672.
- BRANDÃO, M.L.; BORELLI, K. G.; FERREIRA-NETTO, C. (2005). Neural segregation of fos-protein distribution in the brain following freezing and escape behaviors induced by injections of either glutamate or NMDA into the dorsal periaqueductal gray of rats. **Brain Research**. v. 1031, p. 151-163.
- BRANDÃO, M.L.; DE OLIVEIRA, A.R.; MUTHURAJU, S.; COLOMBO, C.; SAITO, V.M.; TALBOT, T. (2015). Dual role of dopamine D2-like receptors in the mediation of conditioned and unconditioned fear. **FEBS Letters**. v. 589, p. 3433-3437.
- BRANDÃO, M.L.; COIMBRA, N.C. (2018). Understanding the of dopamine in conditioned and unconditioned fear. **Reviews in the Neurosciences**, v. 30, p. 1-13.
- BURGDORF, J.; PANKSEPP, J. (2006). The neurobiology of positive emotions. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**. v. 30, p. 173-187.
- CALLIER, S.; SNAPYAN, M.; CROM, S.; PROU, D.; VICENT, J.; VERNIER, P. (2003). Evolutions and cell biology of dopamine receptors in vertebrates. **Biology of the Cell**. v. 95, p. 489-502.
- COCO, M.L.; KUHN, C.M.; ELY, T.D.; KILTS, C.D. (1992). Selective activation of mesoamygdaloid dopamine neurons by conditioned stress: attenuation by diazepam. **Brain Research**. v. 590, p. 39-47.
- COLOMBO, A.C.; DE OLIVEIRA, A.R.; REIMER, A.E.; BRANDÃO, M.L. (2013). Dopaminergic mechanisms underlying catalepsy, fear and anxiety: do they interact? **Behavioural Brain Research**. v. 257, p. 201-207.
- CRUZ, A.P.M.; E LANDEIRA-FERNANDEZ, J. (2012). Modelos animais de ansiedade e o estudo experimental de drogas serotoninérgicas. Em: J. Landeira-Fernandez e Sérgio Fukusima (org), **Métodos em Neurociência**. São Paulo: Manole, p. 192-217.
- DATLA, K.P.; AHIER, R.G.; YOUNG, A.M.; JOSEPH, M.H. (2001). Conditioned appetitive stimulus increases extracellular dopamine in the nucleus accumbens of the rat, **European Journal Neuroscience**. v. 16, p. 1987-1993.
- DAVIS, M. (1992). The role of the amygdala in fear and anxiety. **Annual Reviews Neuroscience**. v. 15, p. 353-375.
- DE OLIVEIRA, A.R.; REIMER, A.E.; BRANDÃO, M.L. (2006). Dopamine D2 receptor mechanisms in the expression of conditioned fear. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**. v. 84, p. 102-111.
- DE OLIVEIRA, A.R.; REIMER, A.E.; BRANDÃO, M.L. (2009). Role of dopamine receptors in the ventral tegmental area in conditioned fear. **Behavioural Brain Research**, v. 199, p. 271-277.
- DE OLIVEIRA, A.R.; REIMER, A.E.; DE MACEDO, C.E.A.; DE CARVALHO, M.C.; SILVA, M.A.D.S.; BRANDÃO, M.L. (2011). Conditioned fear is modulated by D2

- receptor pathway connecting the ventral tegmental area and basolateral amygdala. **Neurobiology of Learning and Memory**. v. 95, p. 37-45.
- DE OLIVEIRA, A.R.; REIMER, A.E.; REIS, F.M.C.V; BRANDÃO, M.L. (2013). Conditioned fear response is modulated by a combined action of the hypothalamic – pituitary – adrenal axis and dopamine activity in the basolateral amygdala. **European Neuropsychopharmacology**. v. 23, p. 379-389.
- DE OLIVEIRA, A.R.; COLOMBO, A.C.; MUTHURAJU, S.; ALMADA, R.C.; BRANDÃO, M.L. (2014). Dopamine D2-Like Receptors Modulate Unconditioned Fear: Role of the Inferior Colliculus. **Plos One**. v. 9, p. e104228.
- DE OLIVEIRA, A.R.; REIMER, A.E.; REIS, F.M.; BRANDÃO, M.L. (2017). Dopamine D2-like receptors modulate freezing response, but not the activation of HPA axis, during the expression of conditioned fear. **Experimental Brain Research**. v. 235, p. 429-436.
- DE RYCK, M.; SCHALLERT, T.; TEITELBAUM, P. (1980). Morphine versus haloperidol catalepsy in the rat: a behavioral analysis of postural support mechanisms. **Brain Research**. v. 201, p. 143-72.
- DE SOUZA CAETANO, K.A. S.; DE OLIVEIRA, A. R.; BRANDÃO, M.L. (2013). Dopamine d<sub>2</sub> receptors modulate the expression of contextual conditioned fear: role of the ventral tegmental area and basolateral amygdala. **Behavioral Pharmacology**. v. 24, p. 264-273.
- DEUTCH, A.Y; TAM, S.Y; ROTH, R.H. (1985). Footshock and conditioned stress increase 3,4-dihydroxyphenylacetic acid (DOPAC) in the ventral tegmental area but not substantia nigra. **Brain Research**. v. 333, p. 143-146.
- EL-KHAYAT, R.; BALWIN, D.S. (1998). Antipsychotic drugs for non-psychotic patients: assessment of the benefit/risk ratio in generalized anxiety disorder. **Journal of Psychopharmacology**. v. 12, p. 323-329.
- FADOK, J.P.; DICKERSON, T.M.; PALMITER, R.D. (2009). Dopamine is necessary for cue-dependent fear conditioning. **Journal of Neuroscience**. v. 29, p. 11089-11097.
- FALLS, W.A.; MISERENDINO, M.J.; DAVIS, M. (1992). Extinction of fear-potentiated startle: blockade by infusion of an NMDA antagonist into the amygdala. **Journal of Neuroscience**. v. 12, p. 854-863.
- FANSELOW, M.S.; LESTER, L.S. (1988). A functional behavioristic approach to aversively motivated behavior: Predatory imminence as a determinant of the topography of defensive behavior. In Bolles, R.C., Beecher, M.D. (Eds.), **Evolution and Learning**. Hillsdale, NJ: Erlbaum, p. 185-212.
- FANSELOW, M.S. (1991). The midbrain periaqueductal gray as a coordinator of action in response to fear and anxiety, **Plenum Press**, New York, p. 151-173.
- FEENSTRA, M.G.P.; BOTTERBLOM, M.H.A; VAN UUM, J.F.M. (1995). Novelty-induced increase in dopamine release in the rat prefrontal cortex in vivo: inhibition by diazepam. **Neuroscience Letters**, v. 189, p. 81-84.
- FINLAY, J.M; ZIGMOND, M.J.; ABERCROMBIE, E.D. (1995). Increased dopamine and norepinephrine release in medial prefrontal cortex induced by acute and chronic stress: effects of diazepam. **Neuroscience**, v. 64, p. 619-628.

- FRANK, M.J.; CLAUS, E.D. (2006). Anatomy of a decision: Striato-Orbitofrontal interaction in reinforcement learning, decision making, and reversal. **Psychological Review**. v. 113, p.300-326.
- GLOBAL BURDEN OF DISEASE – GBD. (2015). Disease and Injury Incidence and Prevalence Collaborators, and others. Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 310 diseases and injuries, 1990 – 2015: A systematic analysis for the Global Burden of Disease Study. **The Lancet**, p. 388-10053.
- GRAEFF, F.G.; BRANDÃO, M.L. (1999). **Neurobiologia Das Doenças Mentais**. 4<sup>o</sup> Edição. São Paulo: Editora Lemos.
- GRAEFF, F.G; GUIMARÃES, F.S. (2012). **Fundamentos de Psicofarmacologia**. 2<sup>a</sup> edição. São Paulo: Atheneu.
- GUARRACI, F.A.; FROHARDT, R.J.; KAPP, B.S. (1999). Amygdaloid D1 dopamine receptor involvement in Pavlovian fear conditioning. **Brain Research**. v. 827, p. 28-40.
- HIJZEN, T.H.; HOUTZAGER, S.W.J.; JOORDENS, R.J.E.; OLIVIER, B.; SLANGEN, J.L. (1995). Predictive validity of the potentiated startle response as a behavioral model for anxiolytic drugs. **Psychopharmacology**. v. 118, p. 150-154.
- HITCHCOCK, J.M.; DAVIS, M. (1987). Fear- potentiated startle using an auditory conditioned stimulus: effect of lesions of the amygdale. **Physiology and Behavior**. v. 39, p. 403-408.
- HOLTZMAN-ASSIF, V.; LAURENT, R.F. (2010). Blockade of dopamine activity in the nucleus accumbens impairs learning extinction of conditioned fear. **Learning & Behavior**, v. 17, p. 71-75.
- IKEMOTO, S.; WISE, R.A. (2004). Mapping of chemical trigger zones for reward. **Neuropharmacology**. v. 47, p. 190-201.
- JACKSON, M.E.; MOGHADDAM, B. (2001) Amygdala regulation of nucleus accumbens dopamine output is governed by the prefrontal cortex. **Journal of Neuroscience**. v. 21, p. 676-681.
- KIM, J.J.; FANSELOW, M.S. (1992). Modality-specific retrograde amnesia of fear. **Science**. v. 256, p. 675-677.
- KURASHIMA, M.; YAMADA, K.; NAGASHIMA, M.; SHIRAKAWA, T. (1995). Effects of putative dopamine D3 receptor agonists, 7-OH-DPAT, and quinpirole, on yawning, stereotypy, and body temperature in rats. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**. v. 52, p. 503-508.
- LLOYD, K.; DAYAN, P. (2016). Safety out of control: dopamine and defence. **Behavioural Brain Research**. v. 12, p. 01-15.
- LORENC-KOCI, E.; WOLFARTH, S.; OSSOWSKA, K. (1996). Haloperidol-increased muscle tone in rats as a model of parkinsonian rigidity. **Experimental Brain Research**, v. 109, p. 268-276.
- MACHADO, F. B.; POÇAS, C. A.; MELLA, E. A. C (2009). Determinação dos antipsicóticos prescritos no Hospital Municipal de Maringá. **Seminário: Ciências Biológicas e da Saúde**, Londrina. v. 30, p. 67-76.

- MAREN, S.; HOLT, W (2000). The hippocampus and contextual memory retrieval in Pavlovian conditioning. **Behavioural Brain Research Journal**. v. 110, p. 97-108.
- MARGONATO, F.B.; BONETTI, M.F.S.; NISHIYAMA, P. (2004). Reações Adversas do haloperidol. **Infarma**. v. 16, p. 9-10.
- MARTINEZ, R.C.; DE OLIVEIRA, A.R.; MACEDO, C.E.; MOLINA, V.A.; BRANDAO, M.L. (2008). Involvement of dopaminergic mechanisms in the nucleus accumbens core and shell sub regions in the expression of fear conditioning. **Neuroscience Letters**. v. 446, p. 112-116.
- MILLER, R.E.; MURPHY, J.V.; MIRSKY, I.A. (1957). The effect of chlorpromazine on fear-motivated behavior in rats. **The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**. v. 120, p. 379-387.
- MONSMA, F. J.; MAHAN, L.C.; MCVITTIE, L.D.; GERFEN, C.R.; SIBLEY, D.R. (1990). Molecular cloning and expression of a d1 dopamine receptor linked to adenylyl cyclase activation. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**. v. 87, p. 6723-6727.
- MUELLER, D.; BRAVO-RIVERA, C.; QUIRK, G.J. (2010). Infralimbic D2 Receptors are necessary for fear extinction and extinction-related tone responses. **Biological Psychiatry**. v. 68, p. 1055-1060.
- NADER, K.; LEDOUX, J.E. (1999). Inhibition of the mesoamygdala dopaminergic pathway impairs the retrieval of conditioned fear associations. **Behavior Neuroscience**. v. 113, p. 891-901.
- PARK, Y.; BATEMAN, B.T.; KIM, D. H.; HERNANDEZ-DIAZ, S.; PATORNO, E.; GLYNN, R.J.; MOGUN, H.; HUYNHRECHTS, K.F. (2018). Use of haloperidol versus atypical antipsychotics and risk of in-hospital death in patients with acute myocardial infarction: cohort study. **The BMJ**. v. 360, p. k1218.
- PEZZE, M.A.; FELDON, J. (2004). Mesolimbic dopaminergic pathways in fear conditioning. **Progress in Neurobiology**. v. 74, p. 301-320.
- PHILLIPS, R.G.; LEDOUX, J.E. (1992). Differential contribution of amygdala and hippocampus to cued and contextual fear conditioning. **Behavior Neuroscience**. v. 106, p. 274-285.
- PIRI, M.; AYAZI, E.; ZARRINDAST, M. R. (2013). Involvement of the dorsal hippocampal dopamine D2 receptors in histamine-induced anxiogenic-like effects in mice. **Neuroscience Letters**. v. 550, p. 139-144.
- PONNUSAMY, R.; NISSOM, H.A.; BARAD, M. (2005). Systemic blockade of D2-like dopamine receptors facilitates extinction of conditioned fear in mice. **Learning Memory**. v. 12, p. 399-406.
- POSLUNS, D. (1962). An analysis of Chlorpromazine-Induced suppression of the avoidance response. **Psychopharmacology**. v. 3, p. 361-373.
- PRUT, L.; BELZUNG, C. (2003). The open field as a paradigm to measure the effect of drugs on anxiety-like behaviors: a review. **European Journal of Pharmacology**. v. 463, p. 3-33.

- QUIRK, G.J.; RUSSO, G.K.; BARRON, J.L.; LEBRON, K. (2000). The role of ventromedial prefrontal cortex in the recovery of extinguished fear. **The Journal of Neuroscience**. v. 20, p. 6225-6231.
- REIMER, A.E.; DE OLIVEIRA, A.R.; DINIZ, J.B.; HOEXTER, M.Q.; MIGUEL, E.C.; MILAD, M.R.; BRANDÃO, M.S. (2018). **Neuropharmacology**. v.131, p. 104-115.
- REIS, F.L.V.; MASSON, S.; DE OLIVEIRA, A.R.; BRANDÃO, M.L. (2004). Dopaminergic mechanisms in the conditioned and unconditioned fear as assessed by the two-way avoidance and light switch-off tests. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**. v. 79, p. 359-365.
- RESCORLA, R.A. (2001). Retraining of extinguished Pavlovian stimuli. **Journal of Experimental Psychology: Animal Learning and Cognition**. v. 27, p. 115-124.
- SADOCK, B.J.; SADOCK, V.A.; RUIZ, P. (2017). **Compêndio de Psiquiatria: Ciência do Comportamento e Psiquiatria Clínica**. Artmed. 11a. ed. Porto Alegre: Artmed.
- SCHOEMAKER, H.; CLAUSTRE, Y.; FAGE, D.; ROUQUIER, L.; CHERGUI, K.; CURET, O.; OBLIN, A.; GONON, F.; CARTER, C.; BENAVIDES, J.; SCATTON, B. (1997). Neurochemical characteristics of Amisulpride, an atypical dopamine D2/D3 receptor antagonist with both presynaptic and limbic selectivity. **Journal of Pharmacology and Experimental**. v. 280, p. 83-97.
- SCHULTZ, W. (2015). Neuronal Reward and Decision Signals: From Theories to data. **Physiological Reviews**. v. 95, p. 853-951.
- SIERRA-MERCADO, D.; PADILLA-COREANO, N.; QUIRK, G.J. (2011). Dissociable roles of prelimbic and infralimbic cortices, ventral hippocampus, and basolateral amygdala in the expression and extinction of conditioned fear. **Neuropsychopharmacology**. v. 36, p. 529-538.
- SKINNER, B. F. (2003). **Ciência e Comportamento humano**. São Paulo: Martins Fontes.
- STANDAERT, D.G.; GALANTER, J.M. (2008). Farmacologia da neurotransmissão dopaminérgica. In GOLAN, D.E. et al. **Princípios de farmacologia: a base fisiopatológica da farmacoterapia**. 2ª. Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan.
- STUHLIK, A.; REHAKOVA, L.; RAMBOUSEK, L.; SVOBODA, J.; VALES, K. (2007). Manipulation of D2 receptors with quinpirole and sulpiride affects locomotor activity before spatial behavior of rats in an active place avoidance task. **Neuroscience Research**. v. 58, p. 133-139.
- SYLVERS, P.; LILIENFELD, S.O.; LAPRAIRIE, J.L. (2011). Differences between trait fear and trait anxiety: Implications for psychopathology. **Clinical Psychology Review**. v. 31, p. 122-137.
- VOLKOW, N.D.; FOWLER, J.S.; WANG, G.J. (2002). Role of dopamine in drug reinforcement and addiction in humans: results from imaging studies. **Behavioral Pharmacology**. v. 13, p. 355-366.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION - WHO. (2017). Depression and Other Common Mental Disorders: **Global Health Estimates**. Geneva.
- XAVIER, L.L.; VIOLA, G.G.; FERRAZ, A.C.; DA CUNHA, C.; DEONIZIO, J.M.D.; NETTO, C.A.; ACHAVAL, A. (2005). A simple and fast densitometric method for

the analysis of tyrosine hydroxylase immunoreactivity in the substantia nigra pars compacta and in the ventral tegmental. **Brain Research**. v. 16, p. 58-64.

YAN-WEI SHI; BU-FANG; LI XUE; JIA-LING WEN; HU ZHAO (2017). Regulation of Fear Extinction in the Basolateral Amygdala by Dopamine D2 Receptors Accompanied by Altered GluR1, GluR1-Ser845 and NR2B Levels. **Frontiers in Behavioral Neuroscience**. v. 11, p. 01-12.

ZAPPAROLI, H.R. (2017). **Análise da expressão e extinção da resposta de congelamento em ratos submetidos ao condicionamento aversivo respondente ao contexto ou à luz: um estudo para implementação e padronização do modelo.** Trabalho de Conclusão de Curso – Centro de Educação e Ciências Humanas, Universidade Federal De São Carlos, São Carlos.

ZARRINDAST, M.R.; KHAKPAI, F. (2015). The modulatory role of dopamine in anxiety-like behavior. **Archives of Iranian Medicine**. v. 18, p. 591-603.

ZWEIFEL, L.S.; FADOK, J.P.; GARELICK, M.G.; JONES, G.L.; DICKERSON, T.M.; ALLEN, J.M.; MIZUMORI, S.J.; BONCI, A.; PALMITER, R.D. (2011). Activation of dopamine neurons is critical for aversive conditioning and prevention of generalized anxiety. **Nature Neuroscience**. v. 14, p. 620-626.

**ANEXO A - Certificado Comissão de Ética no Uso de Animais da UFSCar**



## CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "Efeitos da sulpirida e do haloperidol na expressão e extinção do medo condicionado à luz e ao contexto em ratos.", protocolada sob o CEUA nº 9143060617, sob a responsabilidade de **Amanda Ribeiro de Oliveira e equipe; Vivian Maria de Vita** - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovada** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de São Carlos (CEUA/UFSCAR) na reunião de 11/09/2017.

We certify that the proposal "Sulpiride and Haloperidol effects on the expression and extinction of conditioned fear to light and context in rats.", utilizing 144 Heterogenics rats (144 males), protocol number CEUA 9143060617, under the responsibility of **Amanda Ribeiro de Oliveira and team; Vivian Maria de Vita** - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **approved** by the Ethic Committee on Animal Use of the Federal University of São Carlos (CEUA/UFSCAR) in the meeting of 09/11/2017.

Finalidade da Proposta: [Pesquisa](#)

Vigência da Proposta: de [09/2017](#) a [02/2019](#) Área: [Psicologia](#)

Origem: [Biotério Central da UFSCar](#)

Espécie: [Ratos heterogênicos](#)

sexo: [Machos](#)

idade: [60 a 90 dias](#)

N: [144](#)

Linhagem: [Wistar](#)

Peso: [250 a 300 g](#)

Resumo: Evidências sugerem que a dopamina (DA) seja um dos neuromoduladores mais ativos em mecanismos subjacentes a estados de medo e ansiedade. Mais especificamente, durante a exposição a estímulos condicionados aversivos ocorre aumento na liberação de DA da área tegmental ventral (ATV) para estruturas como complexo basolateral da amígdala (BLA) e núcleo accumbens. Ainda, resultados apontam para um maior envolvimento dos receptores de DA do tipo D<sub>2</sub> na expressão do medo condicionado, uma vez que tanto a administração do agonista D<sub>2</sub>, quimpirole, quanto do antagonista D<sub>2</sub>, sulpirida, causam significativa redução do congelamento condicionado, com ação das drogas em receptores na ATV e BLA, respectivamente. Assim, o objetivo geral deste estudo é ampliar a avaliação dos efeitos do bloqueio dos receptores D<sub>2</sub> em ratos na expressão e extinção do medo condicionado. Desejamos reproduzir os achados anteriores em relação aos efeitos da sulpirida na diminuição da expressão do medo condicionado, testar a hipótese de que o haloperidol [antagonista D<sub>2</sub> muito utilizado em contexto clínico para controlar sintomas da fase aguda da esquizofrenia] apresentaria efeitos similares aos da sulpirida, e ampliar a caracterização do envolvimento da DA no medo condicionado avaliando o efeito dessas duas drogas sobre processos de extinção. Para tanto, serão utilizados 120 ratos Wistar machos, pesando em torno de 250 g. O estudo será desenvolvido em duas fases, na primeira investigaremos os efeitos da sulpirida (20 e 40 mg/kg - Experimento 1A) e do haloperidol (0,1 e 0,25 mg/kg - Experimento 1B) na expressão e extinção do medo condicionado ao contexto; na segunda fase avaliaremos os efeitos da sulpirida (20 e 40 mg/kg - Experimento 2A) e do haloperidol (0,1 e 0,25 mg/kg - Experimento 2B) na expressão e extinção do medo condicionado à luz. Em todos os casos, os ratos passarão pelo condicionamento aversivo ao contexto ou à luz e, após vinte e quatro horas, haverá a administração de droga ou salina e os ratos serão submetidos à sessão teste para avaliação da resposta de congelamento. Após mais vinte e quatro horas, os animais serão submetidos a um reteste, para avaliação do processo de extinção. Após dois dias, para controle dos possíveis efeitos motores adversos das manipulações farmacológicas, os mesmos ratos receberão nova administração de droga ou salina e passarão pelos testes de catalepsia e do campo aberto.

Local do experimento: Laboratório de Psicologia da Aprendizagem

São Carlos, 12 de setembro de 2017