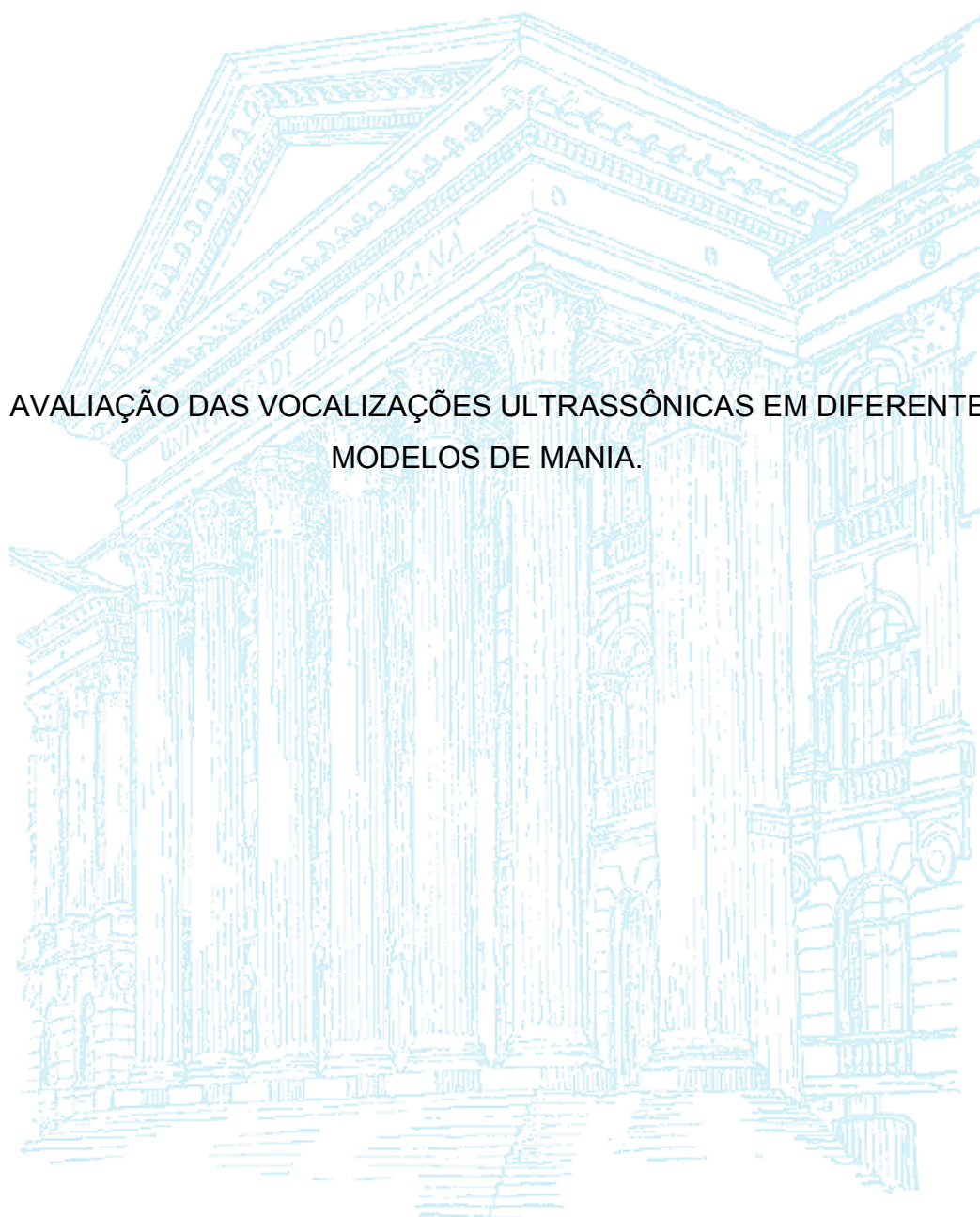


UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

ETIÉLI MARA WENDLER

AVALIAÇÃO DAS VOCALIZAÇÕES ULTRASSÔNICAS EM DIFERENTES  
MODELOS DE MANIA.



CURITIBA  
2016

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ  
PÓS-GRADUAÇÃO EM FARMACOLOGIA

ETIÉLI MARA WENDLER

AVALIAÇÃO DAS VOCALIZAÇÕES ULTRASSÔNICAS EM DIFERENTES  
MODELOS DE MANIA.

CURITIBA  
2016

ETIÉLI MARA WENDLER

AVALIAÇÃO DAS VOCALIZAÇÕES ULTRASSÔNICAS EM DIFERENTES  
MODELOS DE MANIA.

Tese de Doutorado, curso de Pós-  
Graduação em Farmacologia, Setor de  
Ciências Biológicas, Universidade Federal  
do Paraná.

Orientador: Prof. Dr. Roberto Andreatini

CURITIBA  
2016

Universidade Federal do Paraná  
Sistema de Bibliotecas

Wendler, Etiéli Mara

Avaliação das vocalizações ultrassônicas em diferentes modelos de mania. / Etiéli Mara Wendler. – Curitiba, 2016.

70 f.: il. ; 30cm.

Orientador: Roberto Andreatini

Tese (doutorado) - Universidade Federal do Paraná, Setor de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Farmacologia.

1. Transtorno bipolar 2. Modelos animais em pesquisa 3. Farmacologia I. Título II. Andreatini, Roberto III. Universidade Federal do Paraná. Setor de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Farmacologia.

CDD (20. ed.) 615.78



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
Setor CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
Programa de Pós Graduação em FARMACOLOGIA  
Código CAPES: 40001016038P0

### TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em FARMACOLOGIA da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da Tese de Doutorado de **ETIELI MARA WENDLER**, intitulada: "**AVALIAÇÃO DAS VOCALIZAÇÕES ULTRASSÔNICAS EM DIFERENTES MODELOS DE MANIA**", após terem inquirido a aluna e realizado a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua Aprovação.

Curitiba, 24 de Novembro de 2016.

ROBERTO ANDREATINI  
Presidente da Banca Examinadora (UFPR)

BRUNO JACSON MARTYNHAK  
Avaliador Externo (UFPR)

JULIANA GEREMIAS CHICHORRO  
Avaliador Interno (UFPR)

MARIA APARECIDA BARBATO FRAZÃO VITAL  
Avaliador Interno (UFPR)

PATRÍCIA ANDRÉIA DOMBROWSKI  
Avaliador Externo (PUC/PR)

---

Programa de Pós Graduação em FARMACOLOGIA | UFPR  
Centro Politécnico - Curitiba - Paraná - Brasil

CEP 81531990 - Tel: (0xx41)3361-1693 - Fax: (0xx41) 3266-2042 - E-mail: [pgfarmacologia@ufpr.br](mailto:pgfarmacologia@ufpr.br) Link para autenticação  
<http://www.prppg.ufpr.br/siga/visitante/autenticacao.jsp> - Código para autenticação: UITJaUgFN8

## AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, agradeço imensamente aos meus pais, **Nilton e Beti** por sempre me proporcionarem oportunidades para meu crescimento pessoal e profissional. Agradeço pelo apoio incondicional para que eu pudesse seguir meus sonhos e trilhar o caminho que escolhi para mim.

Agradeço a minha filha **Gabriela** pelo seu amor, pelo seu apoio, por entender que muitas vezes eu estava cansada após um longo dia. Agradeço por toda a paciência que teve comigo nesses anos de muito estudo e trabalho e por todas as vezes que me alegrou depois de um dia difícil. A partir de hoje eu terei um título de Dra. junto ao meu nome, mas esse título não se compara àquele que você me deu, o de ser mãe. Você é meu melhor "diploma"! Obrigada por tudo minha linda, que nossa vida continue cheia de conquistas juntas.

A minha irmã **Priscila**, ao meu cunhado **Denis**, a minha avó **Lydia** e a todos os meus **tios** e **primos** que de alguma forma me ajudaram nessa jornada, seja com uma palavra amiga ou uma piada em um dia difícil.

A minha irmã **Évelin** (*in memoriam*), apesar da circunstância e de onde quer que esteja, eu sei que está muito orgulhosa com as minhas conquistas. A minha avó **Divina** (*in memoriam*) que sempre foi o meu maior exemplo de superação, esforço e determinação. Mesmo com sua limitação visual, aprendeu a ler e escrever em braile, terminou o ensino fundamental, escreveu livros, aprendeu informática para cegos, sabia mexer no celular, no computador, tinha conta no facebook... Apesar da limitação era a pessoa mais alegre e alto astral que conheci. Em toda a minha vida eu nunca a vi reclamar de nada, um dia sequer. Para sempre será a minha inspiração...

Agradeço a **todos os amigos** que fiz ao longo da vida, mesmo àqueles distantes fisicamente que estão em diferentes partes do mundo. Cada um deixou alguma lição que contribuiu de alguma maneira para que eu chegasse

até aqui. Não preciso citar nomes, pois cada um sabe da importância que tem na minha vida.

Aos meus colegas e amigos, **Débora Dalla Vecchia, Luiz Kae Sales Kanazawa, Palloma Hocayen, Camila Pasquini e Ana Paula Dornelas Loper** pela colaboração, execução, apoio e suporte técnico nos meus experimentos. Agradeço também a todos os **colegas da Farmacologia** que diretamente ou indiretamente fizeram esses anos mais felizes.

Agradeço especialmente ao meu orientador **Roberto Andreatini** pelo apoio, pela paciência e por todo o conhecimento transmitido durante o meu doutorado. A você, toda minha admiração e respeito pelo profissional e pessoa que é.

A todos os professores e funcionários do **departamento de Farmacologia** pelos ensinamentos e ajuda com tudo que precisei.

A **todos os professores** que passaram pela minha vida me ensinando desde a ler e escrever a matérias mais complexas. Agradeço especialmente a professora **Luciana Zischler** que foi uma grande incentivadora, me ajudando nos meus primeiros passos na iniciação científica.

Agradeço aos professores **Rainer Schwarting e Markus Wörh** e a todos os **colegas da Phillips-Universität** na Alemanha pelos conhecimentos e dias compartilhados durante meu estágio lá. "Danke schön"!!!

Agradeço a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (**CAPES**) pelo suporte financeiro durante todo o esse período.

***"Alguns homens veem as coisas como são e dizem 'Por quê?'.  
Eu sonho com coisas que nunca foram e digo 'Porque não?'"***

(George Bernard Shaw)

## SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS.....	viii
LISTA DE FIGURAS.....	ix
RESUMO.....	x
ABSTRACT.....	xi
1) INTRODUÇÃO.....	12
1.1 Transtorno de Humor Bipolar.....	12
1.2 Neurobiologia da Mania.....	14
1.3 Tratamento Farmacológico do THB - Episódio Maníaco.....	17
1.4 Modelos Animais no Estudo da Mania.....	18
1.5 Vocalização Ultrassônica (USV).....	21
2) JUSTIFICATIVA.....	22
3) OBJETIVOS.....	22
3.1 Objetivo Geral.....	22
3.1 Objetivos Específicos.....	22
4) MATERIAIS E MÉTODOS.....	23
4.1 Animais e Ambientes de Criação.....	23
4.2 Cirurgia de Implantação de Cânula.....	23
4.3 Drogas.....	24
4.4 Testes.....	24
4.4.1 Atividade Locomotora no Campo Aberto.....	24
4.4.2 Análise da Vocalização Ultrassônica.....	25
4.4.3 Privação de Sono.....	27
4.5 Desenho experimental.....	27
4.5.1 .....	27
4.5.2.....	28
4.5.3.....	29
4.5.4.....	29
4.6 Análise Estatística.....	30
5) RESULTADOS.....	30
5.1 Experimento 1.....	30
5.2 Experimento 2.....	31

5.3 Experimento 3.....	33
5.4 Experimento 4.....	34
5.5 Experimento 5.....	36
5.6 Experimento 6.....	38
5.7 Experimento 7.....	40
6) DISCUSSÃO.....	42
7) CONCLUSÃO.....	52
8) REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	52

## LISTA DE ABREVIATURAS

- ACh - Acetilcolina  
AMP - Anfetamina  
AP - Anteroposterior  
DA - Dopamina  
DAT - Transportador de dopamina  
DSM-V - do inglês, *Diagnostic and statistical manual of mental disorders V* - Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais V  
DV - Dorsoventral  
CPF - Córtex pré-frontal  
i.p. - Intraperitoneal  
LCR - Líquido cefalorraquidiano artificial  
LDX - Lisdexanfetamina  
Li - Carbonato de lítio  
MAO - Monoamina oxidase  
ML - Mediolateral  
Na<sup>+</sup> - Íons sódio  
NAc - Núcleo accumbens  
Na,K-ATPase - Enzima sódio-potássio adenosina trifosfato  
NMDA - N-metil-D-aspartato  
OUA - Ouabaína  
PKC - Proteína quinase C  
Quet - Quetamina racêmica  
Quet-S - Quetamina isoforma-S  
Sal - Salina  
s.c. - Subcutânea  
TBARS - do inglês, *Thiobarbituric acid reactive substances* - substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico.  
THB - Transtorno de Humor Bipolar  
USV - do inglês, *ultrasonic vocalization* - vocalizações ultrassônicas

## LISTA DE FIGURAS

<u>Figura 1:</u> Exemplo de objetos utilizados nos testes.....	<b>26</b>
<u>Figura 2:</u> Exemplo de vocalizações ultrassônicas (USV).....	<b>26</b>
<u>Figura 3:</u> Caixa de privação de sono.....	<b>27</b>
<u>Figura 4:</u> Esquema geral ilustrativo dos protocolos experimentais.....	<b>28</b>
<u>Figura 5:</u> Efeitos da lisdexanfetamina (10 mg/kg) na atividade locomotora e no comportamento exploratório em ratos.....	<b>31</b>
<u>Figura 6:</u> Efeitos da lisdexanfetamina (10 mg/kg) nas vocalizações ultrassônicas de 50-kHz em ratos.....	<b>31</b>
<u>Figura 7:</u> Efeitos do tratamento por carbonato de lítio (100 mg/kg) no aumento da atividade locomotora, comportamento exploratório e das vocalizações ultrassônicas induzidas por lisdexanfetamina (10 mg/kg) em ratos.....	<b>32</b>
<u>Figura 8:</u> Efeitos do tratamento por carbonato de lítio (100 mg/kg) na porcentagem do aumento das vocalizações ultrassônicas de 50-kHz induzidas por lisdexanfetamina (10 mg/kg) em ratos.....	<b>33</b>
<u>Figura 9:</u> Efeitos da quetamina racêmica (25 mg/kg) e da quetamina-S (25 mg/kg) na atividade locomotora, exploratória e nas vocalizações ultrassônicas de 50-kHz em ratos.....	<b>34</b>
<u>Figura 10:</u> Efeitos da privação de sono por 24 horas na atividade locomotora e exploratória em ratos.....	<b>35</b>
<u>Figura 11:</u> Efeitos da privação de sono por 24 horas nas vocalizações ultrassônicas em ratos.....	<b>35</b>
<u>Figura 12:</u> -Efeitos do tratamento por carbonato de lítio no aumento da atividade locomotora e exploratória induzida por privação de sono por 24 horas em ratos.....	<b>37</b>
<u>Figura 13:</u> Efeitos do tratamento por carbonato de lítio (100mg/kg) no aumento dos diferentes tipos de vocalizações ultrassônicas de 50-kHz induzidas por privação de sono por 24 horas em ratos.....	<b>38</b>
<u>Figura 14:</u> Efeitos da privação de sono por 72 horas na atividade locomotora e exploratória em ratos.....	<b>39</b>
<u>Figura 15:</u> Efeitos da privação de sono por 72 horas nas vocalizações ultrassônicas em ratos.....	<b>39</b>
<u>Figura 16:</u> Efeitos da ouabaína a $10^{-2}M$ na atividade locomotora e exploratória em ratos.....	<b>41</b>
<u>Figura 17:</u> Efeitos da ouabaína a $10^{-2}M$ nas vocalizações ultrassônicas em ratos.....	<b>42</b>

## RESUMO

O Transtorno de Humor Bipolar (THB) é uma desordem psiquiátrica que leva a sérios problemas de saúde para o paciente. Ele é caracterizado por oscilações cíclicas de humor manifestada por diversos sintomas (recorrências de mania, depressão e estados mistos), dificultando o desenvolvimento de um modelo animal adequado. Existem poucos modelos animais para o estudo da mania, sendo a indução do aumento da atividade locomotora pelo uso de substâncias estimulantes do sistema nervoso central (ex. anfetamina (AMP)), um dos mais utilizados. Outros modelos já descrito na literatura para indução de mania são através de administrações sistêmicas de lisdexanfetamina (LDX) e quetamina; injeções de ouabaína agudamente via intracerebroventricular (ICV) e pelo modelo não farmacológico de privação de sono, todos esses modelos induzem hiperatividade que é revertida por drogas anti-maniacas. Porém, avaliar somente a atividade locomotora nesses modelos já descritos teria suas limitações. As vocalizações ultrassônicas (USV) são emitidas por ratos em situações recompensadoras (ex. acasalamento, abuso de drogas), na frequência de 50-kHz e também em situações aversivas (ex. medo, dor), na frequência de 22-kHz. Foi demonstrado na literatura que animais tratados com AMP, além do aumento da atividade locomotora, esses animais aumentaram também a emissão de USV de 50 kHz e os tratamentos com lítio e tamoxifeno foram capazes de inibir essa vocalização. Sendo assim, nesse trabalho avaliamos as USV em outros modelos animais de mania. No presente estudo, no modelo de mania induzido por LDX, observamos um aumento significativo das USV de 50-kHz, que foram revertidas por tratamento com lítio. Os animais tratados com quetamina não apresentaram aumento significativo nas USV comparado ao seus controles. Quando o modelo de mania foi induzido por ouabaína ICV, observamos um estado misto na emissão das USV. Esses animais apresentaram um aumentos nas USV de 50-kHz e também na emissão das USV de 22-kHz. No modelo de mania induzido por privação de sono, os animais privados de sono por 24 horas (P24) quanto por 72 horas apresentaram um aumento na emissão das USV de 50-kHz. Esse aumento das vocalizações dos animais P24 foi revertida após o tratamento com lítio. Os resultados reportados sugerem que as USV podem ser uma variável de valor comportamental a ser adicionada em modelos animais de mania em ratos, refinando e aprofundando esses modelos e aumentando seus valor translacional.

## ABSTRACT

The Bipolar Disease (BD) is a psychiatry disorder that leads to several health problems and have great impact in the patient's life. The BD is characterized by cyclic humor oscillations manifested by several symptoms (manic recurrences, depression and mixed states), making difficult to develop a suitable animal model. There are few animal models to study mania, and the increase of locomotor activity induction by stimulants of the central nervous system, like amphetamine (AMP), is one of the most used. Other mania models already described on literatures are induced by systemic administration of lisdexamfetamine (LDX) and ketamine; injections of ouabain via intracerebroventricular (ICV) and the non pharmacological mania model induced by sleep deprivation, all these models induce hyperactivity and it is reverted by anti-manic drugs. However, to evaluate only the locomotor activity on these models would have some limitations. The ultrasonic vocalization (USV) are emitted by rats in rewarded situation (i.e. mating, drug abuse), on 50-kHz frequency, as well on aversive situation (i.e fear, pain), on 22-kHz frequency. Have been shown in literature that animals treated by AMP, besides the hyperactivity, increased the total number of USV of 50-kHz and treatments by lithium and tamoxifen were able to inhibit the USV. Therefore, in this work we evaluated the USV in other mania animal models. In the present study, on LDX induced model we observed a significant increase on 50-kHz USV, where was reverted by lithium treatment. Animals treated by ketamine did not showed significant increase on the number of USV compared to control group. When induced by ouabain ICV, we observed a mixed state on USV emission. These animals showed an increase on 50-kHz USV and also on 22-kHz USV. On mania model induced by sleep deprivation, the animals deprived for 24 hours (P24) and for 72 hours presented an increase on 50-kHz USV. The increase of the USV induced by P24 were reverted by lithium treatment. The results reported suggest that USV can be a valuable behavioral variable to be added in mania animal models in rats, refining and increasing the translational value.

## 1.INTRODUÇÃO

O Transtorno de Humor Bipolar (THB) é uma desordem psiquiátrica que leva a sérios problemas de saúde, gerando grande impacto na vida do paciente, da família e da sociedade, frequentemente trazendo prejuízos em vários setores da vida deste indivíduo. Ele está entre as 10 condições médicas mais incapacitantes do mundo, afetando de 1-4% da população mundial (Phillips e Kupfer, 2013; Carvalho *et al.*, 2014) e tem sido associado com o risco aumentado de morbidade, mortalidade e comorbidade psiquiátrica (Ösby *et al.*, 2001; Baldessarini e Tondo, 2003; Whiteford *et al.*, 2013).

Algumas das comorbidades associadas ao THB são: distúrbios alimentares (Shisslak *et al.*, 1991; Mury *et al.*, 1995), ansiedade (Regier *et al.*, 1998), pânico (Andrews e Slade, 2002), agorafobia (Andrews e Slade, 2002; Bienvenu *et al.*, 2006), fobia social (Lampe *et al.*, 2003), transtorno de impulsividade (Merikangas *et al.*, 2007) e abuso de substâncias (Cassidy *et al.*, 2001).

Por ser um distúrbio grave e causar danos sociais e emocionais, é de extrema importância criar novos modelos animais para estudar este transtorno e melhorar a sensibilidade dos testes, para que novas drogas em potencial sejam testadas para o seu tratamento.

### 1.1 Transtorno de Humor Bipolar

O THB é grande causador de incapacidade e morbidade, uma intervenção e prevenção podem ajudar a diminuir essa morbidade, porém tal esforço requer identificação também de síndromes precursoras para o THB (Miklowitz *et al.*, 2013). Alto risco familiar (Egeland *et al.*, 2012; Duffy *et al.*, 2014) e estudos naturalísticos (Fiedorowicz *et al.*, 2011) indicam que sintomas depressivos e de ansiedade podem ser síndromes precursoras desse transtorno. Existe também uma relação entre o uso de algumas substâncias (ex. cannabis) e sintomas maníacos e hipomaníacos (Henquet *et al.*, 2006).

O THB caracteriza-se por oscilações de humor, podendo estas serem mais leves (períodos subsindrômicos<sup>1</sup> e eufímicos<sup>2</sup>) ou exacerbadas as quais

---

<sup>1</sup> Subsindrômico: sintomas que embora presentes, não preenchem critérios para o diagnóstico de um episódio depressivo ou maníaco;

<sup>2</sup> Eufímicos: humor normal ou humor neutro.

ocorrem na fase aguda da doença (Judd *et al.*, 2008). Existe uma alternância entre fase depressiva e fase maníaca nesse transtorno, porém podem ocorrer também estados subclínicos<sup>3</sup> e estados mistos<sup>4</sup>, bem como eutimia (Belmaker, 2004; Lima *et al.*, 2005). Foi constatado que pacientes bipolares passam aproximadamente dois terços da vida com humor depressivo e apenas um terço em humor (hipo)maníaco<sup>5</sup> ou eutímico, talvez por isso não se dê tanta importância a fase maníaca da doença (Colom *et al.*, 2006; Nivoli *et al.*, 2011). Em relação a prevalência de gênero, não há diferença entre homens e mulheres (Graae *et al.*, 2012); iniciando normalmente após os 20 anos de idade, mas podendo ocorrer na adolescência ou mais tardiamente (Gitlin *et al.*, 1995). A estimativa de ocorrência entre familiares de portadores, comparado à população geral, apresenta um aumento de 10 a 20%, indicando uma forte influência genética nesta patologia (Merikangas *et al.*, 2002).

De acordo com o Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais V (DSM-V) o THB pode ser subdividido em: transtorno bipolar do tipo I, onde o paciente apresenta fase de depressão, fase de eutimia e fase de mania; transtorno bipolar do tipo II, ao invés de fase de mania ocorre uma fase de hipomania no paciente; ciclotimia, pacientes bipolares que apresentam sintomas similares a o THB tipo II com duração mínima de 2 anos, porém de ciclagem rápida. Os quadros de mania e hipomania se diferenciam pela intensidade dos sintomas, sendo a hipomania menos acentuada e que somente pacientes que apresentam quadro maníaco poderão apresentar psicose relacionada a este período (Simpson *et al.*, 1993; Belmaker, 2004; Shinozaki e Potash, 2014). A fase maníaca caracteriza-se pela apresentação de alguns dos seguintes sinais e sintomas, por um período mínimo de uma semana: aumento da autoestima e pensamentos de grandeza, diminuição da necessidade de sono e aumento da energia, aumento da sexualidade e uma expansividade social, taquilalia (caracterizada por uma taxa de articulação ou velocidade de fala elevada) e distrabilidade (Akiskal e Benazzi, 2003; Moreno *et al.*, 2005).

Por sua vez, durante a fase depressiva o paciente apresenta alguns dos seguintes sintomas por um período mínimo de 2 semanas: humor depressivo

---

<sup>3</sup> Estados subclínicos: acontece sem manifestação de sintomas

<sup>4</sup> Estados mistos: preenchem critérios para mania e depressão maior

<sup>5</sup> Hipomaníaco: alteração de humor semelhante à mania, porém com menor intensidade

(sensação de angústia, tristeza, vazio, desesperança e desânimo), dificuldades de concentração e pensamentos de cunho negativo, incapacidade de sentir alegria ou prazer, redução da energia, agitação psicomotora ou, ao contrário, lentificação, podendo ocorrer ideação suicida e/ou sintomas psicóticos, além de alterações de apetite e do sono (Associação Psiquiátrica Americana, 2000; DSM-V, 2013). Entre os episódios maníaco e depressivo, o paciente normalmente apresenta uma fase de eutimia ou seja um estado de equilíbrio no humor. Entretanto, é considerado por alguns autores, que esta fase deveria ser mais que apenas a ausência de sintomas, pois nesta fase o paciente deveria também estar integrado ou reintegrado funcionalmente em suas atividades de rotina (Joseph, 1999).

## **1.2 Neurobiologia da Mania**

Algumas teorias tem sido propostas em relação a mania. Diversos estudos clínicos sugerem um papel dopaminérgico na mania. Drogas que aumentam a transmissão dopaminérgica (ex. anfetamina (AMP), metilfenidato e dextroanfetamina) levam a sintomas tipo-maníacos em voluntários saudáveis (Huey *et al.*, 1981; Jacobs e Silverstone, 1986). Tradicionalmente esses psicoestimulantes são caracterizados como drogas liberadoras de dopamina (DA) que a elevam através de três mecanismos principais. Primeiro, é um substrato para o transportador de dopamina (DAT) que competitivamente inibe a recaptção da DA; segundo, facilita o movimento de saída de DA das vesículas para o citoplasma e terceiro, promove um transporte reverso mediado por DAT nas fendas sinápticas independentemente da liberação vesicular induzida por potencial de ação (Fleckenstein *et al.*, 2007). A DA possui um papel importante na locomoção, sendo que a hiperlocomoção, um sintoma relacionado ao quadro de mania, está relacionada a maior ativação do sistema dopaminérgico (Di Chiara, 1995; D'aquila *et al.*, 2000). Foi demonstrado que o aumento da atividade dopaminérgica pelo uso do pramipexole, um agonista de receptores D2 e D3, influencia no desempenho da tomada de decisão em pacientes bipolares eutímicos. Esses pacientes demonstram uma preferência pelo alto risco e por escolhas que resultem em maiores recompensas. (Burdick *et al.*, 2014). Estudos de caso mostraram que após ingestão de grandes quantidades de cafeína, que também aumenta a transmissão da dopamina,

indivíduos demonstraram comportamento tipo-maníaco (Ogawa e Ueki, 2003; Krankl e Gitlin, 2015). Estudos de neuroimagem e eletrofisiologia, mostram que sintomas (hipo)maníacos estão associados com uma maior ativação em regiões cerebrais associadas a recompensa que possuem alta densidade de receptores dopaminérgicos (Manson *et al.*, 2012). Outra evidência é a relação da pouca disponibilidade de DAT no caudado dorsal em pacientes com THB não tratados e que isso pode levar a problemas na recaptação da DA (Anand *et al.*, 2011). Estudos também mostram que drogas (ex. antipsicóticos) que diminuem a ação dopaminérgica exercem efeitos anti-maníacos (Cousins *et al.*, 2009).

O sistema glutamatérgico também tem sido associado a mania. Os efeitos da DA são mediados em parte pela sua influencia nos sinais glutamatérgicos originários das regiões média e ventromedial do córtex pré-frontal (CPF) (Kable e Glimcher, 2009) e pacientes com THB na fase maníaca mostraram um aumento nos níveis de glutamato no cérebro em estudos feitos com ressonância magnética (Öngür *et al.*, 2008; Gigante *et al.*, 2012). Estudos mostram também que existe uma redução da expressão de receptores glutamatérgicos do tipo N-metil-D-aspartato (NMDA) em regiões cerebrais tais como o hipocampo (Mccullumsmith *et al.*, 2007). Agentes que antagonizam o receptor NMDA, tal como a quetamina e a fenciclidina produzem estado psicótico agudo em indivíduos saudáveis que se assemelha a alguns sintomas de THB ou mania (Breier *et al.*, 1997). Um relato de caso descreveu um episódio tipo-maníaco induzido por administração de quetamina em um paciente com distrofia reflexa do simpático e depressão (Ricke *et al.*, 2011) e mais recentemente foi descrito um possível caso de indução de mania em um paciente tratado com quetamina para dor pós-operatória (Nichols *et al.*, 2016). A quetamina antagoniza os receptores ionotrópicos do tipo NMDA de glutamato no cérebro, induzindo uma liberação substancial de glutamato pré-sináptico, aumentando assim a taxa de disparo dos neurônios (Moghaddam *et al.*, 1997). Receptores de glutamato e receptores dopaminérgicos podem interagir e formar heterocomplexos os quais influenciam a plasticidade sináptica e contribuem para a fisiopatologia e para o tratamento do THB (De Bartolomeis *et al.*, 2014).

Outros estudos mostram que a inibição da bomba de sódio/potássio (Na/K) também está relacionada a fisiopatologia da mania resultando em um aumento na excitabilidade da membrana e diminuindo a liberação de neurotransmissores (El-Mallakh e Wyatt, 1995). Injeções de ouabaína, um inibidor da enzima sódio-potássio adenosina trifosfato (Na,K-ATPase), resultou no aumento dos níveis de TBARS (do inglês, *Thiobarbituric acid reactive substances*, substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico) e de proteína carbonil no córtex pré-frontal (CPF) e hipocampo de ratos, sugerindo o aumento do estresse oxidativo após a inibição da Na,K-ATPase. Nos últimos trinta anos tem sido proposto que alterações nesta enzima parecem desempenhar um papel crucial no THB. Estudos mostraram uma diminuição na atividade da Na,K-ATPase na membrana do eritrócito em pacientes na mania aguda comparada a indivíduos bipolares eufímicos (Naylor *et al.*, 1980; Reddy *et al.*, 1992). A melhora clínica nos pacientes com THB foram significativamente correlacionadas a melhora da atividade da enzima (Johnston *et al.*, 1980). Além disso, a redução da atividade da enzima desta bomba e o aumento intracelular de sódio e cálcio nos eritrócitos dos pacientes bipolares também foi reportado (Looney e El-Mallakh, 1997).

Outra linha de pesquisa se refere a alterações nos ritmos circadianos e sua correlação com alterações de humor. Estudos mostram que distúrbios de sono levariam a precipitação de sintomas maníacos nos pacientes bipolares. Alterações no ciclo de sono (ex. insônia) parecem dar o início da virada maníaca em pacientes que estão na fase depressiva ou em eutimia (Feldman-Naim *et al.*, 1997; Jackson *et al.*, 2003; Harvey *et al.*, 2008). Ao menos 75% dos estudos envolvendo pacientes bipolares citaram algum tipo de alteração de sono entre os sintomas observados nos pacientes em fase maníaca (Mansell e Pedley, 2008). Além disso, um estudo mostrou que a privação de sono por três dias consecutivos em pacientes bipolares deprimidos poderia levar ao desenvolvimento de sintomas de mania em 10% deles (Colombo *et al.*, 1999) e que terapias com o objetivo de normalizar o ciclo de sono-vigília parecem mostrar uma redução nesses sintomas (Harvey *et al.*, 2015).

Também têm sido citados o aumento do estresse oxidativo e o aumento dos níveis e da atividade da proteína quinase C (PKC) na mania (Frey *et al.*, 2006; Yildiz *et al.*, 2008). A PKC é altamente expressa no sistema nervoso

central e regula de forma importante a excitabilidade neuronal, a liberação de neurotransmissores e as alterações na expressão gênica de longo prazo e a plasticidade. A maioria das isoformas da PKC encontradas em diferentes regiões do cérebro, como no hipocampo e CPF estão envolvidas na regulação do humor (Wetsel *et al.*, 1992; Macdonald *et al.*, 2001; Abrial *et al.*, 2011). O aumento da sua expressão em pacientes maníacos estaria relacionada à hiperatividade motora, comportamento de risco e comportamento hedônico excessivo (Szabo *et al.*, 2009). Também, a ativação da PKC leva à ativação subsequente de sistemas monoaminérgicos, com maior atividade no sistema dopaminérgico (White e Kalivas, 1998).

### **1.3 Tratamento Farmacológico do THB - Episódio Maníaco**

O tratamento acontece de acordo com as fases do estado do paciente: tratamento da mania aguda, tratamento da depressão aguda ou manutenção. Normalmente utiliza-se antidepressivos e um estabilizador de humor (ex. lítio) juntamente com antipsicóticos e sedativos, para contenção das fases de depressão e de mania aguda, respectivamente (Gijsman *et al.*, 2004; Moreno *et al.*, 2005; Connolly e Thase, 2011). Quando o quadro agudo é estabilizado, o tratamento é mantido apenas com estabilizador de humor (Geddes *et al.*, 2004; Souza, 2005).

Os principais antipsicóticos utilizados para o tratamento na fase de mania ou hipomania agudas são os antipsicóticos atípicos, como por exemplo, a olanzapina (Moreno *et al.*, 2005; Cipriani *et al.*, 2011). Seu mecanismo de ação não está totalmente elucidado, mas parece que esses antipsicóticos atípicos bloqueiam os receptores de 5-hidroxitriptamina 2A (5-HT<sub>2A</sub>) ao mesmo tempo que bloqueiam os receptores dopaminérgicos do tipo D<sub>2</sub>, que de alguma maneira equilibra a liberação serotonina e dopamina (Seeman, 2015).

Os anticonvulsivantes que se mostram eficazes no episódio maníaco são o ácido valpróico (valproato) e a carbamazepina (Cipriani *et al.*, 2011) e alguns dados pré-clínicos sugerem também um potencial efeito da fenitoína nessa fase (Tonelli *et al.*, 2013). O mecanismo de ação do valproato estaria mais relacionado à inibição da PKC. Outros estudos também apontam que este apresenta atividade sobre o sistema GABAérgico, que conseqüentemente irá

influenciar na balanço do sistema monoaminérgico, auxiliando que este volte ao equilíbrio (Maes *et al.*, 1997).

Finalmente, as drogas utilizadas durante todas as fases do THB são os estabilizadores de humor, tendo o lítio como o mais amplamente utilizado na clínica. O mecanismo de ação desta droga está relacionada a alterações nas vias do inositol trifosfato e da adenilato ciclase, pode influenciar no equilíbrio da liberação de monoaminas e pode aumentar a concentração de serotonina livre e diminuição da noradrenalina. O lítio também atua como inibidor da PKC, o que auxilia no tratamento da fase maníaca. Entretanto o lítio apresenta como efeito colateral, após tratamento prolongado, toxicidade que afeta a tireóide e rins dos pacientes, além de significativo aumento de peso, necessitando ainda de um constante controle sérico dos seus níveis (Machado-Vieira *et al.*, 2004; Connolly e Thase, 2011).

#### **1.4 Modelos Animais no Estudo da Mania**

Modelos animais de doenças humanas são avaliadas por 3 critérios: validade de face, de constructo e preditiva (Machado-Vieira *et al.*, 2004). A validade de face representa o quanto o modelo pode mimetizar os sintomas de determinada desordem humana, enquanto a de constructo refere-se a aspectos comuns entre o mecanismo do modelo e da doença no humano. Finalmente, a validade preditiva se refere a eficácia do tratamento de drogas usadas no tratamento de doenças em humanos para o fenótipo do modelo animal (Machado-Vieira *et al.*, 2004).

Existem poucos modelos animais para o estudo da mania, sendo a indução do aumento da atividade locomotora pelo uso de substâncias estimulantes do sistema nervoso central, como a AMP e o metilfenidato, um dos mais utilizados (Machado-Vieira *et al.*, 2004; Einat, 2007). Em roedores, uma administração única de AMP ou metilfenidato produz aumento da atividade locomotora e de reforço comportamental, enquanto doses repetidas aumentam a resposta comportamental ao longo do tempo. Este fenômeno é chamado de sensibilização comportamental e ocorre pela administração "crônica" de um psicoestimulante que resulta em uma resposta comportamental progressivamente maior e mais rápida (Dencker e Husum, 2010). A estimulação por AMP seguida por teste de campo aberto apresenta

validade de face, mas não reproduz várias das alterações psicopatológicas que ocorrem na fase maníaca, apenas a hiperatividade dos pacientes durante o episódio maníaco (Einat *et al.*, 2000; Nestler, 2004). Possui uma boa validade de constructo, reproduzindo alterações como a hiperatividade dopaminérgica (aumento da liberação de DA) presente em pacientes bipolares na fase maníaca (Butcher *et al.*, 1988; Drevets *et al.*, 2001). Esse modelo também apresenta validade preditiva, pois estudos clínicos (Van Kammen e Murphy, 1975; Van Kammen *et al.*, 1985) e pré-clínicos (Frey *et al.*, 2006; Gould *et al.*, 2007) mostram que o lítio é capaz de reverter as alterações comportamentais induzidas por AMP.

Mais recentemente uma pró-droga chamada lisdexanfetamina (LDX) também demonstrou efeitos psicoestimulantes em roedores. Como uma pró-droga, requer biotransformação para ser convertida na droga ativa, dextroanfetamina (*d*-anfetamina). Um estudo mostrou que a administração aguda de LDX aumentou a atividade locomotora e a liberação de dopamina em ratos (Rowley *et al.*, 2012) e após administração de LDX por 14 dias também foi observado um aumento na atividade locomotora em ratos e esse efeito foi revertido pelo tratamento com lítio (Macedo *et al.*, 2013). A lisdexanfetamina mostra boas validades de face e preditiva para modelos de mania.

Foi demonstrado em um estudo que a quetamina, um anestésico dissociativo, que afeta a atividade glutamatérgica via bloqueio do receptor NMDA induziu hiperlocomoção em ratos e esta foi revertida por lítio e valproato. A administração de quetamina também parece ser um modelo animal de mania promissor, apresentando validades de face e preditiva (Ghedim *et al.*, 2012).

Administração de ouabaína (droga inibidora da bomba Na/K ATPase), intracerebroventricular (ICV) agudamente, induz a hiperatividade em ratos (validade de face), seu efeito é bloqueado com tratamento por lítio, carbamazepina e haloperidol (validade preditiva). (El-Mallakh *et al.*, 2003; El-Mallakh *et al.*, 2006). Em 1998, Rucktannonchai e colaboradores observaram uma resposta de hiperatividade persistente após 9 dias de uma única administração ICV de ouabaína em ratos (Ruktanonchai *et al.*, 1998). Um modelo animal de mania que mimetize alguns aspectos da doença, como as condições recorrentes e crônicas, é uma ferramenta útil para investigar o

mecanismo fisiopatológico do THB. Sabe-se que a atividade da bomba de sódio é reduzida em pacientes bipolares maníacos/depressivos (Looney e El-Mallakh, 1997), portanto o modelo animal de mania induzida por ouabaína teria potencial validade de constructo.

Por sua vez, o modelo de privação de sono paradoxal parece reproduzir melhor a psicopatologia do episódio maníaco, mimetizando a hiperatividade, a hipersexualidade e a agressividade dos pacientes maníacos (validade de face). Além disto, reproduz também várias alterações neuroquímicas como a hiperatividade dopaminérgica e hipoatividade do sistema opióide, como ocorre em pacientes durante a fase maníaca (validade de constructo). Esse modelo apresenta também boa validade preditiva, demonstrando uma redução de comportamentos tipo-maníacos após tratamento farmacológico (Armani *et al.*, 2012). Ressalta-se que os bloqueadores dopaminérgicos são os agentes de primeira escolha em o tratamento de mania aguda (Gessa *et al.*, 1995; Yatham *et al.*, 2002; Yatham *et al.*, 2005). Mais ainda, as alterações causadas por privação de sono não são induzidas por drogas, evitando a questão de interação farmacocinética entre o psicoestimulante e a droga teste e a limitação das alterações neurobiológicas ficarem restritas ao mecanismo de ação da droga psicoestimulante (p.ex. sistema dopaminérgico ou glutamatérgico). Além disso, estes animais apresentam maior latência de sono após a privação de sono, o que é diminuída por algumas drogas com atividade antimaníaca (como o lítio, por exemplo), tornando este teste mais interessante, uma vez que alterações de sono estão relacionadas com o desenvolvimento de comportamento maníaco (Gessa *et al.*, 1995) e a privação de sono parece desencadear episódios maníacos em pacientes com THB (Colombo *et al.*, 1999). A privação de sono paradoxal está relacionado com várias alterações neuroquímicas, como um "down-regulation" da expressão da enzima tirosina hidroxilase na substância negra pars compacta, diminuição da neurotransmissão dopaminérgica na substância negra pars compacta e no estriado (Lima *et al.*, 2012), aumento da expressão de receptores D2 no estriado (Lima *et al.*, 2007), além de uma supersensibilidade nos receptores dopaminérgicos (Tufik *et al.*, 1978).

Utilizar a atividade como um parâmetro central em modelos animais para o estudo da mania tem algumas limitações (Harrison-Read, 2009; Young *et al.*,

2011). A primeira delas é, como medida geral de comportamento, a atividade locomotora é usada em vários outros modelos animais de doenças e testes de "screening" de drogas, tais como modelos animal de esquizofrenia e dependência de drogas de abuso e na pesquisa de novos anti-psicóticos (Pereira *et al.*, 2011; Young *et al.*, 2011). A segunda limitação seria que o aumento da atividade locomotora também é observado em um modelo animal de depressão (bulbectomia olfatória), mostrando que a hiperatividade não está exclusivamente relacionada a estados emocionais exacerbados (Grønli *et al.*, 2005; Song e Leonard, 2005). Por fim, episódios de mania podem acontecer sem hiperatividade notável (Young *et al.*, 2011). Como podemos ver, apesar do seu bom valor preditivo, a simples avaliação da locomoção pode ser um alvo inespecífico para o desenvolvimento de novas terapias farmacológicas ou para o estudo da neurobiologia da mania. Neste caso, é de grande importância avaliar um novo parâmetro nos modelos animais de mania já existentes na literatura.

### **1.5 Vocalização Ultrassônica (USV)**

Estudos mostram que ratos emitem diferentes tipos de vocalizações ultrassônicas (USV) em contextos variados, sendo que estas vocalizações podem servir como índices do estado subjetivo do animal e/ou como sinais em vários tipos de interações com outros ratos (Schwartzing *et al.*, 2007). USV de baixa frequência, geralmente nomeadas de 22 KHz, são expressas geralmente em situações aversivas, incluindo exposição ao perigo (Blanchard *et al.*, 1991; Blanchard *et al.*, 1992), postura social submissa (Thomas *et al.*, 1983), aprendizado de medo (choque nas patas) (Wöhr *et al.*, 2005; Borta *et al.*, 2006; Schwartzing *et al.*, 2007), aprendizado de esquiva ativa (Kaltwasser, 1990), durante "handling" aversivo e "air-puff" (Knapp e Pohorecky, 1995). Assume-se que essas chamadas refletem estados negativos relacionados a ansiedade e depressão, e podem servir como sinais de ameaça e pacificação ou sinais de perigo para coespecíficos (Jelen *et al.*, 2003; Sánchez, 2003; Wöhr e Schwartzing, 2010; Schwartzing e Wöhr, 2012).

USV de alta frequência, nomeadas de 50 KHz são normalmente emitidas em situações recompensadoras sociais e não sociais tais como acasalamento, brincadeiras entre os animais, durante a estimulação cerebral e após

administração de cocaína e apomorfina (Burgdorf *et al.*, 2000; Schwarting *et al.*, 2007; Burgdorf *et al.*, 2008; Williams e Undieh, 2010; Maier *et al.*, 2012).

Foi demonstrado que ratos tratados com AMP apresentam um aumento do número de USV de alta frequência (50kHz), que pode ser relacionado com comportamento normal frente a estímulos reforçadores positivos (Burgdorf *et al.*, 2001; Natusch e Schwarting, 2010; Wöhr e Schwarting, 2013). Com base nisso, Pereira e colaboradores (2014), pela primeira vez tentaram correlacionar o número de USV de alta frequência e comportamento tipo maníaco em animais. Este aumento da vocalização poderia ser relacionado com o aumento do "afeto positivo" e/ou a taquilalia presente nos pacientes na fase maníaca. Os dados obtidos no estudo demonstraram que o tratamento com lítio (100 mg/kg) e tamoxifeno (1 mg/kg) foram capazes de inibir as vocalizações de alta frequência aumentadas em ratos tratados com AMP (Pereira *et al.*, 2014).

Portanto, as USV de alta frequência parecem ser um bom marcador comportamental para o estudo da mania.

## **2. JUSTIFICATIVA**

Com base na gravidade e danos sociais e emocionais resultantes do THB torna-se indispensável o aprofundamento do estudo dos modelos animais de mania, bem como um refinamento destes modelos. Sendo assim, correlacionar a USV com outros modelos animais de mania já estabelecidos na literatura traria mais um parâmetro para avaliação do comportamento tipo-maníaco e de potenciais drogas antimaníacas.

## **3. OBJETIVOS**

### **3.1 Objetivo Geral**

O objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade locomotora, exploratória e a vocalização ultrassônica em diferentes modelos animais de mania e validar mais um marcador comportamental nos modelos de mania já existentes na literatura.

### **3.2 Objetivos Específicos**

3.2.1) Induzir modelos animais de mania por:

- Lisdexanfetamina;
- Quetamina racêmica/ Quetamina-S;
- Ouabaína;
- Privação de sono 24 horas e 72 horas;

em ratos Wistar machos para avaliação de padrões comportamentais de:

- locomoção e exploração no campo aberto;
- vocalização ultrassônica;

3.2.2) Avaliar a reversão do comportamento (aumento da hiperatividade e do aumento da USV) por tratamento com carbonato de lítio nos modelos de mania induzidos por:

- Lisdexanfetamina;
- Privação de sono (24 horas).

#### **4. MATERIAIS E MÉTODOS**

##### **4.1 Animais e Ambientes de Criação**

Foram utilizados ratos Wistar machos pesando entre 280-300g, provenientes do biotério do setor de Ciências Biológicas da UFPR. Os animais foram mantidos em caixas plásticas (60 X 25 X 25 cm), 5 animais por caixa, sob temperatura controlada ( $22\pm 3$  °C), ciclo claro/escuro de 12:12 (luzes acesas às 7h e apagadas às 19h) e água e ração *ad libitum*. Todos os experimentos foram aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade Federal do Paraná sob o número CEUA #854 e este em conformidade com a Lei Arouca (#11.794/08).

##### **4.2 Cirurgia de Implantação de Cânula**

Os animais foram anestesiados com equitesin (45,7 ml água destilada; 4,25 g hidrato de cloral; 2,13 g de sulfato de magnésio; 11,5 ml de álcool; 0,972 g tiopental e 42,8 ml propilenoglicol), por via intraperitoneal (i.p.). Após um corte médio no escalpo do animal e a perfuração do crânio, uma cânula de calibre 30G, medindo 15 mm foi implantada sobre o crânio de acordo com as seguintes coordenadas: ântero-posterior (AP): -0,9 mm do bregma; mediolateral (ML): + 1,5 mm de da linha média; dorsoventral (DV): - 3,0 mm do crânio (PAXINOS & WATSON, 2005). A cânula foi fixada ao crânio por acrílico

dissolvido em líquido polimerizável, formando um “capacete” no crânio do animal. Os testes comportamentais foram realizados 4 dias após a cirurgia.

### 4.3 Drogas

As drogas utilizadas foram:

- Lisdexanfetamina (LDX): (Vevanse, Shire, Brasil) foi diluída em tween 80 e salina e administrado via intraperitoneal (i.p.) ou subcutânea (s.c.) (quando os animais foram tratados previamente por carbonato de lítio por via i.p.) na dose de 10 mg/kg.
- Quetamina racêmica (Quet): (Vetnil, Brasil) dissolvida em salina e foi administrada por via i.p. na dose de 25 mg/kg.
- Quetamina (Quet-S): (Cristália, Brasil) dissolvida em salina e foi administrada por via i.p. na dose de 25 mg/kg.
- Ouabaína (OUA): (Sigma Chemical, USA) dissolvida em líquido cefalorraquidiano artificial (LCR) administrada por via ICV, 5µl de ouabaína a  $10^{-2}$  M.
- Carbonato de Lítio (Li): (Eurofarma, Brasil) dissolvido em tween 80 e salina, ajustado o pH para 7,4 e foi administrado por via i.p. nas doses de 25 mg/kg, 50 mg/kg e 100 mg/kg.

### 4.4 Testes

#### 4.4.1 Atividade Locomotora no Campo Aberto

O teste foi realizado em uma caixa de acrílico (40 x 40 x 40 cm) (Fig. 1a) em três dias consecutivos. No primeiro dia os animais foram expostos ao campo aberto forrado com cepilho por 20 ou 10 minutos (dependendo da duração da sessão teste) sem administração de nenhuma droga ou qualquer outra manipulação. No segundo dia eles foram expostos ao mesmo ambiente, pelo mesmo tempo, recebendo, todos, uma injeção de veículo i.p., s.c. ou ICV, no tempo determinado de ação de cada droga antes do teste (com exceção do grupo privação de sono que foi colocado nas caixas para privar de sono pelo tempo determinado). Somente no dia 3 (teste) os animais foram previamente tratados com as drogas testes (LDX, Quet, Quet-S, OUA) ou veículo antes do teste, cada droga com sua particularidade de tempo. A atividade locomotora e exploratória foi gravada por uma câmera e posteriormente analisada cega e

manualmente por um experimentador treinado. Para análise da atividade locomotora, no vídeo, a caixa foi dividida em 9 quadrantes de  $\approx 13,3 \text{ cm}^2$  e foi contado o número de quadrantes cruzados durante todo o experimento. Para o comportamento exploratório foi avaliado o "rearing", o número de vezes que o animal levantou e ficou apoiado somente nas patas traseiras.

#### 4.4.2 Análise da Vocalização Ultrassônica

Os ratos foram separados em grupos de 5 animais por caixa, eram levados a um novo ambiente e aclimatados ali durante 4 a 5 dias para ambientação até o início de qualquer teste. Posteriormente, os animais passaram por uma primeira exposição ao teste de vocalização (em caixas semelhante a caixa moradia) para que fosse feita uma randomização estratificada destes, de acordo com a média de vocalização de cada animal nesta sessão. Dentro de um grupo de animais, normalmente existem aqueles que vocalizam pouco (aproximadamente 20 vocalizações por minuto), os que vocalizam medianamente (aproximadamente 40) e os que vocalizam muito (em média 70 vocalizações por minuto) (Portfors, 2007; Sadananda *et al.*, 2008; Wöhr *et al.*, 2008).

Um microfone apropriado para captura de vocalização ultrasônica, o UltraSoundGate Condenser Microphone CM16 (Avisoft Bioacoustics, Berlin, Alemanha) foi colocado a 45 cm do chão da caixa (moradia ou caixa de acrílico). Este microfone é sensível a frequências entre 15-180 kHz, sendo que a vocalização do animal foi gravada pelo programa Avisoft RECORDER (versão 2.95; Avisoft Bioacoustics) (Fig. 1b) e posteriormente analisada. Na sequência, a gravação foi transferida para o software Avisoft SASLab Pro (version 4.34; Avisoft Bioacoustics), que produz um espectrograma (com frequência de 488 Hz e resolução de 0,512 ms) a partir da gravação das vocalizações emitidas pelo animal, sendo posteriormente analisado manualmente por um experimentador treinado. Existem dois subtipos de USV (50-kHz), as do tipo "flat" (que são normalmente associadas ao comportamento exploratório do animal) e as do tipo "modulado" - trill, step-calls e mixed (que estão mais relacionadas à estímulos apetitivos e comportamento social dos animais) (Fig. 2a). Por outro lado, situações

aversivas aumentam as vocalizações de baixa frequência (22-kHz) (Fig. 2b). As vocalizações foram classificadas de acordo com Pereira e colaboradores, 2014.

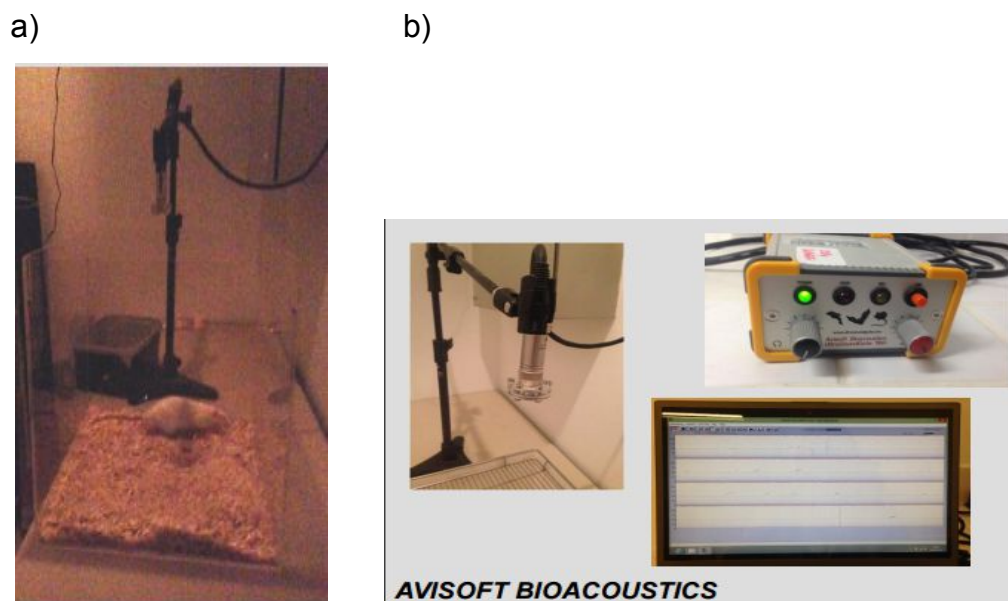


Figura 1 - Exemplo de objetos utilizados nos testes. a) caixa de atividade locomotora; b) aparelho de vocalização ultrassônica.

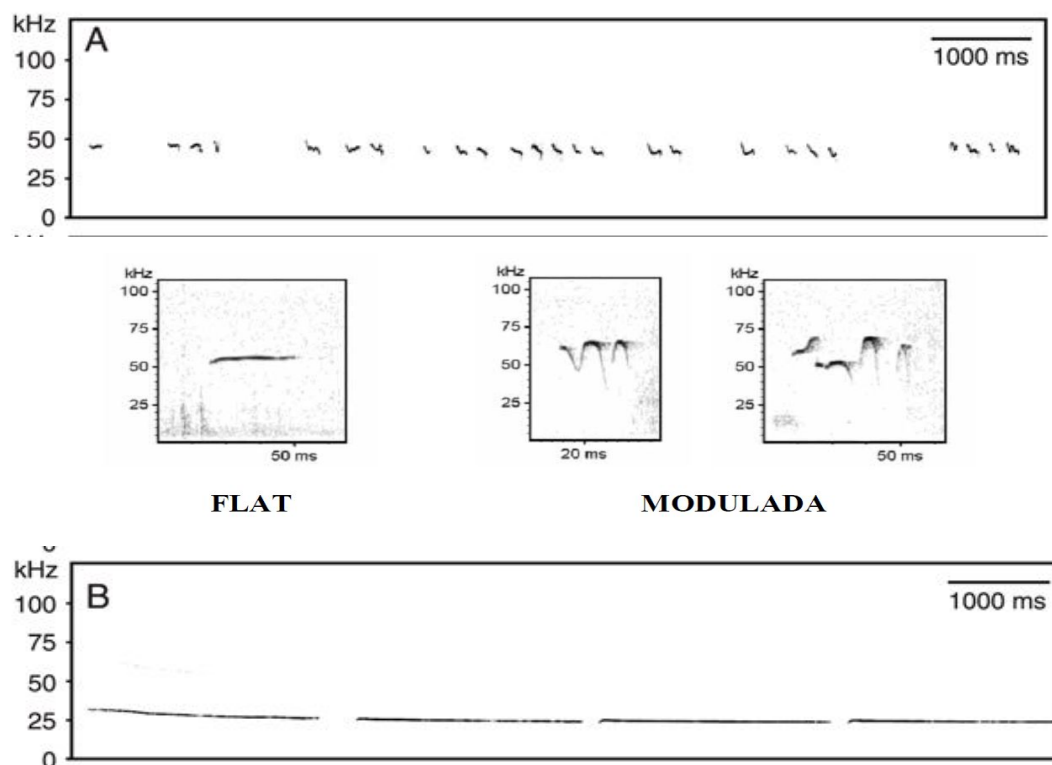


Figura 2 - Exemplo de vocalizações ultrassônicas (USV). a) USV de alta frequência (50-kHz) e seus subtipos; b) USV de baixa frequência (22-kHz).

#### 4.4.3 Privação de Sono

Cada animal privado de sono foi colocado em uma plataforma cilíndrica de 6,5 cm de diâmetro em uma caixa (23×23×30 cm) cercado por água a 1 cm abaixo da plataforma (Lima *et al.*, 2008) por um período de 24 horas ou 72 horas (Fig. 3). No início de cada episódio de sono REM, o animal sofre de uma perda do tônus muscular e cai na água, sendo assim despertado. Quando plataformas deste tamanho são utilizadas, o sono REM é completamente suprimido (Machado *et al.*, 2004). Durante o estudo, a sala experimental foi mantida a condições controladas ( $22 \pm 2$  ° C, 12 h ciclo claro / escuro, luzes iniciando as 07:00 a.m.). O grupo controle foi mantido em ambiente diferente dos ratos privados de sono REM para evitar influência das vocalizações. Ração e água foram fornecidos *ad libitum*, colocando pellets de comida e garrafas de água em uma grade localizada no topo da caixa.

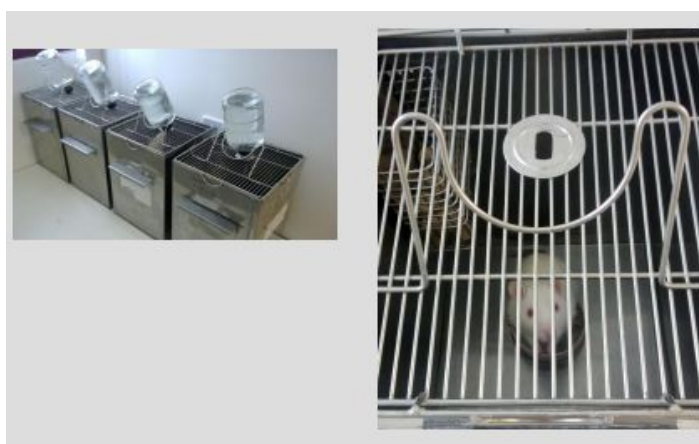


Figura 3- Caixas de privação de sono.

### 4.5 **Desenho experimental**

*4.5.1 Avaliação da atividade locomotora, exploratória e da vocalização ultrassônica induzida por Lisdexanfetamina e da reversão do comportamento por tratamento agudo por Carbonato de Lítio.*

Os animais foram mantidos no ratário de 4 a 7 dias para ambientação, e passaram por uma avaliação prévia (screening) da USV para randomizar os grupos, conforme descrito anteriormente no item 4.4.2. Os animais foram expostos a caixa de atividade locomotora em três dias consecutivos (vide protocolo item 4.4.1), sendo que no último dia foi administrado as drogas testes. Para o experimento 1, foi administrado LDX ou veículo 1 hora antes do

início do teste (LDX, n=8; Sal, n=5). Para o experimento 2, foi administrado carbonato de lítio (100 mg/kg) ou salina, 20 minutos antes da lisdexanfetamina ou salina e 1 hora depois da administração da lisdexanfetamina ou salina, os animais foram colocados na caixa teste (Sal+Sal, n=5; Sal+LDX, n=7; Li+SAL, n=6; Li+LDX, n=7). Nesses experimentos, simultaneamente, foi realizada a gravação da vocalização ultrassônica durante 20 minutos, conforme descrito anteriormente no item 4.4.2. Apenas os dados desse último dia de exposição a caixa foram analisados e computados para a posterior análise estatística. Após o término do experimento os animais foram eutanasiados.

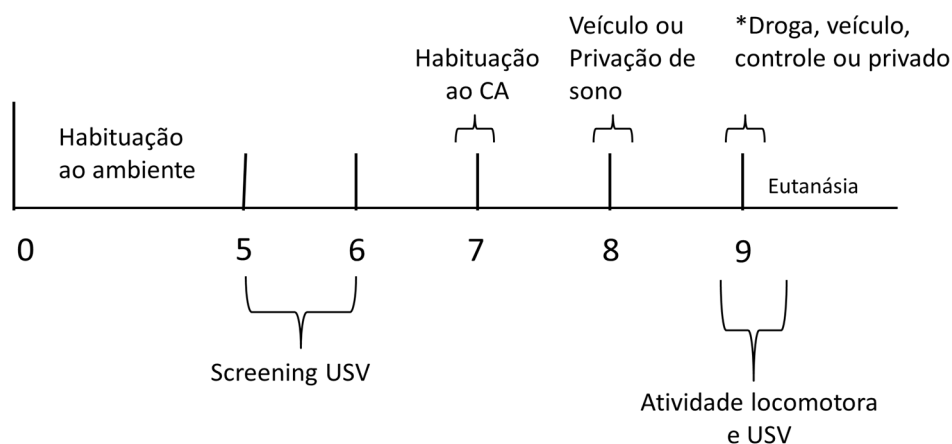


Figura 4: Esquema geral ilustrativo dos protocolos experimentais.

#### 4.5.2 Avaliação da atividade locomotora, exploratória e da vocalização ultrassônica induzida por Quetamina Racêmica e Quetamina-S.

Para o experimento 3, os animais foram mantidos no ratário de 4 a 7 dias para ambientação, e passaram por uma avaliação prévia (screening) da USV para randomizar os grupos, conforme descrito anteriormente no item 4.4.2. Os animais foram expostos a caixa de atividade locomotora em três dias consecutivos (vide protocolo item 4.4.1), sendo que no último dia foi administrado a quetamina racêmica, a quetamina-S ou veículo imediatamente antes do início do teste. Nesse experimento, simultaneamente, foi realizada a gravação da vocalização ultrassônica durante 10 minutos, conforme descrito anteriormente no item 4.4.2. Apenas os dados desse último dia de exposição a caixa foram analisados e computados para a posterior análise estatística. Após o término do experimento os animais foram eutanasiados (Quet, n=10; Quet-S, n=7; Sal, n=7).

#### *4.5.3 Avaliação da atividade locomotora, exploratória e da vocalização ultrassônica em ratos induzida por privação de sono REM por 24 horas, 72 horas e da reversão do comportamento por tratamento agudo por Carbonato de Lítio.*

Os animais foram mantidos no ratário de 4 a 7 dias para ambientação, e passaram por uma avaliação prévia (screening) da USV para randomizar os grupos, conforme descrito anteriormente no item 4.4.2. Para o experimento 4 e 6, os animais foram expostos à caixa da atividade locomotora, no dia seguinte foram colocados na caixa de privação de sono (ou deixados em sua caixa moradia isolados) por 24 horas (P24, n= 10; Controle, n=9 ) ou 72 horas (P72, n= 8; Controle, n=8). (vide protocolo item 4.4.3) e imediatamente após o fim da privação de sono, os animais foram novamente expostos à caixa de atividade locomotora para realização do teste . Para o experimento 6, todos animais receberam uma injeção de salina uma hora antes de serem expostos a caixa de atividade locomotora. No dia seguinte foram colocados na caixa de privação de sono ou deixado em suas gaiolas normais isoladamente por 24 horas (vide protocolo item 4.4.3). Uma hora antes do término da privação de sono (ou controle), eles foram tratados com carbonato de lítio (25 mg/kg, 50 mg/kg ou 100 mg/kg) ou salina e então os animais foram novamente expostos à caixa de atividade locomotora para realização do teste (Controle+Sal, n=5; Controle+Li 100, n=5; Controle+Li 50, n=5; Controle+Li 25, n=5; P24+Sal, n=5; P24+Li 100, n=5; P24+Li 50, n=5; P24+Li 25, n=5). Nesse experimento, simultaneamente, foi realizada a gravação da vocalização ultrassônica durante 20 minutos, conforme descrito anteriormente no item 4.4.2. Apenas os dados desse ultimo dia de exposição a caixa foram analisados e computados para posterior análise estatística. Após o término do experimento os animais foram eutanasiados.

#### *4.5.4 Avaliação da atividade locomotora, exploratória e da vocalização ultrassônica induzida por Ouabaína 10<sup>-2</sup>M.*

Para o experimento 7, os animais foram mantidos no ratário de 4 a 7 dias para ambientação, e passaram por uma avaliação prévia (screening) da USV para randomizar os grupos, conforme descrito anteriormente no item 4.4.2. Foi realizada a cirurgia de implantação de cânula e após 4 dias de recuperação os animais foram expostos a caixa de atividade locomotora por

três dias consecutivos (vide protocolo item 4.4.1), sendo que no último dia foi administrado 5 µl de ouabaína a 10<sup>-2</sup> M ou LCR por via intracerebroventricular 30 segundos antes do início do teste. Nesse experimento, simultaneamente, foi realizada a gravação da vocalização ultrassônica durante 10 minutos, conforme descrito anteriormente no item 4.4.2. Apenas os dados desse último dia de exposição a caixa foram analisados e computados para a posterior análise estatística. Após o término do experimento os animais foram eutanasiados (OUA 10<sup>-2</sup>, n= 6; LCR, n= 6).

#### **4.6 Análise Estatística**

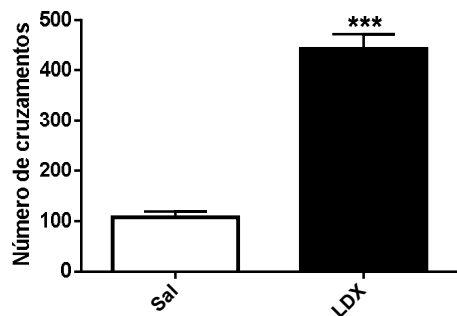
Os dados foram analisados por ANOVA de duas vias com pos-hoc de Newman-Keuls (Experimentos 2, 3 e 5) e teste t de Student independente (Experimentos 1, 4, 6 e 7). Diferenças foram consideradas estatisticamente significativas quando  $p < 0.05$ . Os dados foram expressos como média ± erro padrão da média (5-10 animais por grupo).

### **5. RESULTADOS**

#### *5.1 Experimento 1: A Lisdexanfetamina aumentou a atividade locomotora, exploratória e a vocalização ultrassônica em ratos.*

Foi observada diferença estatística significativa na atividade locomotora entre os grupos ( $t = -8.85$ ,  $p < 0.001$ ; Fig. 5a), demonstrando que LDX levou ao aumento esperado na atividade locomotora (vs. Sal). O grupo LXD também aumentou o número de "rearing" comparado ao grupo salina ( $t = -3.73$ ,  $p < 0.01$ ; Fig. 5b). Foi observado também um aumento significativo nas vocalizações ultrassônicas de alta frequência (50 kHz) entre os grupos ( $t = -4.35$ ,  $p < 0.001$ ; Fig. 6a). Os resultados não demonstraram diferenças estatísticas na porcentagem dos diferentes tipos de vocalização [flat ( $t = 1.66$ ,  $p = 0.12$ ); mixed ( $t = -0.23$ ,  $p = 0.82$ ); step-calls ( $t = 0.57$ ,  $p = 0.061$ ); trill ( $t = 1.40$ ,  $p = 0.18$ ), Fig 6b.

a) Atividade Locomotora



b) Rearing

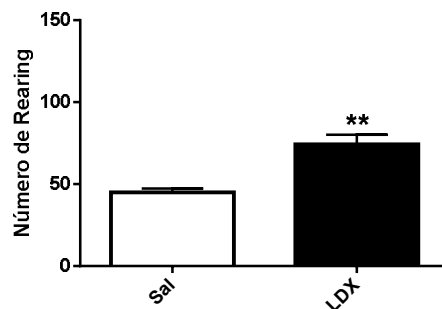
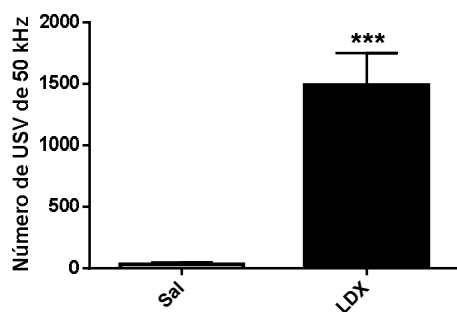


Figura 5 - Efeitos da lisdexanfetamina (10 mg/kg) na atividade locomotora e no comportamento exploratório em ratos. a) Atividade Locomotora (número de cruzamentos); b) Atividade exploratória (número de rearings). Abreviaturas: Sal - Salina a 0.9%; LDX - lisdexanfetamina. Os dados estão expressos em média  $\pm$  erro padrão da média, LDX, n=8; Sal, n=5. \*\*\*  $p < 0.001$  vs. Sal; \*\*  $p < 0.02$ .

a) Número total de USV



b) Porcentagem dos tipos de USV

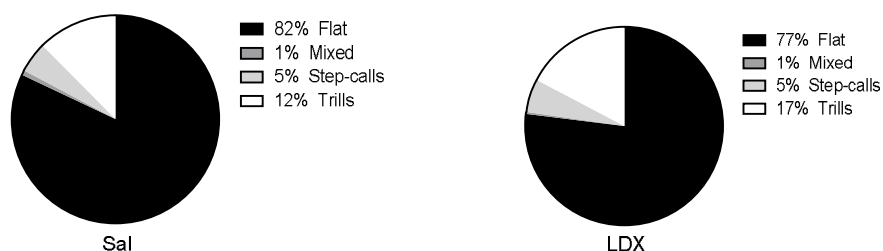
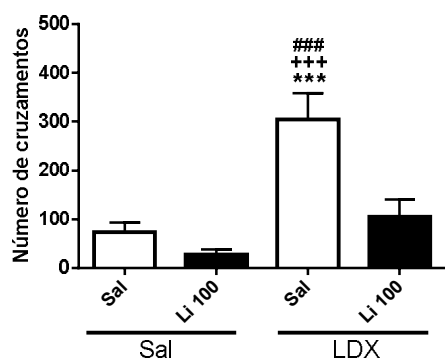


Figura 6 - Efeitos da lisdexanfetamina (10 mg/kg) nas vocalizações ultrassônicas de 50-kHz em ratos. a) Número total de vocalizações ultrassônicas de 50 kHz, b) Porcentagem dos tipos de vocalizações ultrassônicas de 50 kHz. Abreviaturas: Sal - Salina a 0.9%; LDX - lisdexanfetamina; USV - Vocalizações ultrassônicas. Os dados estão expressos em média  $\pm$  erro padrão da média, LDX, n=8; Sal, n=5. \*\*\*  $p < 0.001$  vs. Sal.

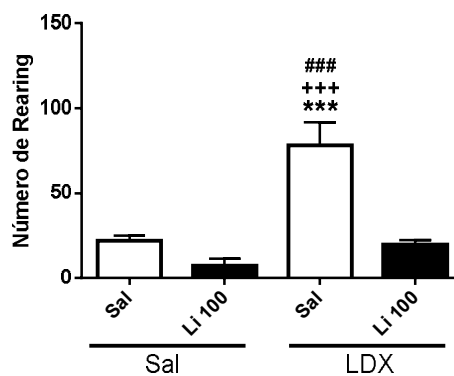
*5.2 Experimento 2: O carbonato de lítio reverteu o aumento da atividade locomotora, exploratória e o número de vocalizações ultrassônicas induzidas por lisdexanfetamina.*

Foi observada diferença estatística significativa na atividade locomotora entre os grupos ( $F_{3,21}=11.40$ ,  $p < 0.001$ ; Fig. 7a). O teste post-hoc demonstrou que o tratamento com salina + lisdexanfetamina (Sal+LDX) levou ao aumento esperado na atividade locomotora (vs. Sal+Sal:  $p < 0.001$ ) e o tratamento com carbonato de lítio (Li 100+LDX) reverteu esse aumento (vs. Sal+LDX:  $p < 0,001$ ). O grupo Sal+LXD também aumentou o número de "rearings" ( $F_{3,21}=15.00$ ,  $p < 0.001$ ; Fig. 7b) e também houve um aumento significativo nas vocalizações ultrassônicas de alta frequência (50 kHz) entre os grupos ( $F_{3,21}=10.85$ ,  $p < 0.001$ ; Fig. 7c). O tratamento com carbonato de lítio também foi capaz de reverter esses aumentos (vs Sal+Sal:  $p < 0.01$ ). Os resultados não demonstraram diferenças estatísticas na porcentagem dos diferentes tipos de vocalização (flat, mixed, step-calls and trill) ( $p > 0.05$ ), Fig 8.

a) Atividade Locomotora



b) Rearing



c) Número total de USV

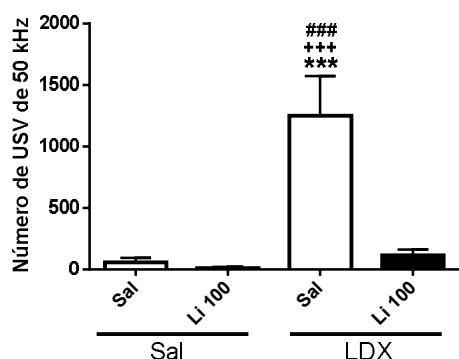


Figura 7 - Efeitos do tratamento por carbonato de lítio (100 mg/kg) no aumento da atividade locomotora, comportamento exploratório e das vocalizações ultrassônicas induzidas por lisdexanfetamina (10 mg/kg) em ratos. a) Atividade Locomotora (número de cruzamentos); b) Atividade exploratória (número de rearings), c) Número total de vocalizações ultrassônicas de 50 kHz. Abreviaturas: Sal - Salina a 0.9%; LDX - lisdexanfetamina; Li 100 - Carbonato de lítio (100 mg/kg); USV - Vocalizações ultrassônicas. Os dados estão expressos em média  $\pm$  erro padrão da média, Sal+Sal, n=5; Sal+LDX, n=7; Li+SAL, n=6; Li+LDX, n=7. \*\*\*  $p < 0.001$  Sal-LDX vs. Sal-Sal; +++  $p < 0.001$  Sal-LDX vs Li 100-Sal; ###  $p < 0.001$  Sal-LDX vs Li 100-LDX.

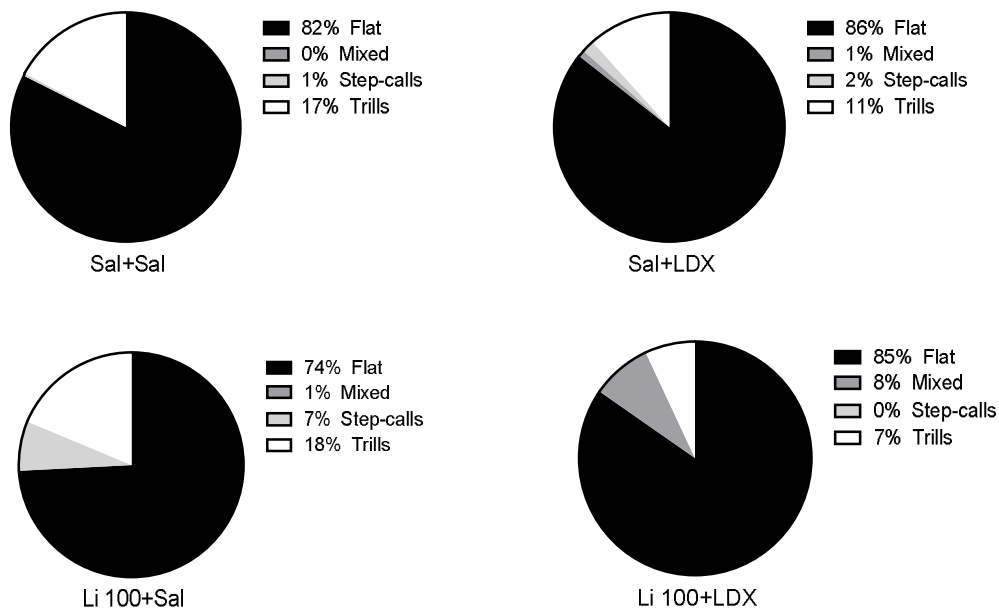
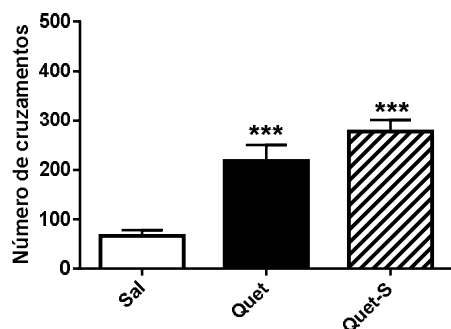


Figura 8 - Efeitos do tratamento por carbonato de lítio (100 mg/kg) na porcentagem do aumento das vocalizações ultrassônicas de 50-kHz induzidas por lisdexanfetamina (10 mg/kg) em ratos. Abreviaturas: Sal - Salina a 0.9%; LDX - lisdexanfetamina; Li 100 - Carbonato de lítio (100 mg/kg). Os dados estão expressos em média  $\pm$  erro padrão da média, Sal+Sal, n=5; Sal+LDX, n=7; Li+SAL, n=6; Li+LDX, n=7. \*\*\* p<0.001 Sal-LDX vs. Sal-Sal; \*\*\* p<0.001 Sal-LDX vs Li 100-Sal; ###p<0.001 Sal-LDX vs Li 100-LDX.

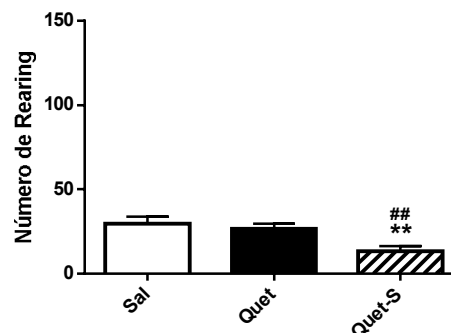
### 5.3 Experimento 3: A quetamina racêmica e a quetamina-S aumentaram a atividade locomotora, mas não a vocalização ultrassônica em ratos.

Foi observada diferença estatística significativa na atividade locomotora entre os grupos ( $F_{2,21}=14.10$ ,  $p < 0.001$ ; Fig. 9a). O teste post-hoc demonstrou que tanto a Quet quanto a Quet-S levaram ao aumento esperado na atividade locomotora (vs. Sal:  $p < 0.001$ ). O grupo Quet-S diminuiu o número de "rearing" comparado aos grupos Quet e salina ( $F_{2,21} = 5.64$ ,  $p < 0.01$ ; Fig. 9b), e não há diferença no número de "rearing" entre os grupos Quet e salina ( $p = 0.28$ ; Fig. 9b). Não houve diferença estatística significativa no número total de vocalizações ultrassônicas de 50 kHz entre os grupos ( $F_{2,21}=1.14$ ,  $p=0,33$ ; Fig. 9c).

a) Atividade Locomotora



b) Rearing



c) Número total de USV

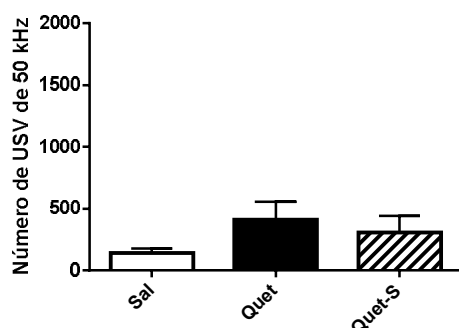


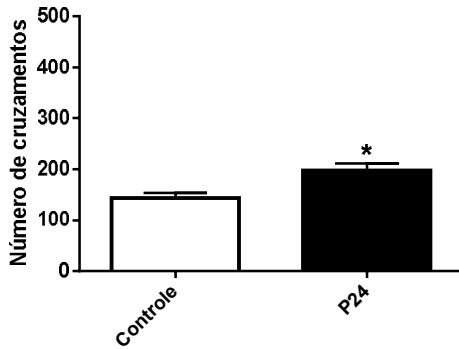
Figura 9 - Efeitos da quetamina racêmica (25 mg/kg) e da quetamina-S (25 mg/kg) na atividade locomotora, a 0.9%; Quet- quetamina racêmica; Quet-S - quetamina-S; USV - Vocalizações ultrassônicas. Os dados exploratória e nas vocalizações ultrassônicas de 50-kHz em ratos. a) Atividade Locomotora (número de cruzamentos); b) Atividade exploratória (número de rearings); c) Número total de vocalizações ultrassônicas de 50 kHz. Abreviaturas: Sal - Salina estão expressos em média  $\pm$  erro padrão da média, Quet, n=10; Quet-S, n=7; Sal, n=7. \*\*\*  $p < 0,001$  vs. Sal; ## $p < 0,01$  vs Quet.

#### 5.4 Experimento 4: A privação de sono por 24 horas aumenta a atividade locomotora, exploratória e a vocalização ultrassônica em ratos.

Foi observada diferença estatística significativa na atividade locomotora entre os grupos ( $t = -2.41$ ,  $p < 0.05$ ; Fig. 10a), demonstrando que a privação de sono por 24 horas levou ao aumento esperado na atividade locomotora (vs. Controle). O grupo privado de sono também aumentou o número de "rearings" comparado ao grupo controle ( $t = -5.67$ ,  $p < 0.001$ ; Fig. 10b). Foi observado um aumento significativo nas vocalizações ultrassônicas de alta frequência (50 kHz) entre os grupos ( $t = -3.03$ ,  $p < 0,001$ ; Fig. 11a). Os resultados demonstraram diferenças estatísticas na porcentagem das vocalizações ultrassônica do tipo frequência modulada [mixed ( $t = -0.63$ ,  $p < 0.02$ ); step-calls

( $t = -3.27$ ,  $p < 0.01$ ); trill ( $t = -2.63$ ,  $p < 0.02$ ),], porém não houve alteração na porcentagem das vocalizações do tipo flat ( $t = 0.56$ ,  $p = 0.57$ ), Fig. 11b.

a) Atividade Locomotora



b) Rearing

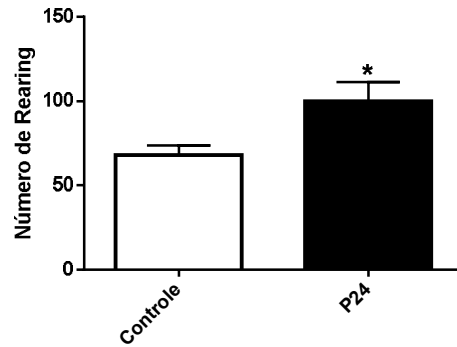
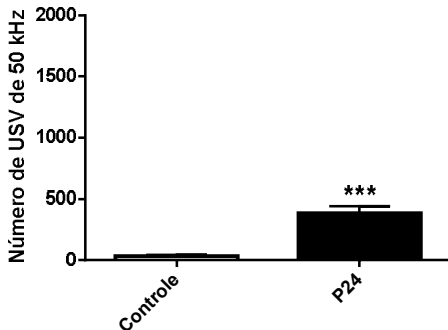


Figura 10 - Efeitos da privação de sono por 24 horas na atividade locomotora e exploratória em ratos.

a) Atividade Locomotora (número de cruzamentos); b) Atividade exploratória (número de rearings). Abreviaturas: P24- privação de sono por 24 horas. Os dados estão expressos em média  $\pm$  erro padrão da média, P24,  $n = 10$ ; Controle,  $n = 9$ . \*  $p < 0.05$  vs. controle.

a) Número total de USV



b) Porcentagem dos tipos de USV

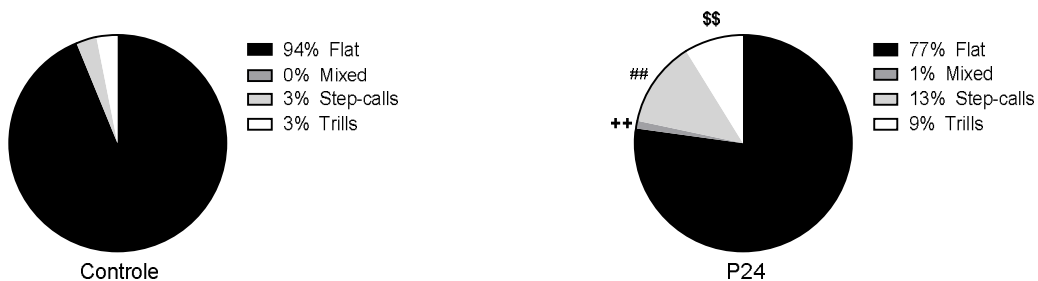
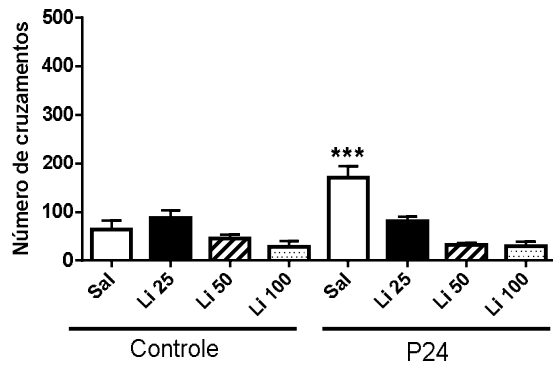


Figura 11 - Efeitos da privação de sono por 24 horas nas vocalizações ultrassônicas em ratos. a) Número total de vocalizações ultrassônicas de 50 kHz, b) Porcentagem dos tipos de vocalizações ultrassônicas de 50 kHz. Abreviaturas: P24- privação de sono por 24 horas; USV - vocalizações ultrassônicas. Os dados estão expressos em média  $\pm$  erro padrão da média, P24,  $n = 10$ ; Controle,  $n = 9$ . \*\*\*  $p < 0.001$  vs. controle; \$\$\$  $p < 0.02$  P24 trill vs Controle trill; ##  $p < 0.01$  p24 step-calls vs. Controle step-calls; ++  $p < 0.02$  P24 mixed vs. Controle mixed.

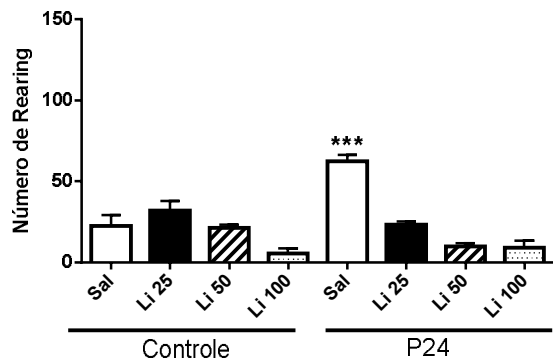
*5.5 Experimento 5: O tratamento com carbonato de lítio reverteu o aumento da atividade locomotora, exploratória e da vocalização ultrassônica em ratos submetidos a privação de sono por 24 horas*

Foi observada diferença estatística significativa na atividade locomotora entre os grupos após o tratamento com carbonato de lítio nas doses de 100 mg/kg, 50 mg/kg e 25 mg/kg ( $F_{3,32}=8.10$ ,  $p < 0.001$ ; Fig. 12a). O teste post-hoc demonstrou que após o tratamento, todas as doses foram capazes de reverter o aumento da atividade locomotora induzida por privação de sono por 24 horas ( $p < 0.001$ ). O tratamento com carbonato de lítio nas doses de 100 mg/kg, 50 mg/kg e 25 mg/kg também demonstraram diminuir o aumento no número de "rearing" induzido por P24 comparado ao grupo controle ( $p < 0.001$ ; Fig. 12b). Em relação ao aumento das vocalizações ultrassônicas de alta frequência (50 kHz) induzido por P24, somente as doses de 100 mg/kg e 50 mg/kg foram capazes de reverter esse parâmetro ( $F_{3,32}=8.53$ ,  $p < 0.001$ ; Fig. 12c). A dose de 25 mg/kg não foi capaz de reverter esse aumento das USV induzido por P24 vs. Controle-Sal ( $p < 0.05$ ), demonstrando uma emissão maior de vocalizações ultrassônicas de 50-kHz que este grupo. Porém, esta dose parece reverter parcialmente a emissão dessas vocalizações, pois demonstrou reduzir as vocalizações ultrassônicas de 50-kHz comparado ao animais privados de sono por 24 horas tratados com salina (P24-Sal vs. P24-Li 25;  $p < 0.02$ ; Fig. 12c). Em relação a emissão dos diferentes tipos de vocalizações ultrassônicas de 50-kHz, observamos um aumento significativo nas vocalizações do tipo step-call nos animais privados de sono por 24 horas tratados com salina em comparação aos outros grupos, o tratamento por carbonato de lítio na dose de 100 mg/kg parece reverter esse aumento da vocalização tipo step-call ( $p < 0.05$ , Fig. 13).

a) Atividade Locomotora



b) Rearing



c) Número total de USV

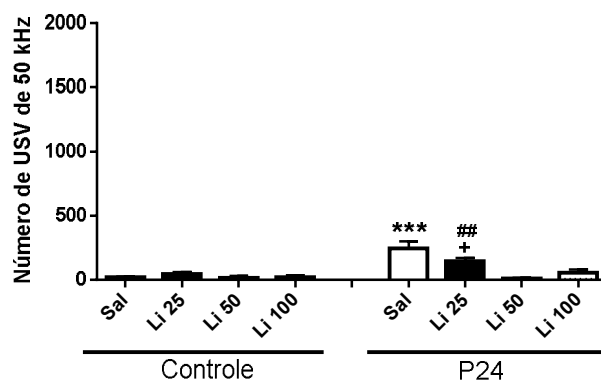


Figura 12 - Efeitos do tratamento por carbonato de lítio no aumento da atividade locomotora e exploratória induzida por privação de sono por 24 horas em ratos. a) Atividade Locomotora (número de cruzamentos); b) Número de Rearing; c) Número total de vocalizações ultrassônicas de 50 kHz. Abreviaturas: P24- privação de sono por 24 horas; USV - vocalizações ultrassônicas Li 100 - Carbonato de lítio (100 mg/kg) ; Li 50 - Carbonato de lítio (50 mg/kg) ; Li 25 - Carbonato de lítio (25 mg/kg). Os dados estão expressos em média  $\pm$  erro padrão da média, Controle+Sal, n=5; Controle+Li 100, n=5; Controle+Li 50, n=5; Controle+Li 25, n=5; P24+Sal, n=5; P24+Li 100, n=5; P24+Li 50, n=5; P24+Li 25, n=5. \*\*\*  $p < 0.001$  P24-Sal vs. todos os grupos; + $p < 0.05$  P24-Li 25 vs. Controle-Sal; ## $p < 0.02$  P24-Li 25 vs. todos os grupos.

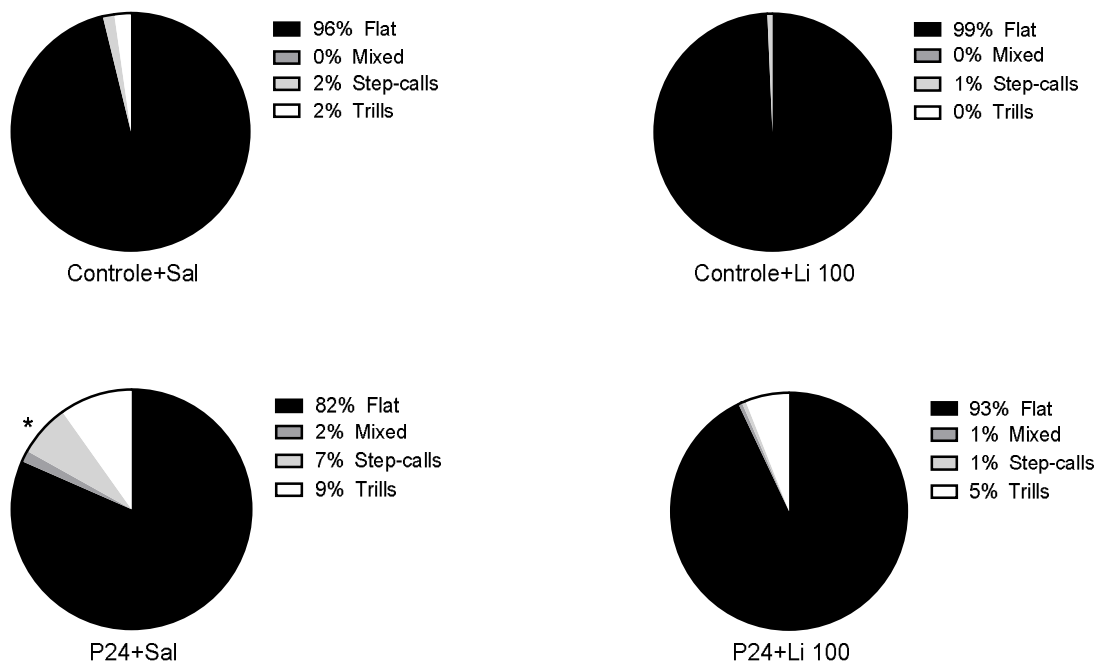
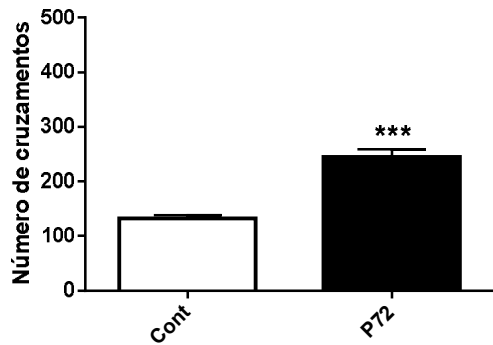


Figura 13 - Efeitos do tratamento por carbonato de lítio (100mg/kg) no aumento dos diferentes tipos de vocalizações ultrassônicas de 50-kHz induzidas por privação de sono por 24 horas em ratos. Abreviaturas: P24- privação de sono por 24 horas; USV - vocalizações ultrassônicas; Li 100 - Carbonato de lítio (100 mg/kg). Os dados estão expressos em média  $\pm$  erro padrão da média, Controle+Sal, n=5; Controle+Li 100, n=5; P24+Sal, n=5; P24+Li 100, n=5. \* $p < 0.05$  P24-Sal (step-call) vs. todos os grupos (step-call).

### 5.6 Experimento 6: A privação de sono por 72 horas aumenta a vocalização ultrassônica em ratos.

Foi observada diferença estatística significativa na atividade locomotora entre os grupos ( $t = 7.45$ ,  $p < 0.001$ ; Fig. 14a), demonstrando que a privação de sono por 72 horas (P72) levou ao aumento esperado na atividade locomotora (vs. Controle:  $p < 0.001$ ). O grupo P72 também aumentou o número de "rearing" comparado ao grupo controle ( $t = 7.04$ ,  $p < 0.001$ ; Fig. 14b). Foi observado um aumento significativo nas vocalizações ultrassônicas de alta frequência (50 kHz) entre os grupos ( $t = 4.52$ ,  $p < 0.001$ ; Fig. 15a). Os resultados demonstraram diferenças estatísticas na porcentagem apenas das vocalizações ultrassônica do tipo step-calls ( $t = 3.02$ ,  $p < 0.02$ ), porém não houve alteração na porcentagem das vocalizações dos tipo flat ( $t = 0.49$ ,  $p = 0.63$ ), mixed ( $t = 0.36$ ,  $p = 0.08$ ) e trill ( $t = 1.53$ ,  $p = 0.14$ ), Fig. 15b.

a) Atividade Locomotora



b) Rearing

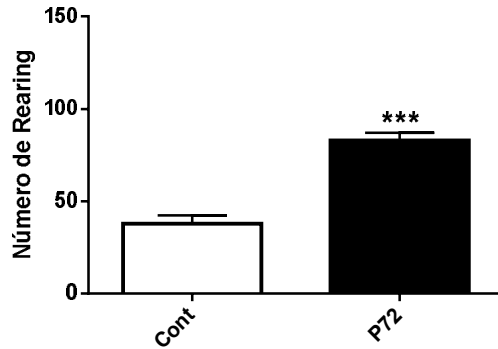
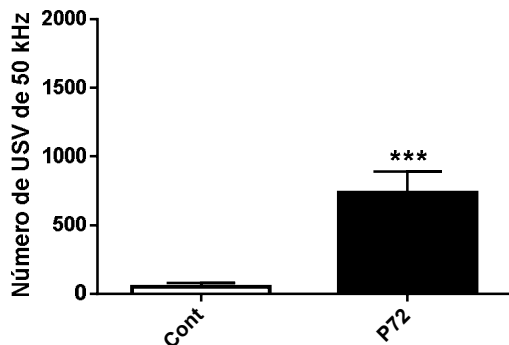


Figura 14 - Efeitos da privação de sono por 72 horas na atividade locomotora e exploratória em ratos. a) Atividade Locomotora (número de cruzamentos); b) Atividade exploratória (número de rearings). Abreviaturas: P72- privação de sono por 72 horas. Os dados estão expressos em média + erro padrão da média, P72, n= 8; Controle, n=8. \*\*\* p<0,001 vs. controle.

a) Número total de USV



b) Porcentagem dos tipos de USV

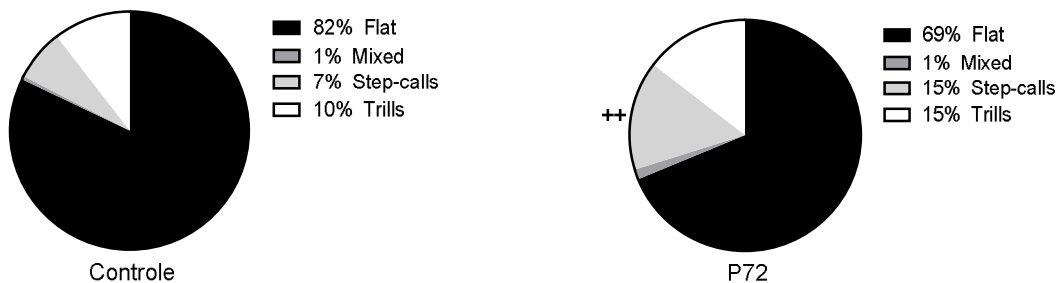
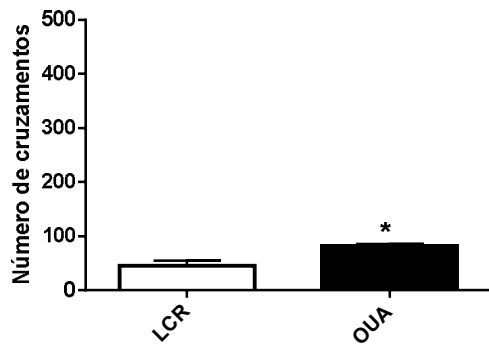


Figura 15 - Efeitos da privação de sono por 72 horas nas vocalizações ultrassônicas em ratos. a) Número total de vocalizações ultrassônicas de 50 kHz, b) Porcentagem dos tipos de vocalizações ultrassônicas de 50 kHz. Abreviaturas: P72- privação de sono por 72 horas; USV - vocalizações ultrassônicas. Os dados estão expressos em média + erro padrão da média. \*\*\* p<0.001 vs. controle; ++p<0.02 P72 step-calls vs. Controle step-calls.

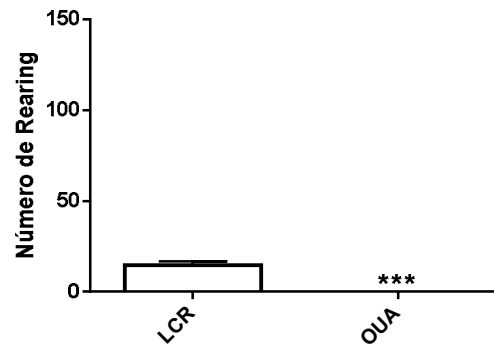
*5.7 Experimento 7: A ouabaína na concentração de  $10^{-2}M$  induz um quadro misto na atividade locomotora e nas vocalizações ultrassônica em ratos, aumentando as emissões das vocalizações do tipo apetitivas (50 kHz) quando o animal encontra-se em movimento e um aumento nas vocalizações do tipo aversivas (22 kHz) quando o animal encontra-se imóvel.*

Foi observada diferença estatística significativa na atividade locomotora entre os grupo, o grupo OUA demonstrou um aumento no número de cruzamento comparados ao grupo controle ( $t= -3.61$ ,  $p< 0.05$ ; Fig. 16a). Porém, quando a atividade locomotora é avaliada em segundos, observou-se um comportamento misto no grupo OUA. Este grupo fica a maior parte do tempo em repouso (imobilidade total, somente movimentos da respiração) comparado ao grupo LCR ( $t= -35.40$ ,  $p<0.001$ , Fig. 16c), conseqüentemente, locomove-se menos tempo em segundos que o grupo LCR ( $t=35.40$ ,  $p<0.001$ ; Fig. 16c). O grupo OUA demonstrou uma diminuição no número de "rearing" comparado ao grupo LCR ( $t= 8.01$ ,  $p< 0.001$ ; Fig. 16b). Também foi observado um aumento significativo nas vocalizações ultrassônicas de alta frequência (50-kHz) ( $t= -2.60$ ,  $p<0.05$ , Fig. 17a) e nas vocalizações ultrassônicas de alta baixa frequência (22-kHz) ( $t= -10.92$ ,  $p< 0.001$ ; Fig. 17a) no grupo OUA (vs. LCR). Observa-se uma diminuição na porcentagem das vocalizações ultrassônica de alta frequência (50-kHz) do tipo flat no grupo OUA (vs. LCR) ( $t= 10.43$ ,  $p<0.001$ , Fig. 17b). Conforme observamos na figura 17b, existe um aumento das vocalizações ultrassônica de alta frequência (50-kHz) dos tipos step-call ( $t= -5.72$ ,  $p<0.001$ ) e trill ( $t= -4.01$ ,  $p<0.001$ ) no grupo OUA (vs. LCR). Não houve diferença estatística entre os grupos na emissão das vocalizações dos tipos e mixed ( $t= -1.0$ ,  $p= 0.34$ ).

a) Atividade Locomotora



b) Rearing



c) Atividade Locomotora (s)

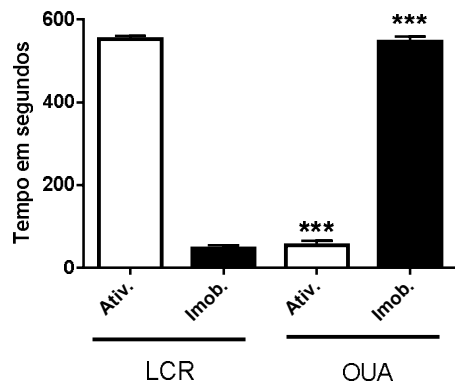
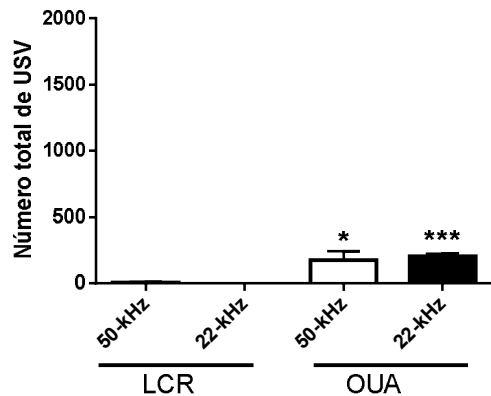


Figura 16 - Efeitos da ouabaína a  $10^{-2}M$  na atividade locomotora e exploratória em ratos. a) Atividade Locomotora (número de cruzamentos); b) Atividade exploratória (número de rearings), c) Tempo gasto na atividade locomotora e imobilidade em segundos. Abreviaturas: OUA- ouabaína a  $10^{-2}M$  ; LCR- líquido cefalorraquidiano artificial; USV - vocalizações ultrassônicas, Ativ.- tempo de atividade, Imob.- tempo de imobilidade. Os dados estão expressos em média + erro padrão da média \*  $p < 0.05$  vs. LCR; \*\*\* $p < 0.001$  vs. LCR.

a) Número total de USV



b) Porcentagem dos tipos de USV

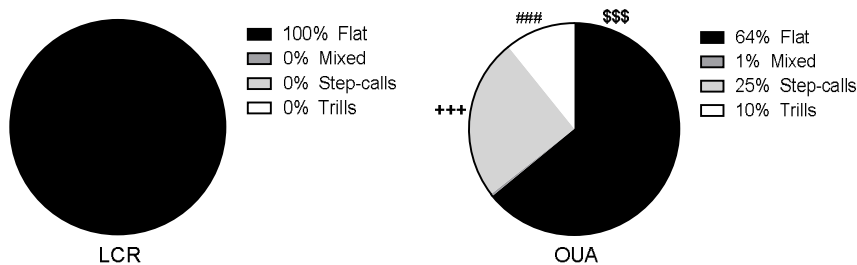


Figura 17 - Efeitos da ouabaína a  $10^{-2}M$  nas vocalizações ultrassônicas em ratos. a) Número total de vocalizações ultrassônicas de 50 kHz e 22-kHz, b) Porcentagem dos tipos de vocalizações ultrassônicas de 50 kHz. Abreviaturas: OUA- ouabaína a  $10^{-2}M$  ; LCR- líquido cefalorraquidiano artificial; USV - vocalizações ultrassônicas. Os dados estão expressos em média + erro padrão da média \*  $p < 0.05$  OUA 50-kHz vs. LCR 50-kHz; \*\*\* $p < 0.001$  OUA 22-kHz vs. LCR 22-kHz; \$\$\$ $p < 0.001$  OUA flat vs LCR flat; ### $p < 0.001$  OUA trill vs LCR trill; +++ $p < 0.001$  OUA step-call vs LCR step-call.

## 6. DISCUSSÃO

O presente estudo teve como objetivo avaliar as USV em diferentes modelos animais de mania, desde que Pereira e colaboradores (2014) demonstraram que drogas com atividade antimaníaca conhecidas (lítio e tamoxifeno) foram capazes de reverter o aumento das USV de 50 kHz induzidas por anfetamina em ratos. Nós demonstramos pela primeira vez que ratos tratados com quetamina racêmica ou quetamina-S agudamente não apresentam alteração do número total de USV de 50-kHz, embora apresentem aumento da atividade locomotora, como observado por outros autores. No entanto, o tratamento agudo com LDX demonstrou resultados similares aos obtidos por Pereira e colaboradores (2014) com anfetamina, um aumento no número de USV de 50-kHz e um aumento na atividade locomotora e

exploratória, que foram revertidos com tratamento com carbonato de lítio (100 mg/kg).

Demonstramos de forma inédita, os efeitos da administração aguda de ouabaína a  $10^{-2}$ M ICV nas USV de ratos, correlacionando-as com os efeitos na atividade motora. Os animais demonstraram um comportamento misto após a administração desta droga. Primeiramente, apresentaram um aumento muito grande na atividade locomotora, emitindo concomitantemente USV de 50 kHz; depois, alternavam para um estado de imobilidade total por um longo tempo emitindo nesses períodos USV de 22 kHz. Essa ciclagem entre os estados ativos e inativos acontecia de 2 a 3 vezes durante os 10 minutos de teste. Os animais que receberam LCR via ICV emitiram comportamento similar aos controles dos outros grupos.

Modelos animais farmacológicos de mania têm sido repetidamente reportados, especialmente aqueles que aumentam a neurotransmissão dopaminérgica, como a hiperatividade induzida por psicoestimulantes. A administração de estimulantes, tal como AMP, produzem um aumento na liberação de DA, inibição da recaptação de DA ou degradação pela enzima monoamina oxidase (MAO) em roedores, induzindo a um aumento na atividade locomotora e agitação psicomotora (Shaldubina *et al.*, 2002; Kara e Einat, 2013; Paszti-Gere e Jakus, 2013). Foi publicado recentemente diversos modelos pré-clínicos combinando paradigmas de reversão e prevenção com estabilizadores de humor e potenciais novos alvos para comportamento tipo-maníaco induzido por LDX (Macedo *et al.*, 2013; Eger *et al.*, 2016). Nossos dados corroboram com estudos prévios, pois nossos animais demonstraram um aumento na atividade locomotora após o tratamento agudo com LDX na dose de 10 mg/kg e esse comportamento foi revertido pelo tratamento agudo com carbonato de lítio. Em relação ao comportamento exploratório, estudos prévios demonstraram que existe um aumento no "rearing" após administração de anfetamina (Fray *et al.*, 1980), que a injeção de LDX também aumenta o "rearing" e que esse comportamento é revertido pelo tratamento com lítio (Macedo *et al.*, 2013). Os mesmos resultados sobre o comportamento exploratório foram observados em nosso estudo.

Diversos estudos sugerem que além da hiperatividade dopaminérgica, no THB também existe uma hipofunção glutamatérgica (Dickerson *et al.*, 2012;

Rao *et al.*, 2012). Após um relato de caso de indução de mania com terapia com quetamina (Ricke *et al.*, 2011), Ghedim e colaboradores (2012), propuseram um modelo animal de mania induzido por quetamina (um antagonista seletivo NMDA), e tanto o lítio quanto o valproato foram capazes de prevenir parcialmente e reverter a hiperlocomoção induzida pela quetamina. Esse modelo depois foi empregado para estudar o possível efeito antimaníaco da curcumina (Gazal *et al.*, 2014). Pesquisadores tem mostrado que o comportamento exploratório parece estar diminuído após o tratamento com quetamina (Imre *et al.*, 2006; Kotermanski *et al.*, 2013). Em nosso estudo observamos um aumento na atividade locomotora em ratos após administração aguda de quetamina racêmica e quetamina-S, e observamos uma diminuição no "rearing" somente após o tratamento com quetamina-S, a quetamina racêmica não demonstrou diferenças estatísticas comparado ao grupo controle. Essa diferença entre a quetamina racêmica e a quetamina-S pode estar relacionada a diferença dos efeitos estereoseletivos dos isômeros de quetamina na transmissão monoaminérgica, tal como a captação de DA (Tso *et al.*, 2004) ou na sua diferente potência anestésica (Peltoniemi *et al.*, 2016). Evidências iniciais sugerem algumas validades preditiva, de face e de constructo para o modelo de quetamina, mas existe uma clara limitação nesse modelos no que se refere a especificidade para mania. A hiperatividade induzida por quetamina também é um modelo animal para esquizofrenia (Zugno *et al.*, 2015; Zugno, A. I. *et al.*, 2015). Da mesma maneira, a quetamina tem demonstrado conter efeitos antidepressivos (Scheuing *et al.*, 2015), e o lítio tem demonstrado efeitos sinérgicos com a quetamina, demonstrando potencializar o efeito tipo-antidepressivo em um modelo animal de estresse (Chiu *et al.*, 2015).

No início das pesquisas para a fisiopatologia do THB, observou-se também que a atividade da enzima Na,K-ATPase estava reduzida durante as fases da doença (Looney e El-Mallakh, 1997). Acredita-se que isto está intimamente relacionado ao aumento de sódio e cálcio intracelular em eritrócitos de pacientes bipolares durante a mania e depressão bipolar. Essas observações levaram a introdução do modelo da Na,K-ATPase para o THB, que postula que uma pequena redução na atividade da bomba de sódio pode alterar a excitabilidade neuronal de maneira a produzir sintomas tanto

depressivos quanto maníacos (El-Mallakh e Wyatt, 1995). Estudos pré-clínicos mostram que a ouabaína em doses subconvulsivas (nas concentrações de  $10^{-2}$ M e  $10^{-3}$ M) administrada ICV em ratos induz a hiperatividade motora comparada ao seu controle (Decker *et al.*, 2000) e essa alteração comportamental foi revertida por três agentes que são utilizados para tratar mania em humanos: lítio, carbamazepina e haloperidol (Herman *et al.*, 2007). Nossos resultados demonstram que animais tratados com ouabaína a  $10^{-2}$ M ICV demonstraram um aumento significativo no número de cruzamentos comparados aos seus controles, porém quando analisamos o tempo gasto em atividade locomotora, observamos um maior tempo de imobilidade comparado ao grupo LCR. Um estudo mostrou que após uma única dose de ouabaína a  $10^{-3}$ M em ratos demonstrou uma hipoatividade significativa durante 10 minutos quando avaliado automaticamente e que o tratamento prévio por 7 dias com lítio foi capaz de reverter essa hipoatividade induzida por ouabaína (Li *et al.*, 1997). Essas observações são compatíveis com predições para a hipótese da Na;K-ATPase para o THB (El-Mallakh e Wyatt, 1995). Estudos prévios mostram que a administração de ouabaína ICV também produz hiperatividade nos animais quando observados em campo aberto (El-Mallakh e Wyatt, 1995). Apesar da ouabaína demonstrar tanto hipo quanto hiperatividade nos animais parecer contraditório, a maneira de interpretar os dados deve ser levada em consideração. Em humanos, alterações neurotóxicas produzidas por um inibidor da Na;K-ATPase, digoxina, pode levar a uma série de sintomas psiquiátricos, incluindo sintomas tipos-depressivos e tipo-maníaco (Eisendrath e Sweeney, 1987; El-Mallakh e Wyatt, 1995). Similarmente, recaídas clínicas em paciente bipolares podem manifestar ambos sintomas maníaco e depressivo simultaneamente, o chamado estado misto (Goodwin e Jamison, 2007).

De novo, pela primeira vez, demonstramos os efeitos da privação de sono por 24 e 72 horas nas USV em ratos. Os animais privados de sono por 24 ou 72 horas tiveram um aumento na atividade locomotora e nas USV de 50 kHz comparado aos animais controle. O tratamento com carbonato de lítio nas doses de 25, 50 ou 100 mg/kg reverteu esse aumento da locomoção e somente nas doses de 100 e 50 mg/kg foi capaz de reverter o aumento das USV de 50-kHz nos animais privados de sono por 24 horas.

Vimos que modelos animais para o estudo da mania mais comumente utilizados são os que induzem o aumento da atividade locomotora pelo uso de substâncias estimulantes do sistema nervoso central (Machado-Vieira *et al.*, 2004; Einat, 2007; Gould *et al.*, 2007). Por sua vez, o modelo de privação de sono, um modelo não farmacológico, parece reproduzir melhor a psicopatologia do episódio maníaco, mimetizando a hiperatividade, a hipersexualidade e a agressividade dos pacientes maníacos (Gessa *et al.*, 1995; Yatham *et al.*, 2002; Yatham *et al.*, 2005). Estudos mostram que após a privação de sono por 24 horas ou por 72 horas em ratos existe um aumento na atividade locomotora durante 30 minutos, uma maior latência para o sono, apresentam um número maior de ereções penianas e uma menor latência para a ereção comparado aos controles. Esses comportamentos são revertido após tratamentos com drogas antimaníacas (Gessa *et al.*, 1995; Armani *et al.*, 2012; Abrial *et al.*, 2015). A privação de sono parece desencadear episódios maníacos em pacientes com THB (Colombo *et al.*, 1999). Nossos resultados em relação a atividade locomotora de ratos privados de sono por 24 ou 72 horas corroboram com dados publicados na literatura, os animais demonstraram uma hiperatividade após a privação de sono que foi revertida com o tratamento com lítio. Existem evidências que a privação de sono age de maneira similar aos psicoestimulantes (e.x. AMP), aumentando a hiperatividade, a liberação da dopamina, aumento no disparo de neurônios dopaminérgicos associados com hiperatividade funcional do sistema dopaminérgico (Gessa *et al.*, 1995; Abrial *et al.*, 2015). Estudos em humanos demonstraram que após a privação de sono há uma diminuição da ligação do raclopride, um antagonista D2. Como este compete com a dopamina endógena pelo sitio de ligação aos receptores D2/D3, provavelmente esta diminuição da ligação deve-se ao um aumento da transmissão dopaminérgica após a privação de sono (Volkow *et al.*, 2008; Volkow *et al.*, 2009).

Evidências consistentes sugerem que a USV pode servir como índice emocional e motivacional em ratos (Wöhr e Schwarting, 2013; Brudzynski, 2015; Simola, 2015). Estudos prévios mostram que USV de 50-kHZ são mais emitidas em situações recompensadoras social ou não sociais, tais como após administração de alguma droga de abuso (Burgdorf *et al.*, 2000; Barker *et al.*, 2015; Simola, 2015). A AMP induz esse tipo de USV relacionada a "afeto-

positivo", aumentando o número total dessas vocalizações em ratos (Burgdorf *et al.*, 2001; Rippberger *et al.*, 2015). Outras drogas que promovem um aumento similar nas USV de 50-kHz são a cocaína e o metilfenidato (Simola *et al.*, 2012; Barker *et al.*, 2015; Simola, 2015). A transmissão dopaminérgica no núcleo accumbens (NAc) shell parece ser crucial para USV de 50-kHz e fortemente promove a emissão de vocalizações (Wintink e Brudzynski, 2001; Thompson *et al.*, 2006; Burgdorf *et al.*, 2008). O metilfenidato parece agir diretamente na transmissão dopaminérgica (Heal *et al.*, 2009), ao bloquear a DAT há um aumento proporcional da DA extracelular e também na taxa de liberação de DA, modulada pelos neurônios dopaminérgicos no estriado (Volkow *et al.*, 2005). Esse efeito do metilfenidato nas USV de 50-kHz é similar ao da cocaína e AMP, os quais possuem um mecanismo de ação semelhante (bloqueio da DAT) e também agem diretamente na transmissão da dopamina (Simola *et al.*, 2012). Antagonistas de receptores D1 e D2, administrados sistemicamente ou via NAc bloqueiam o aumento das USV de 50-kHz induzidas por anfetamina, novamente apontando para um papel crucial da transmissão dopaminérgica nesse efeito (Barker *et al.*, 2015; Rippberger *et al.*, 2015). Além disso, a modulação da transmissão dopaminérgica por receptores 5-HT<sub>2c</sub> também pode ser implicada no aumento das USV de 50-kHz, desde que o agonista de 5-HT<sub>2c</sub>, CP801.909, reduziu as USV de 50-kHz induzidas por AMP enquanto que os antagonistas desse receptor induziram efeitos opostos (Wöhr *et al.*, 2015). O papel dopaminérgico nas USV de 50-kHz está de acordo com a proposta central do papel da transmissão dopaminérgica na mania (Cousins *et al.*, 2009), o que reforça a associação entre USV de 50-kHz e mania.

De acordo com estudos prévios, o lítio, em uma dose que não altera a locomoção espontânea ou atividade exploratória, bloqueou a hiperlocomoção induzida por LDX, validando o protocolo experimental empregado. O efeito do lítio no aumento das USV de 50-kHz induzidas por LDX sugerem que esse procedimento é sensível a drogas antimaníacas padrão ouro, indicando validade preditiva. Por outro lado, uma limitação é que o efeito clínico do lítio é observado após tratamento repetido, enquanto no presente estudo foi testado somente agudamente (Young e Hammond, 2007). Essa situação é de alguma maneira análoga ao observado com drogas antidepressivas e testes de

natação forçada e suspensão pela cauda. No entanto, apesar dessa limitação, esses testes são úteis para pesquisa de novas drogas tipo-antidepressivas (Cryan, Mombereau, *et al.*, 2005; Cryan, Page, *et al.*, 2005). O mesmo poderia considerar para USV de 50-kHz induzidas por LDX e efeitos agudos de lítio. Se faz necessários mais estudos para avaliar o efeito da administração crônica de estabilizadores de humor no aumento das USV de 50-kHz induzidas por amfetamina e LDX, por exemplo, para avaliar se doses de lítio ou valproato que agudamente são ineficazes poderiam ser efetivas após tratamento crônico, como visto com antidepressivos no teste da natação forçada (Cryan, Valentino, *et al.*, 2005).

Uma diferença interessante entre os efeitos da AMP e LDX nas USV de 50-kHz é que a AMP seletivamente aumentou as vocalizações do tipo frequência modulada (Pereira *et al.*, 2014; Rippberger *et al.*, 2015; Simola, 2015; Wöhr *et al.*, 2015), enquanto a LDX não mudou a porcentagem dos subtipos de vocalização no presente estudo. Esse efeito não está relacionado a baixa dose de LDX usada, desde que 10 mg/kg é equivalente a 4 mg/kg de AMP (Heal *et al.*, 2013), a qual está acima da dose utilizada para aumentas as USV de 50-kHz. A ausência no efeito nos subtipos de vocalizações da LDX podem estar relacionadas a algumas diferenças farmacológicas entre as drogas, por exemplo na atividade locomotora, onde doses equivalentes dessas drogas induzem um padrão e uma intensidade do aumento da atividade locomotora diferentes (Rowley *et al.*, 2012).

Nossos achados mostram que o tratamento com quetamina não altera de forma significativa o número total de USV de 50-kHz em ratos adultos machos. Assumindo que USV de 50-kHz refletem a estados de afeto positivo, podemos concluir que a quetamina não induz afeto positivo. No entanto, a administração aguda de quetamina a voluntários saudáveis induz a elevação do humor e euforia (Anand *et al.*, 2000; Deakin *et al.*, 2008). Os mecanismos de ação da quetamina aparentemente não envolvem transmissão DA diretamente, mas bloqueia a transmissão glutamatérgica via antagonismo do receptor NMDA (Ghedim *et al.*, 2012; Naughton *et al.*, 2014). Similarmente, outras drogas que também agem indiretamente na transmissão DA (e.x. nicotina) não mudam as USV de 50-kHz (Barker *et al.*, 2015; Simola, 2015). A falta de efeito da quetamina nas USV de 50-kHz está de acordo com estudos

prévios que mostram que drogas anti-glutamatérgicas (fenciclidina/PCP, dizolcipina/MK-801) não aumentam USV de 50-kHz. Por exemplo, a PCP prejudica as emissões de USV de 50-kHz induzidas por "tickling" (Boulay *et al.*, 2013). O MK-801 também reduziu as USV de 50-kHz induzidas por "tickling" em ratos jovens (Panksepp e Burgdorf, 2000). Além disso, embora o MK-801 tenha aumentado a atividade locomotora, ele diminuiu as USV de 50-kHz espontâneas e induzidas por AMP (Costa *et al.*, 2015). Embora a hiperlocomoção induzida por quetamina tenha sido usada como modelo animal de mania (Ghedim *et al.*, 2012; Gazal *et al.*, 2014; Gazal *et al.*, 2015), outros estudos usaram isto como um modelo animal de esquizofrenia e para avaliar drogas tipo-antipsicóticas (Imre *et al.*, 2006; De Oliveira *et al.*, 2011; Pereira *et al.*, 2011; Zugno *et al.*, 2015). Além disso, o papel da quetamina no episódio maníaco tem sido questionado (Niciu *et al.*, 2013). Por outro lado, a hiperlocomoção induzida por quetamina é sensível a lítio e valproato (Ghedim *et al.*, 2012; Gazal *et al.*, 2014; Gazal *et al.*, 2015), drogas anti-maníacas padrão, que exercem efeitos antipsicóticos mínimos ou nulos, indicando a validade preditiva da hiperlocomoção induzida por quetamina como um modelo de mania. De todo modo, os dados das USV de 50-kHz indicam que a LDX e a quetamina induzem diferentes estados de mania.

Por outro lado, o nosso modelo de mania induzido por ouabaína demonstrou um padrão de emissão de USV misto, o mesmo animal vocalizou USV de 22-kHz e de 50-kHz, dependendo da atividade em que se encontrava o animal, estas eram emitidas em estado de repouso total e em movimento, respectivamente. Não foram encontrados registros na literatura demonstrando efeitos de drogas inibidoras da Na,K-ATPase no perfil das emissões das USV. Como revisamos anteriormente, a ouabaína pode induzir tanto hiper quanto hipoatividade, sendo consistente com observações da desordem em humanos. Isso é reforçado pela observação de que o lítio foi capaz de prevenir ambas mudanças, reduzindo e aumentando a atividade locomotora induzida por ouabaína (El-Mallakh e Wyatt, 1995). Assim como um estado misto na atividade locomotora induzida por ouabaína também observamos um estado misto em relação a emissão de USV. Interessantemente, foi observado uma mudança no perfil das USV de 50-kHz, sendo que os animais tratados com ouabaína ICV demonstraram um aumento nas USV frequências moduladas de

50-kHz dos subtipos step-call e trill e uma redução na emissão das vocalizações do tipo flat. Esse mesmo padrão é observado no tratamento com anfetamina, que seletivamente aumenta as vocalizações do tipo frequência modulada (e.x. (Pereira *et al.*, 2014; Rippberger *et al.*, 2015; Simola, 2015; Wöhr *et al.*, 2015). Estudos mostram que a administração de ouabaína ICV prontamente aumenta a liberação de acetilcolina (ACh) em regiões corticais em ratos (Vizi, 1972) e que a AMP administrada por via sistêmica também resulta em um aumento da ACh no CPF e consequente influxo de DA no NAc shell (Arnold *et al.*, 2000). Esses achados podem explicar tanto o aumento total das USV de 50-kHz induzidas por ouabaína, quanto a mudança no perfil dos subtipos dessas USV de 50-kHz. Injeções carbacol, um agonista colinérgico, diretamente em regiões do prosencéfalo e diencéfalo em cérebro de ratos mostraram induzir as USV de 22-kHz (Brudzynski, 1994). Mais ainda, foi demonstrado que os sistemas colinérgico e dopaminérgico interagem mutuamente para formar um balanço dinâmico. A ativação de porções relevantes do sistema colinérgico ascendente invariavelmente induz a estado negativo e libera USV de 22-kHz enquanto a ativação do sistema dopaminérgico ascendente induz o estado positivo e a emissão de USV de 50-kHz (Brudzynski, 2007). Com base nesses dados, podemos entender o porque como ocorre essa emissão mista de USV induzida por ouabaína observados em nosso estudo.

Em relação ao modelo não farmacológico de mania (privação de sono), nossos achados mostram que assim como existe aumento na atividade locomotora, também encontramos um aumento nas USV de 50-kHz, a qual foi revertida totalmente por tratamento com lítio nas doses de 50 e 100 mg/kg e parcialmente na dose de 25 mg/kg . Como reportado acima, a transmissão dopaminérgica no NAc parece ser crucial para USV de 50-kHz e fortemente promove a emissão de vocalizações (Wintink e Brudzynski, 2001; Thompson *et al.*, 2006; Burgdorf *et al.*, 2008). Esse aumento das emissões das USV de 50-kHz nos animais privados de sono por 24 ou 72 horas pode, então, ser explicado pelo aumento da transmissão dopaminérgica observada em animais ou humanos privados de sono (Gessa *et al.*, 1995; Volkow *et al.*, 2008; Volkow *et al.*, 2009; Abrial *et al.*, 2015). O número de receptores D1 mostram-se aumentados em áreas límbicas e observa-se um aumento da expressão de

receptores D2 no estriado (Lima *et al.*, 2007). Dados de privação de sono indicam que seus efeitos no sistema dopaminérgico não são somente similares aos induzidos por psicoestimulantes mas também são similares as induzidas por terapia eletroconvulsivante, onde tem sido mostrado que receptores D1 e D3 são ativados simultaneamente (Smith e Sharp, 1997). Em estudos animais, a privação de sono aumenta significativamente a taxa de 5-HT e 5-HIAA no córtex frontal, hipocampo e hipotálamo e aumentando também a dopamina e seu metabólito na região do hipotálamo (Asikainen *et al.*, 1995; Asikainen *et al.*, 1997).

Em relação ao perfil dos tipos de USV de 50-kHz, o modelo de privação de sono demonstraram um aumento na porcentagem dos subtipos frequência modulada (step-call, trill e mixed - grupo P24; step-call, grupo P72) comparado aos seus controles. No grupo P24 tratado com salina, observamos um aumento na porcentagem de USV frequência modulada apenas do tipo step-call e quando tratado com lítio (100 mg/kg), essa diferença foi revertida. Dados pré-clínicos e clínicos trazem evidências de que a privação de sono tem efeitos similares aos psicoestimulantes, tais como a cocaína e AMP (Gessa *et al.*, 1995; Volkow *et al.*, 2008; Volkow *et al.*, 2009; Abrial *et al.*, 2015). Talvez por essa similaridade do efeito na transmissão dopaminérgica entre psicoestimulantes e privação de sono, observamos o mesmo padrão apresentado no tratamento com AMP, que seletivamente aumentam as vocalizações do tipo frequência modulada (Pereira *et al.*, 2014; Rippberger *et al.*, 2015; Simola, 2015; Wöhr *et al.*, 2015).

Os resultados deste estudo com USV indicam um estado afetivo diferente induzido nesses diferentes modelos animais de mania propostos, os quais podem estar relacionados a diferentes tipos de episódios maníacos (e.x. sem complicações, psicótico ou subtipo misto). Essa é uma questão importante quando os modelos são utilizados para estudar a fisiopatologia ou para pesquisa de novas drogas tipo-antimaníacas. Por exemplo, o lítio é efetivo para episódios maníacos sem complicações (ou clássico) mas menos efetivos em mania mista, a qual mostra melhor resposta ao valproato (Young *et al.*, 2011).

## 7. CONCLUSÃO

Concluimos que nos modelos de mania descritos, os quais avaliavam somente comportamentos locomotores e exploratórios, nos quais apresentam padrões similares, apresentam diferenças na emissão das USV. A USV pode ser, então, uma variável de valor comportamental a ser adicionada em modelos animais de mania em ratos, refinando e aprofundando esses modelos e aumentando seus valor translacional.

## 8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABRIAL, E. et al. Protein kinase C inhibition rescues manic-like behaviors and hippocampal cell proliferation deficits in the sleep deprivation model of mania. **Int J Neuropsychopharmacol**, v. 18, n. 2, 2015. ISSN 1469-5111 (Electronic) 1461-1457 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25577667> >.

ABRIAL, E. et al. A Role for the PKC Signaling System in the Pathophysiology and Treatment of Mood Disorders: Involvement of a Functional Imbalance? **Molecular Neurobiology**, v. 44, n. 3, p. 407-419, 2011// 2011. ISSN 1559-1182. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1007/s12035-011-8210-4> >.

AKISKAL, H. S.; BENAZZI, F. Family history validation of the bipolar nature of depressive mixed states. **J Affect Disord**, v. 73, n. 1-2, p. 113-122, 2003. ISSN 0165-0327. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0165032702003300> >.

ANAND, A. et al. Striatal dopamine transporter availability in unmedicated bipolar disorder. **Bipolar disorders**, v. 13, n. 4, p. 406-413, 2011/06// 2011. ISSN 1398-5647. Disponível em: < <http://europepmc.org/abstract/MED/21843280>

ANAND, A. et al. Attenuation of the neuropsychiatric effects of ketamine with lamotrigine: support for hyperglutamatergic effects of N-methyl-D-aspartate receptor antagonists. **Archives of General Psychiatry**, v. 57, n. 3, p. 270-276, 2000. ISSN 0003-990X.

ANDREWS, G.; SLADE, T. AGORAPHOBIA WITHOUT A HISTORY OF PANIC DISORDER MAY BE PART OF THE PANIC DISORDER SYNDROME. **The Journal of Nervous and Mental Disease**, v. 190, n. 9, p. 624-630, 2002. ISSN 0022-3018. Disponível em: < [http://journals.lww.com/jonmd/Fulltext/2002/09000/AGORAPHOBIA\\_WITHOUT\\_A\\_HISTORY\\_OF\\_PANIC\\_DISORDER.8.aspx](http://journals.lww.com/jonmd/Fulltext/2002/09000/AGORAPHOBIA_WITHOUT_A_HISTORY_OF_PANIC_DISORDER.8.aspx) >.

ARMANI, F. et al. Successful combined therapy with tamoxifen and lithium in a paradoxical sleep deprivation-induced mania model. **CNS neuroscience & therapeutics**, v. 18, n. 2, p. 119-125, 2012. ISSN 1755-5949.

ARNOLD, H. et al. Systemic and intra-accumbens administration of amphetamine differentially affects cortical acetylcholine release. **Neuroscience**, v. 96, n. 4, p. 675-685, 2000. ISSN 0306-4522.

BALDESSARINI, R. J.; TONDO, L. Suicide risk and treatments for patients with bipolar disorder. **JAMA**, v. 290, n. 11, p. 1517-1519, 2003. ISSN 0098-7484. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1001/jama.290.11.1517> >.

BARKER, D.; J SIMMONS, S.; O WEST, M. Ultrasonic vocalizations as a measure of affect in preclinical models of drug abuse: a review of current findings. **Current neuropharmacology**, v. 13, n. 2, p. 193-210, 2015. ISSN 1570-159X.

BELMAKER, R. H. Bipolar Disorder. **New England Journal of Medicine**, v. 351, n. 5, p. 476-486, 2004/07/29 2004. ISSN 0028-4793. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1056/NEJMra035354> >. Acesso em: 2016/10/04.

BIENVENU, O. J. et al. Agoraphobia in adults: incidence and longitudinal relationship with panic. **The British Journal of Psychiatry**, v. 188, n. 5, p. 432, 2006. Disponível em: < <http://bjp.rcpsych.org/content/188/5/432.abstract> >.

BLANCHARD, R. J. et al. Sex differences in the incidence and sonographic characteristics of antipredator ultrasonic cries in the laboratory rat (*Rattus norvegicus*). **Journal of comparative psychology (Washington, D.C. : 1983)**, v. 106, n. 3, p. 270-277, 1992/09// 1992. ISSN 0735-7036. Disponível em: < <http://europepmc.org/abstract/MED/1395496>

BLANCHARD, R. J. et al. Twenty-two kHz alarm cries to presentation of a predator, by laboratory rats living in visible burrow systems. **Physiology & Behavior**, v. 50, n. 5, p. 967-972, 1991. ISSN 0031-9384. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/003193849190423L> >.

BORTA, A.; WÖHR, M.; SCHWARTING, R. K. W. Rat ultrasonic vocalization in aversively motivated situations and the role of individual differences in anxiety-related behavior. **Behav Brain Res**, v. 166, n. 2, p. 271-280, 2006. ISSN 0166-4328. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0166432805003608> >.

BOULAY, D. et al. Phencyclidine decreases tickling-induced 50-kHz ultrasound vocalizations in juvenile rats: a putative model of the negative symptoms of schizophrenia? **Behavioural pharmacology**, v. 24, n. 7, p. 543-551, 2013. ISSN 0955-8810.

BREIER, A. et al. Schizophrenia is associated with elevated amphetamine-induced synaptic dopamine concentrations: Evidence from a novel positron emission tomography method. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 94, n. 6, p. 2569-2574, March 18, 1997 1997. Disponível em: < <http://www.pnas.org/content/94/6/2569.abstract> >.

BRUDZYNSKI, S. Pharmacology of ultrasonic vocalizations in adult rats: significance, call classification and neural substrate. **Current neuropharmacology**, v. 13, n. 2, p. 180-192, 2015. ISSN 1570-159X.

BRUDZYNSKI, S. M. Ultrasonic vocalization induced by intracerebral carbachol in rats: localization and a dose-response study. **Behav Brain Res**, v. 63, n. 2, p. 133-143, 1994. ISSN 0166-4328.

BURDICK, K. E. et al. Dopaminergic influences on emotional decision making in euthymic bipolar patients. **Neuropsychopharmacology**, v. 39, n. 2, p. 274-282, 2014. ISSN 0893-133X.

BURGDORF, J.; KNUTSON, B.; PANKSEPP, J. Anticipation of rewarding electrical brain stimulation evokes ultrasonic vocalization in rats. **Behavioral neuroscience**, v. 114, n. 2, p. 320-327, 2000/04// 2000. ISSN 0735-7044. Disponível em: < <http://europepmc.org/abstract/MED/10832793>

BURGDORF, J. et al. Nucleus accumbens amphetamine microinjections unconditionally elicit 50-kHz ultrasonic vocalizations in rats. **Behavioral neuroscience**, v. 115, n. 4, p. 940-944, 2001/08// 2001. ISSN 0735-7044. Disponível em: < <http://europepmc.org/abstract/MED/11508733>

BURGDORF, J. et al. Ultrasonic vocalizations of rats (*Rattus norvegicus*) during mating, play, and aggression: Behavioral concomitants, relationship to reward, and self-administration of playback. **Journal of comparative psychology (Washington, D.C. : 1983)**, v. 122, n. 4, p. 357-367, 2008/11// 2008. ISSN 0735-7036. Disponível em: < <http://europepmc.org/abstract/MED/19014259>

BUTCHER, S. P. et al. Amphetamine-induced dopamine release in the rat striatum: an in vivo microdialysis study. **Journal of neurochemistry**, v. 50, n. 2, p. 346-355, 1988. ISSN 1471-4159.

CARVALHO, A. F. et al. Predominant polarity as a course specifier for bipolar disorder: a systematic review. **J Affect Disord**, v. 163, p. 56-64, Jul 2014. ISSN 1573-2517 (Electronic) 0165-0327 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24836088> >.

CASSIDY, F.; AHEARN, E. P.; CARROLL, B. J. Substance abuse in bipolar disorder. **Bipolar disorders**, v. 3, n. 4, p. 181-188, 2001/08// 2001. ISSN 1398-5647. Disponível em: < <http://europepmc.org/abstract/MED/11552957>

CHIU, C.-T. et al. **The mood stabilizer lithium potentiates the antidepressant-like effects and ameliorates oxidative stress induced by acute ketamine in a mouse model of stress.** [The international journal of neuropsychopharmacology](#). 18 2015.

CIPRIANI, A. et al. Comparative efficacy and acceptability of antimanic drugs in acute mania: a multiple-treatments meta-analysis. **The Lancet**, v. 378, n. 9799, p. 1306-1315, 2011. ISSN 0140-6736.

COLOM, F. et al. Clinical and therapeutic implications of predominant polarity in bipolar disorder. **J Affect Disord**, v. 93, n. 1–3, p. 13-17, 2006. ISSN 0165-0327. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0165032706001376> >.

COLOMBO, C. et al. Rate of switch from depression into mania after therapeutic sleep deprivation in bipolar depression. **Psychiatry Res**, v. 86, n. 3, p. 267-270, 1999. ISSN 0165-1781. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0165178199000360> >.

CONNOLLY, K. R.; THASE, M. E. The clinical management of bipolar disorder: a review of evidence-based guidelines. **Prim Care Companion CNS Disord**, v. 13, n. 4, p. pii: PCC. 10r01097, 2011.

COSTA, G.; MORELLI, M.; SIMOLA, N. Involvement of Glutamate NMDA Receptors in the Acute, Long-Term, and Conditioned Effects of Amphetamine on Rat 50 kHz Ultrasonic Vocalizations. **Int J Neuropsychopharmacol**, v. 18, n. 11, p. pyv057, Oct 2015. ISSN 1469-5111 (Electronic) 1461-1457 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25991653> >.

COUSINS, D. A.; BUTTS, K.; YOUNG, A. H. The role of dopamine in bipolar disorder. **Bipolar disorders**, v. 11, n. 8, p. 787-806, 2009/12// 2009. ISSN 1398-5647. Disponível em: < <http://europepmc.org/abstract/MED/19922550> >

CRYAN, J. F.; MOMBÉREAU, C.; VASSOUT, A. The tail suspension test as a model for assessing antidepressant activity: review of pharmacological and genetic studies in mice. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 29, n. 4, p. 571-625, 2005. ISSN 0149-7634.

CRYAN, J. F.; PAGE, M. E.; LUCKI, I. Differential behavioral effects of the antidepressants reboxetine, fluoxetine, and moclobemide in a modified forced swim test following chronic treatment. **Psychopharmacology**, v. 182, n. 3, p. 335-344, 2005. ISSN 0033-3158.

CRYAN, J. F.; VALENTINO, R. J.; LUCKI, I. Assessing substrates underlying the behavioral effects of antidepressants using the modified rat forced swimming test. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 29, n. 4, p. 547-569, 2005. ISSN 0149-7634.

D'AQUILA, P. S. et al. The role of dopamine in the mechanism of action of antidepressant drugs. **Eur J Pharmacol**, v. 405, n. 1–3, p. 365-373, 2000. ISSN 0014-2999. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0014299900005665> >.

DE BARTOLOMEIS, A. et al. Glutamatergic Postsynaptic Density Protein Dysfunctions in Synaptic Plasticity and Dendritic Spines Morphology: Relevance to Schizophrenia and Other Behavioral Disorders Pathophysiology, and Implications for Novel Therapeutic Approaches. **Molecular Neurobiology**, v.

49, n. 1, p. 484-511, 2014// 2014. ISSN 1559-1182. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1007/s12035-013-8534-3> >.

DE OLIVEIRA, L. et al. Behavioral changes and mitochondrial dysfunction in a rat model of schizophrenia induced by ketamine. **Metab Brain Dis**, v. 26, n. 1, p. 69-77, Mar 2011. ISSN 1573-7365 (Electronic) 0885-7490 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21331561> >.

DEAKIN, J. W. et al. Glutamate and the neural basis of the subjective effects of ketamine: a pharmaco-magnetic resonance imaging study. **Archives of general psychiatry**, v. 65, n. 2, p. 154-164, 2008. ISSN 0003-990X.

DECKER, S. et al. Open field is more sensitive than automated activity monitor in documenting ouabain-induced hyperlocomotion in the development of an animal model for bipolar illness. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, v. 24, n. 3, p. 455-462, 2000. ISSN 0278-5846. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0278584699001116> >.

DENCKER, D.; HUSUM, H. Antimanic efficacy of retigabine in a proposed mouse model of bipolar disorder. **Behav Brain Res**, v. 207, n. 1, p. 78-83, 2010. ISSN 0166-4328. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0166432809005841> >.

DI CHIARA, G. The role of dopamine in drug abuse viewed from the perspective of its role in motivation. **Drug & Alcohol Dependence**, v. 38, n. 2, p. 95-137, 1995. ISSN 0376-8716. Disponível em: < [http://dx.doi.org/10.1016/0376-8716\(95\)01118-I](http://dx.doi.org/10.1016/0376-8716(95)01118-I) >. Acesso em: 2016/10/04.

DICKERSON, F. et al. Antibodies to the glutamate receptor in mania. **Bipolar disorders**, v. 14, n. 5, p. 547-553, 2012/08// 2012. ISSN 1398-5647. Disponível em: < <http://europepmc.org/abstract/MED/22672262> >

DREVETS, W. C. et al. Amphetamine-induced dopamine release in human ventral striatum correlates with euphoria. **Biological psychiatry**, v. 49, n. 2, p. 81-96, 2001. ISSN 0006-3223.

DUFFY, A. et al. The developmental trajectory of bipolar disorder. **The British journal of psychiatry : the journal of mental science**, v. 204, n. 2, p. 122-128, 2014/02// 2014. ISSN 0007-1250. Disponível em: < <http://europepmc.org/abstract/MED/24262817> >

EGELAND, J. A. et al. A 16-Year Prospective Study of Prodromal Features Prior to BPI Onset in Well Amish Children. **J Affect Disord**, v. 142, n. 1-3, p. 186-192, 2012. ISSN 0165-0327. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0165032712002972> >.

EGER, G. A. et al. Antioxidant effect of simvastatin through oxidative imbalance caused by lisdexamfetamine dimesylate. **An Acad Bras Cienc**, v. 88, n. 1, p. 335-48, Mar 2016. ISSN 1678-2690 (Electronic)

0001-3765 (Linking). Disponível em: <  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26871491> >.

EINAT, H. Different behaviors and different strains: Potential new ways to model bipolar disorder. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 31, n. 6, p. 850-857, 2007. ISSN 0149-7634. Disponível em: <  
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0149763407000024> >.

EINAT, H.; KOFMAN, O.; BELMAKER, R. H. Animal Models of Bipolar Disorder: From a Single Episode to Progressive Cycling Models. In: MYSLOBODSKY, M. S. e WEINER, I. (Ed.). **Contemporary Issues in Modeling Psychopathology**. Boston, MA: Springer US, 2000. p.165-179. ISBN 978-1-4757-4860-4.

EISENDRATH, S. J.; SWEENEY, M. A. Toxic neuropsychiatric effects of digoxin at therapeutic serum concentrations. **The American journal of psychiatry**, v. 144, n. 4, p. 506-507, 1987/04// 1987. ISSN 0002-953X. Disponível em: < <http://europepmc.org/abstract/MED/3565623>

EL-MALLAKH, R. S. et al. Efficacy of olanzapine and haloperidol in an animal model of mania. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, v. 30, n. 7, p. 1261-1264, 2006. ISSN 0278-5846. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0278584606001394> >.

EL-MALLAKH, R. S. et al. Intracerebroventricular administration of ouabain as a model of mania in rats. **Bipolar disorders**, v. 5, n. 5, p. 362-365, 2003/10// 2003. ISSN 1398-5647. Disponível em: < <http://europepmc.org/abstract/MED/14525557>

EL-MALLAKH, R. S.; WYATT, R. J. The Na,K-ATPase hypothesis for bipolar illness. **Biological Psychiatry**, v. 37, n. 4, p. 235-244, 1995. ISSN 0006-3223. Disponível em: < [http://dx.doi.org/10.1016/0006-3223\(94\)00201-D](http://dx.doi.org/10.1016/0006-3223(94)00201-D) >. Acesso em: 2016/10/04.

FELDMAN-NAIM, S. et al. Agreement between face-to-face and telephone-administered mood ratings in patients with rapid cycling bipolar disorder. **Psychiatry Res**, v. 71, n. 2, p. 129-132, 1997. ISSN 0165-1781. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0165178197000449> >.

FIEDOROWICZ, J. G. et al. Subthreshold hypomanic symptoms in progression from unipolar major depression to bipolar disorder. **The American journal of psychiatry**, v. 168, n. 1, p. 40-48, 2011/01// 2011. ISSN 0002-953X. Disponível em: < <http://europepmc.org/abstract/MED/21078709>

FLECKENSTEIN, A. E. et al. New insights into the mechanism of action of amphetamines. **Annual review of pharmacology and toxicology**, v. 47, p. 681-698, 2007 2007. ISSN 0362-1642. Disponível em: < <http://europepmc.org/abstract/MED/17209801>  
<http://dx.doi.org/10.1146/annurev.pharmtox.47.120505.105140> >.

FRAY, P. J. et al. An observational method for quantifying the behavioural effects of dopamine agonists: Contrasting effects of d-Amphetamine and apomorphine. **Psychopharmacology**, v. 69, n. 3, p. 253-259, 1980// 1980. ISSN 1432-2072. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1007/BF00433091> >.

FREY et al. Effects of lithium and valproate on amphetamine-induced oxidative stress generation in an animal model of mania. **Journal of Psychiatry and Neuroscience**, v. 31, n. 5, p. 326-332, 2006. ISSN 1180-4882/1488-2434. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1557682/> >.

GAZAL, M. et al. Preventive effect of cecropia pachystachya against ketamine-induced manic behavior and oxidative stress in rats. **Neurochemical research**, v. 40, n. 7, p. 1421-1430, 2015. ISSN 0364-3190.

GAZAL, M. et al. Neuroprotective and antioxidant effects of curcumin in a ketamine-induced model of mania in rats. **Eur J Pharmacol**, v. 724, p. 132-139, 2014. ISSN 0014-2999. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0014299913009564> >.

GEDDES, J. R. et al. Long-term lithium therapy for bipolar disorder: systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. **American Journal of Psychiatry**, v. 161, n. 2, p. 217-222, 2004. ISSN 0002-953X.

GESSA, G. L. et al. Sleep deprivation in the rat: an animal model of mania. **European Neuropsychopharmacology**, v. 5, Supplement 1, p. 89-93, 1995. ISSN 0924-977X. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0924977X95000231> >.

GHEDIM, F. V. et al. Evaluation of behavioral and neurochemical changes induced by ketamine in rats: implications as an animal model of mania. **J Psychiatr Res**, v. 46, n. 12, p. 1569-75, Dec 2012. ISSN 1879-1379 (Electronic) 0022-3956 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22998743> >.

GIGANTE, A. D. et al. Brain glutamate levels measured by magnetic resonance spectroscopy in patients with bipolar disorder: a meta-analysis. **Bipolar disorders**, v. 14, n. 5, p. 478-487, 2012/08// 2012. ISSN 1398-5647. Disponível em: < <http://europepmc.org/abstract/MED/22834460> <http://dx.doi.org/10.1111/j.1399-5618.2012.01033.x> >.

GIJSMAN, H. J. et al. Antidepressants for bipolar depression: a systematic review of randomized, controlled trials. **American Journal of Psychiatry**, v. 161, n. 9, p. 1537-1547, 2004. ISSN 0002-953X.

GITLIN, M. J. et al. Relapse and impairment in bipolar disorder. **The American journal of psychiatry**, v. 152, n. 11, p. 1635-1640, 1995/11// 1995. ISSN 0002-953X. Disponível em: < <http://europepmc.org/abstract/MED/7485627> <http://ajp.psychiatryonline.org/cgi/content/abstract/152/11/1635> >.

GOODWIN, F. K.; JAMISON, K. R. **Manic-depressive illness: bipolar disorders and recurrent depression**. Oxford University Press, 2007. ISBN 0195135792.

GOULD, T. D. et al. [beta]-Catenin Overexpression in the Mouse Brain Phenocopies Lithium-Sensitive Behaviors. **Neuropsychopharmacology**, v. 32, n. 10, p. 2173-2183, 2007. ISSN 0893-133X. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1038/sj.npp.1301338> >.

GRAAE, L.; KARLSSON, R.; PADDOCK, S. Significant Association of Estrogen Receptor Binding Site Variation with Bipolar Disorder in Females. **PLoS ONE**, v. 7, n. 2, p. e32304, 2012. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0032304> >.

GRØNLI, J. et al. Effects of chronic mild stress on sexual behavior, locomotor activity and consumption of sucrose and saccharine solutions. **Physiology & Behavior**, v. 84, n. 4, p. 571-577, 2005. ISSN 0031-9384. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0031938405000454> >.

HARRISON-READ, P. E. Antimanic potency of typical neuroleptic drugs and affinity for dopamine D2 and serotonin 5-HT2A receptors--a new analysis of data from the archives and implications for improved antimanic treatments. **Journal of psychopharmacology (Oxford, England)**, v. 23, n. 8, p. 899-907, 2009/11// 2009. ISSN 0269-8811. Disponível em: < <http://europepmc.org/abstract/MED/18635692>

HARVEY, A. G. et al. Treating insomnia improves mood state, sleep, and functioning in bipolar disorder: a pilot randomized controlled trial. **Journal of consulting and clinical psychology**, v. 83, n. 3, p. 564-577, 2015/06// 2015. ISSN 0022-006X. Disponível em: < <http://europepmc.org/abstract/MED/25622197>

HARVEY, A. G. et al. The subjective meaning of sleep quality: a comparison of individuals with and without insomnia. **Sleep**, v. 31, n. 3, p. 383-393, 2008/03// 2008. ISSN 0161-8105. Disponível em: < <http://europepmc.org/abstract/MED/18363315>

HEAL, D. J.; CHEETHAM, S. C.; SMITH, S. L. The neuropharmacology of ADHD drugs in vivo: Insights on efficacy and safety. **Neuropharmacology**, v. 57, n. 7-8, p. 608-618, 2009. ISSN 0028-3908. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0028390809002688> >.

HEAL, D. J. et al. Amphetamine, past and present--a pharmacological and clinical perspective. **Journal of Psychopharmacology**, v. 27, n. 6, p. 479-496, 2013. ISSN 0269-8811.

HENQUET, C. et al. Cannabis use and expression of mania in the general population. **J Affect Disord**, v. 95, n. 1-3, p. 103-110, 2006. ISSN 0165-0327. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0165032706002229> >.

HERMAN, L.; HOUGLAND, T.; EL-MALLAKH, R. S. Mimicking human bipolar ion dysregulation models mania in rats. **Neurosci Biobehav Rev**, v. 31, n. 6, p. 874-81, 2007. ISSN 0149-7634 (Print) 0149-7634 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17720496> >.

HUEY, L. Y. et al. Effects of lithium carbonate on methylphenidate-induced mood, behavior, and cognitive processes. **Psychopharmacology**, v. 73, n. 2, p. 161-164, 1981// 1981. ISSN 1432-2072. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1007/BF00429209> >.

IMRE, G. et al. Effects of the mGluR2/3 agonist LY379268 on ketamine-evoked behaviours and neurochemical changes in the dentate gyrus of the rat. **Pharmacol Biochem Behav**, v. 84, n. 3, p. 392-9, Jul 2006. ISSN 0091-3057 (Print) 0091-3057 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16857251> >.

JACKSON, A.; CAVANAGH, J.; SCOTT, J. A systematic review of manic and depressive prodromes. **J Affect Disord**, v. 74, n. 3, p. 209-217, 2003. ISSN 0165-0327. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0165032702002665> >.

JACOBS, D.; SILVERSTONE, T. Dextroamphetamine-induced arousal in human subjects as a model for mania. **Psychological Medicine**, Cambridge, UK, v. 16, n. 2, p. 323-329, 1986/005/001 1986. Disponível em: < <https://www.cambridge.org/core/article/dextroamphetamine-induced-arousal-in-human-subjects-as-a-model-for-mania/AE6A8B84AA57E71A9D3F5D361BB4543D> >.

JELEN, P.; SOLTYSIK, S.; ZAGRODZKA, J. 22-kHz Ultrasonic vocalization in rats as an index of anxiety but not fear: behavioral and pharmacological modulation of affective state. **Behav Brain Res**, v. 141, n. 1, p. 63-72, 2003. ISSN 0166-4328. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0166432802003212> >.

JOHNSTON, B. B. et al. Prediction of clinical course of bipolar manic depressive illness treated with lithium. **Psychological Medicine**, Cambridge, UK, v. 10, n. 2, p. 329-334, 1980/005/001 1980. Disponível em: < <https://www.cambridge.org/core/article/prediction-of-clinical-course-of-bipolar-manic-depressive-illness-treated-with-lithium/4FCC576139C6A7082DBFB1547A7F671A> >.

JOSEPH, R. Frontal lobe psychopathology: mania, depression, confabulation, catatonia, perseveration, obsessive compulsions, and schizophrenia. **Psychiatry**, v. 62, n. 2, p. 138-172, 1999 1999. ISSN 0033-2747. Disponível em: < <http://europepmc.org/abstract/MED/10420428> >.

JUDD, L. L. et al. Psychosocial disability and work role function compared across the long-term course of bipolar I, bipolar II and unipolar major depressive disorders. **J Affect Disord**, v. 108, n. 1-2, p. 49-58, 2008. ISSN 0165-0327.

Disponível em: <  
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0165032707003333> >.

KABLE, J. W.; GLIMCHER, P. W. The Neurobiology of Decision: Consensus and Controversy. **Neuron**, v. 63, n. 6, p. 733-745, 2009. ISSN 0896-6273 1097-4199. Disponível em: <  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2765926/> >.

KALTWASSER, M. T. Startle-inducing acoustic stimuli evoke ultrasonic vocalization in the rat. **Physiology & Behavior**, v. 48, n. 1, p. 13-17, 1990. ISSN 0031-9384. Disponível em: <  
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/003193849090253Z> >.

KARA, N. Z.; EINAT, H. Rodent models for mania: practical approaches. **Cell and Tissue Research**, v. 354, n. 1, p. 191-201, 2013// 2013. ISSN 1432-0878. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1007/s00441-013-1594-x> >.

KNAPP, D. J.; POHORECKY, L. A. An air-puff stimulus method for elicitation of ultrasonic vocalizations in rats. **Journal of Neuroscience Methods**, v. 62, n. 1-2, p. 1-5, 1995. ISSN 0165-0270. Disponível em: <  
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0165027095000445> >.

KOTERMANSKI, S. E.; JOHNSON, J. W.; THIELS, E. Comparison of behavioral effects of the NMDA receptor channel blockers memantine and ketamine in rats. **Pharmacol Biochem Behav**, v. 109, p. 67-76, Aug 2013. ISSN 1873-5177 (Electronic) 0091-3057 (Linking). Disponível em: <  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23665480> >.

KRANKL, J. T.; GITLIN, M. Caffeine-induced mania in a patient with caffeine use disorder: A case report. **The American journal on addictions**, v. 24, n. 4, p. 289-291, 2015/06// 2015. ISSN 1055-0496. Disponível em: <  
<http://europemc.org/abstract/MED/25953052>  
<http://dx.doi.org/10.1111/ajad.12210> >.

LAMPE, L. et al. Social phobia in the Australian National Survey of Mental Health and Well-Being (NSMHWB). **Psychological Medicine**, Cambridge, UK, v. 33, n. 4, p. 637-646, 2003/05/01 2003. Disponível em: <  
<https://www.cambridge.org/core/article/social-phobia-in-the-australian-national-survey-of-mental-health-and-well-being-nsmhwb/417C5190078E26EACC234FCDF1924D01> >.

LI, R. et al. Lithium prevents ouabain-induced behavioral changes. **Molecular and Chemical Neuropathology**, v. 31, n. 1, p. 65-72, 1997// 1997. ISSN 1044-7393. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1007/BF02815161> >.

LIMA, M.; TASSI, J.; NOVO, I. Epidemiologia do transtorno bipolar / Epidemiology of bipolar disorders. **Arch. clin. psychiatry**, v. 32, n. 1, p. 5, 2005.

LIMA, M. M. S. et al. Paradoxical sleep deprivation modulates tyrosine hydroxylase expression in the nigrostriatal pathway and attenuates motor deficits induced by dopaminergic depletion. **CNS & neurological disorders drug targets**, v. 11, n. 4, p. 359-368, 2012/06// 2012. ISSN 1871-5273. Disponível em: < <http://europepmc.org/abstract/MED/22483308> >

LIMA, M. M. S. et al. Blockage of dopaminergic D2 receptors produces decrease of REM but not of slow wave sleep in rats after REM sleep deprivation. **Behav Brain Res**, v. 188, n. 2, p. 406-411, 2008. ISSN 0166-4328. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0166432807006481> >

LIMA, M. M. S. et al. **The role of the substantia nigra pars compacta in regulating sleep patterns in rats.** PLoS one. 2: e513 p. 2007.

LOONEY, S. W.; EL-MALLAKH, R. S. Meta-analysis of erythrocyte Na,K-ATPase activity in bipolar illness. **Depression and anxiety**, v. 5, n. 2, p. 53-65, 1997 1997. ISSN 1091-4269. Disponível em: < <http://europepmc.org/abstract/MED/9262935> >

MACDONALD, J. F. et al. Convergence of PKC-dependent kinase signal cascades on NMDA receptors. **Current drug targets**, v. 2, n. 3, p. 299-312, 2001/09// 2001. ISSN 1389-4501. Disponível em: < <http://europepmc.org/abstract/MED/11554554> >

MACEDO, D. S. et al. Effects of lithium on oxidative stress and behavioral alterations induced by lisdexamfetamine dimesylate: relevance as an animal model of mania. **Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry**, v. 43, p. 230-7, Jun 3 2013. ISSN 1878-4216 (Electronic) 0278-5846 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23333378> >

MACHADO-VIEIRA, R.; KAPCZINSKI, F.; SOARES, J. C. Perspectives for the development of animal models of bipolar disorder. **Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry**, v. 28, n. 2, p. 209-24, Mar 2004. ISSN 0278-5846 (Print) 0278-5846 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14751416> >

MACHADO, R. B. et al. Sleep deprivation induced by the modified multiple platform technique: quantification of sleep loss and recovery. **Brain Research**, v. 1004, n. 1-2, p. 45-51, 2004. ISSN 0006-8993. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0006899304000599> >

MAES, M. et al. Effects of subchronic treatment with valproate on L-5-HTP-induced cortisol responses in mania: evidence for increased central serotonergic neurotransmission. **Psychiatry Res**, v. 71, n. 2, p. 67-76, 1997. ISSN 0165-1781.

MAIER, E. Y. et al. The missing variable: ultrasonic vocalizations reveal hidden sensitization and tolerance-like effects during long-term cocaine administration.

**Psychopharmacology**, v. 219, n. 4, p. 1141-1152, 2012// 2012. ISSN 1432-2072. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1007/s00213-011-2445-7> >.

MANSELL, W.; PEDLEY, R. The ascent into mania: A review of psychological processes associated with the development of manic symptoms. **Clin Psychol Rev**, v. 28, n. 3, p. 494-520, 2008. ISSN 0272-7358. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0272735807001316> >.

MANSON, A.; STIRPE, P.; SCHRAG, A. Levodopa-induced-dyskinesias clinical features, incidence, risk factors, management and impact on quality of life. **Journal of Parkinson's disease**, v. 2, n. 3, p. 189-198, 2012 2012. ISSN 1877-7171. Disponível em: < <http://europepmc.org/abstract/MED/23938226>  
<http://dx.doi.org/10.3233/JPD-2012-120103> >.

MCCULLUMSMITH, R. E. et al. Expression of transcripts for myelination-related genes in the anterior cingulate cortex in schizophrenia. **Schizophrenia Research**, v. 90, n. 1–3, p. 15-27, 2007. ISSN 0920-9964. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0920996406004920> >.

MERIKANGAS, K. R. et al. Lifetime and 12-month prevalence of bipolar spectrum disorder in the national comorbidity survey replication. **Archives of General Psychiatry**, v. 64, n. 5, p. 543-552, 2007. ISSN 0003-990X. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1001/archpsyc.64.5.543> >.

MERIKANGAS, K. R. et al. Future of genetics of mood disorders research. **Biological Psychiatry**, v. 52, n. 6, p. 457-477, 2002. ISSN 0006-3223. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0006322302014713> >.

MIKLOWITZ, D. J. et al. Early Intervention for Symptomatic Youth at Risk for Bipolar Disorder: A Randomized Trial of Family-Focused Therapy. **Journal of the American Academy of Child & Adolescent Psychiatry**, v. 52, n. 2, p. 121-131, 2013. ISSN 0890-8567. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0890856712007757> >.

MOGHADDAM, B. et al. Activation of glutamatergic neurotransmission by ketamine: a novel step in the pathway from NMDA receptor blockade to dopaminergic and cognitive disruptions associated with the prefrontal cortex. **The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience**, v. 17, n. 8, p. 2921-2927, 1997/04// 1997. ISSN 0270-6474. Disponível em: < <http://europepmc.org/abstract/MED/9092613> >.

MORENO, R.; MORENO, D. H.; RATZKE, R. Diagnosis, treatment and prevention of mania and hipomania within the bipolar disorder. **Archives of Clinical Psychiatry (São Paulo)**, v. 32, p. 39-48, 2005. ISSN 0101-6083.

MURY, M.; VERDOUX, H.; BOURGEOIS, M. [Comorbidity of bipolar and eating disorders. Epidemiologic and therapeutic aspects]. **L'Encephale**, v. 21, n. 5, p. 545-553, 1995 Sep-Oct 1995. ISSN 0013-7006. Disponível em: < <http://europepmc.org/abstract/MED/8529563> >.

NATUSCH, C.; SCHWARTING, R. K. W. Using bedding in a test environment critically affects 50-kHz ultrasonic vocalizations in laboratory rats. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 96, n. 3, p. 251-259, 2010. ISSN 0091-3057. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0091305710001498> >.

NAUGHTON, M. et al. A review of ketamine in affective disorders: current evidence of clinical efficacy, limitations of use and pre-clinical evidence on proposed mechanisms of action. **J Affect Disord**, v. 156, p. 24-35, Mar 2014. ISSN 1573-2517 (Electronic) 0165-0327 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24388038> >.

NAYLOR, G. J. et al. Erythrocyte membrane cation carrier in manic-depressive psychosis. **Psychological Medicine**, Cambridge, UK, v. 10, n. 3, p. 521-525, 1980/008/001 1980. Disponível em: < <https://www.cambridge.org/core/article/erythrocyte-membrane-cation-carrier-in-manic-depressive-psychosis/E6C538C0CCCE408D5D09FADB0C10D064> >.

NESTLER, E. J. Molecular mechanisms of drug addiction. **Neuropharmacology**, v. 47, Supplement 1, p. 24-32, 2004. ISSN 0028-3908. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0028390804001911> >.

NICHOLS, S. D. et al. A Case of Possible Iatrogenic Ketamine-Induced Mania in a Patient Being Treated for Postoperative Pain. **Psychosomatics**, v. 57, n. 5, p. 543-546, 2016. ISSN 0033-3182. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.psych.2016.06.003> >. Acesso em: 2016/10/04.

NICIU, M. J. et al. Two cases of delayed-onset suicidal ideation, dysphoria and anxiety after ketamine infusion in patients with obsessive-compulsive disorder and a history of major depressive disorder. **Journal of psychopharmacology**, p. 0269881113486718, 2013. ISSN 0269-8811.

NIVOLI, A. M. A. et al. New treatment guidelines for acute bipolar depression: A systematic review. **J Affect Disord**, v. 129, n. 1, p. 14-26, 2011. ISSN 0165-0327. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.jad.2010.05.018> >. Acesso em: 2016/10/04.

OGAWA, N.; UEKI, H. Secondary mania caused by caffeine. **General Hospital Psychiatry**, v. 25, n. 2, p. 138-139, 2003. ISSN 0163-8343. Disponível em: < [http://dx.doi.org/10.1016/S0163-8343\(02\)00273-6](http://dx.doi.org/10.1016/S0163-8343(02)00273-6) >. Acesso em: 2016/10/04.

ÖNGÜR, D. et al. Abnormal Glutamatergic Neurotransmission and Neuronal-Glial Interactions in Acute Mania. **Biological Psychiatry**, v. 64, n. 8, p. 718-726, 2008. ISSN 0006-3223. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.biopsych.2008.05.014> >. Acesso em: 2016/10/04.

ÖSBY, U. et al. EXcess mortality in bipolar and unipolar disorder in sweden. **Archives of General Psychiatry**, v. 58, n. 9, p. 844-850, 2001. ISSN 0003-990X. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1001/archpsyc.58.9.844> >.

PANKSEPP, J.; BURGDORF, J. 50-kHz chirping (laughter?) in response to conditioned and unconditioned tickle-induced reward in rats: effects of social housing and genetic variables. **Behav Brain Res**, v. 115, n. 1, p. 25-38, 2000. ISSN 0166-4328.

PASZTI-GERE, E.; JAKUS, J. Protein Phosphatases but not Reactive Oxygen Species Play Functional Role in Acute Amphetamine-Mediated Dopamine Release. **Cell Biochemistry and Biophysics**, v. 66, n. 3, p. 831-841, 2013// 2013. ISSN 1559-0283. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1007/s12013-013-9608-6> >.

PELTONIEMI, M. A. et al. Ketamine: A Review of Clinical Pharmacokinetics and Pharmacodynamics in Anesthesia and Pain Therapy. **Clinical Pharmacokinetics**, v. 55, n. 9, p. 1059-1077, 2016// 2016. ISSN 1179-1926. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1007/s40262-016-0383-6> >.

PEREIRA, M. et al. Amphetamine-induced appetitive 50-kHz calls in rats: a marker of affect in mania? **Psychopharmacology**, v. 231, n. 13, p. 2567-2577, 2014/07// 2014. ISSN 0033-3158. Disponível em: < <http://europemc.org/abstract/MED/24414610> <http://dx.doi.org/10.1007/s00213-013-3413-1> >.

PEREIRA, M. et al. Antimanic-like effect of tamoxifen is not reproduced by acute or chronic administration of medroxyprogesterone or clomiphene. **Neuroscience Letters**, v. 500, n. 2, p. 95-98, 2011. ISSN 0304-3940. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304394011009062> >.

PHILLIPS, M. L.; KUPFER, D. J. Bipolar disorder diagnosis: challenges and future directions. **The Lancet**, v. 381, n. 9878, p. 1663-1671, // 2013. ISSN 0140-6736. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0140673613609897> >. Acesso em: 2013/5/17/.

PORTFORS, C. V. Types and functions of ultrasonic vocalizations in laboratory rats and mice. **Journal of the American Association for Laboratory Animal Science : JAALAS**, v. 46, n. 1, p. 28-34, 2007/01// 2007. ISSN 1559-6109. Disponível em: < <http://europemc.org/abstract/MED/17203913> >.

RAO, J. S. et al. Dysregulated glutamate and dopamine transporters in postmortem frontal cortex from bipolar and schizophrenic patients. **J Affect Disord**, v. 136, n. 1-2, p. 63-71, 2012. ISSN 0165-0327. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0165032711004897> >.

REDDY, P. et al. CSF amine metabolites in depression. **Biological Psychiatry**, v. 31, n. 2, p. 112-118, 1992. ISSN 0006-3223. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0006322392901989> >.

REGIER, D. A. et al. Prevalence of anxiety disorders and their comorbidity with mood and addictive disorders. **The British journal of psychiatry. Supplement**, n. 34, p. 24-28, 1998 1998. ISSN 0960-5371. Disponível em: < <http://europepmc.org/abstract/MED/9829013> >.

RICKE, A. K.; SNOOK, R. J.; ANAND, A. Induction of Prolonged Mania During Ketamine Therapy for Reflex Sympathetic Dystrophy. **Biological psychiatry**, v. 70, n. 4, p. e13-e14, 2011. ISSN 0006-3223/1873-2402. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3465663/> >.

RIPPBERGER, H. et al. Environmental and pharmacological modulation of amphetamine-induced 50-kHz ultrasonic vocalizations in rats. **Current neuropharmacology**, v. 13, n. 2, p. 220-232, 2015. ISSN 1570-159X.

ROWLEY, H. L. et al. Lisdexamfetamine and immediate release d-amphetamine - differences in pharmacokinetic/pharmacodynamic relationships revealed by striatal microdialysis in freely-moving rats with simultaneous determination of plasma drug concentrations and locomotor activity. **Neuropharmacology**, v. 63, n. 6, p. 1064-74, Nov 2012. ISSN 1873-7064 (Electronic) 0028-3908 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22796358> >.

RUKTANONCHAI, D. J. et al. Persistent Hyperactivity Following a Single Intracerebroventricular Dose of Ouabain. **Physiology & Behavior**, v. 63, n. 3, p. 403-406, 1998. ISSN 0031-9384. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0031938497004575> >.

SADANANDA, M.; WÖHR, M.; SCHWARTING, R. K. W. Playback of 22-kHz and 50-kHz ultrasonic vocalizations induces differential c-fos expression in rat brain. **Neuroscience Letters**, v. 435, n. 1, p. 17-23, 2008. ISSN 0304-3940. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304394008001729> >.

SÁNCHEZ, C. Stress-induced vocalisation in adult animals. A valid model of anxiety? **Eur J Pharmacol**, v. 463, n. 1-3, p. 133-143, 2003. ISSN 0014-2999. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0014299903012779> >.

SCHEUING, L. et al. **Antidepressant mechanism of ketamine: perspective from preclinical studies.** Frontiers in neuroscience. 9: 249 p. 2015.

SCHWARTING, R. K. W.; JEGAN, N.; WÖHR, M. Situational factors, conditions and individual variables which can determine ultrasonic vocalizations in male adult Wistar rats. **Behav Brain Res**, v. 182, n. 2, p. 208-222, 2007. ISSN 0166-4328. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0166432807000769> >.

SCHWARTING, R. K. W.; WÖHR, M. On the relationships between ultrasonic calling and anxiety-related behavior in rats. **Brazilian journal of medical and biological research = Revista brasileira de pesquisas medicas e biologicas / Sociedade Brasileira de Biofisica ... [et al.]**, v. 45, n. 4, p. 337-348, 2012/04// 2012. ISSN 0100-879X. Disponível em: < <http://europepmc.org/abstract/MED/22437483>

SEEMAN, P. Atypical antipsychotics: mechanism of action. **Focus**, 2015.

SHALDUBINA, A. et al. Preliminary evaluation of oral anticonvulsant treatment in the quinpirole model of bipolar disorder. **J Neural Transm (Vienna)**, v. 109, n. 3, p. 433-440, 2002// 2002. ISSN 1435-1463. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1007/s007020200035> >.

SHINOZAKI, G.; POTASH, J. B. New Developments in the Genetics of Bipolar Disorder. **Current Psychiatry Reports**, v. 16, n. 11, p. 1-10, 2014// 2014. ISSN 1535-1645. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1007/s11920-014-0493-5> >.

SHISLAK, C. M.; PERSE, T.; CRAGO, M. Coexistence of bulimia nervosa and mania: A literature review and case report. **Comprehensive Psychiatry**, v. 32, n. 2, p. 181-184, 1991. ISSN 0010-440X. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0010440X9190011Z> >. Acesso em: 1991/4//.

SIMOLA, N. Rat ultrasonic vocalizations and behavioral neuropharmacology: from the screening of drugs to the study of disease. **Current neuropharmacology**, v. 13, n. 2, p. 164-179, 2015. ISSN 1570-159X.

SIMOLA, N. et al. Pharmacological characterization of 50-kHz ultrasonic vocalizations in rats: Comparison of the effects of different psychoactive drugs and relevance in drug-induced reward. **Neuropharmacology**, v. 63, n. 2, p. 224-234, 2012. ISSN 0028-3908. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0028390812001116> >.

SIMPSON, S. G. et al. Bipolar II: the most common bipolar phenotype? **The American journal of psychiatry**, v. 150, n. 6, p. 901-903, 1993/06// 1993. ISSN 0002-953X. Disponível em: < <http://europepmc.org/abstract/MED/8494066> <http://ajp.psychiatryonline.org/cgi/content/abstract/150/6/901> >.

SONG, C.; LEONARD, B. E. The olfactory bulbectomized rat as a model of depression. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 29, n. 4-5, p. 627-647, 2005. ISSN 0149-7634. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0149763405000394> >.

SOUZA, F. G. D. M. Bipolar disorder treatment: euthymia. **Archives of Clinical Psychiatry (São Paulo)**, v. 32, p. 63-70, 2005. ISSN 0101-6083.

SZABO, S. T. et al. Glutamate receptors as targets of protein kinase C in the pathophysiology and treatment of animal models of Mania.

**Neuropharmacology**, v. 56, n. 1, p. 47-55, 2009. ISSN 0028-3908. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0028390808003651> >.

THOMAS, D. A.; TAKAHASHI, L. K.; BARFIELD, R. J. Analysis of ultrasonic vocalizations emitted by intruders during aggressive encounters among rats (*Rattus norvegicus*). **Journal of comparative psychology (Washington, D.C. : 1983)**, v. 97, n. 3, p. 201-206, 1983/09// 1983. ISSN 0735-7036. Disponível em: < <http://europepmc.org/abstract/MED/6684525> >.

THOMPSON, B.; LEONARD, K. C.; BRUDZYNSKI, S. M. Amphetamine-induced 50 kHz calls from rat nucleus accumbens: A quantitative mapping study and acoustic analysis. **Behav Brain Res**, v. 168, n. 1, p. 64-73, 2006. ISSN 0166-4328. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0166432805004560> >.

TONELLI, D. A. et al. The antimanic-like effect of phenytoin and carbamazepine on methylphenidate-induced hyperlocomotion: role of voltage-gated sodium channels. **Fundamental & clinical pharmacology**, v. 27, n. 6, p. 650-655, 2013. ISSN 1472-8206.

TSO, M. M. et al. Stereoselective effects of ketamine on dopamine, serotonin and noradrenaline release and uptake in rat brain slices. **Neurochem Int**, v. 44, n. 1, p. 1-7, 2004. ISSN 0197-0186. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0197018603001049> >.

TUFIK, S.; LINDSEY, C. J.; CARLINI, E. A. Does REM Sleep Deprivation Induce a Supersensitivity of Dopaminergic Receptors in the Rat Brain? **Pharmacology**, v. 16, n. 2, p. 98-105, 1978. ISSN 0031-7012. Disponível em: < <http://www.karger.com/DOI/10.1159/000136753> >.

VAN KAMMEN, D. P. et al. Lithium attenuates the activation-euphoria but not the psychosis induced by d-amphetamine in schizophrenia. **Psychopharmacology**, v. 87, n. 1, p. 111-115, 1985// 1985. ISSN 1432-2072. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1007/BF00431789> >.

VAN KAMMEN, D. P.; MURPHY, D. L. Attenuation of the euphoriant and activating effects of d- and l-amphetamine by lithium carbonate treatment. **Psychopharmacologia**, v. 44, n. 3, p. 215-224, 1975// 1975. ISSN 1432-2072. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1007/BF00428897> >.

VIZI, E. Stimulation, by inhibition of (Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-Mg<sup>2+</sup>)-activated, ATP-ase, of acetylcholine release in cortical slices from rat brain. **The Journal of physiology**, v. 226, n. 1, p. 95-117, 1972. ISSN 1469-7793.

VOLKOW, N. D. et al. Hyperstimulation of striatal D2 receptors with sleep deprivation: Implications for cognitive impairment. **NeuroImage**, v. 45, n. 4, p. 1232-1240, 2009. ISSN 1053-8119. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1053811909000159> >.

VOLKOW, N. D. et al. Imaging the effects of methylphenidate on brain dopamine: new model on its therapeutic actions for attention-deficit/hyperactivity disorder. **Biological psychiatry**, v. 57, n. 11, p. 1410-1415, 2005. ISSN 0006-3223.

VOLKOW, N. D. et al. Sleep deprivation decreases binding of [11C] raclopride to dopamine D2/D3 receptors in the human brain. **The Journal of Neuroscience**, v. 28, n. 34, p. 8454-8461, 2008. ISSN 0270-6474.

WETSEL, W. C. et al. Tissue and cellular distribution of the extended family of protein kinase C isoenzymes. **The Journal of cell biology**, v. 117, n. 1, p. 121-133, 1992/04// 1992. ISSN 0021-9525. Disponível em: < <http://europepmc.org/abstract/MED/1556149>

WHITE, F. J.; KALIVAS, P. W. Neuroadaptations involved in amphetamine and cocaine addiction. **Drug & Alcohol Dependence**, v. 51, n. 1, p. 141-153, 1998. ISSN 0376-8716. Disponível em: < [http://dx.doi.org/10.1016/S0376-8716\(98\)00072-6](http://dx.doi.org/10.1016/S0376-8716(98)00072-6) >. Acesso em: 2016/10/04.

WHITEFORD, H. A. et al. Global burden of disease attributable to mental and substance use disorders: findings from the Global Burden of Disease Study 2010. **The Lancet**, v. 382, n. 9904, p. 1575-1586, 2013. ISSN 0140-6736. Disponível em: < [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(13\)61611-6](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(13)61611-6) >. Acesso em: 2016/10/04.

WILLIAMS, S. N.; UNDIH, A. S. Brain-Derived Neurotrophic Factor Signaling Modulates Cocaine Induction of Reward-Associated Ultrasonic Vocalization in Rats. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 332, n. 2, p. 463-468, 2010.

WINTINK, A. J.; BRUDZYNSKI, S. M. The related roles of dopamine and glutamate in the initiation of 50-kHz ultrasonic calls in adult rats. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 70, n. 2-3, p. 317-323, 2001. ISSN 0091-3057. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0091305701006153> >. Acesso em: 2001/11//.

WÖHR, M.; BORTA, A.; SCHWARTING, R. K. W. Overt behavior and ultrasonic vocalization in a fear conditioning paradigm: A dose-response study in the rat. **Neurobiology of Learning and Memory**, v. 84, n. 3, p. 228-240, 2005. ISSN 1074-7427. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1074742705000584> >.

WÖHR, M. et al. Effects of experience and context on 50-kHz vocalizations in rats. **Physiology & Behavior**, v. 93, n. 4-5, p. 766-776, 2008. ISSN 0031-9384. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0031938407004751> >.

WÖHR, M. et al. Critical involvement of 5-HT<sub>2C</sub> receptor function in amphetamine-induced 50-kHz ultrasonic vocalizations in rats. **Psychopharmacology**, v. 232, n. 10, p. 1817-1829, 2015. ISSN 0033-3158.

WÖHR, M.; SCHWARTING, R. K. W. Chapter 4.2 - Activation of limbic system structures by replay of ultrasonic vocalization in rats. In: STEFAN, M. B. (Ed.). **Handbook of Behavioral Neuroscience**: Elsevier, v. Volume 19, 2010. p.113-124. ISBN 1569-7339.

YATHAM, L. N. et al. Atypical antipsychotics in bipolar depression: potential mechanisms of action. **The Journal of clinical psychiatry**, v. 66 Suppl 5, p. 40-48, 2005. ISSN 0160-6689. Disponível em: < <http://europepmc.org/abstract/MED/16038601> >.

YATHAM, L. N. et al. PET study of the effects of valproate on dopamine D(2) receptors in neuroleptic- and mood-stabilizer-naive patients with nonpsychotic mania. **The American journal of psychiatry**, v. 159, n. 10, p. 1718-1723, 2002. ISSN 0002-953X. Disponível em: < <http://europepmc.org/abstract/MED/12359678>

YILDIZ, A. et al. Protein kinase c inhibition in the treatment of mania: A double-blind, placebo-controlled trial of tamoxifen. **Archives of General Psychiatry**, v. 65, n. 3, p. 255-263, 2008. ISSN 0003-990X. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1001/archgenpsychiatry.2007.43> >.

YOUNG, A. H.; HAMMOND, J. M. Lithium in mood disorders: increasing evidence base, declining use? **The British Journal of Psychiatry**, v. 191, n. 6, p. 474-476, 2007. ISSN 0007-1250.

YOUNG, J. W.; HENRY, B. L.; GEYER, M. A. Predictive animal models of mania: hits, misses and future directions. **British journal of pharmacology**, v. 164, n. 4, p. 1263-1284, 2011. ISSN 1476-5381.

ZUGNO et al. Omega-3 fatty acids prevent the ketamine-induced increase in acetylcholinesterase activity in an animal model of schizophrenia. **Life Sciences**, v. 121, p. 65-69, 2015. ISSN 0024-3205. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0024320514009461> >.

ZUGNO, A. I. et al. Maternal deprivation disrupts mitochondrial energy homeostasis in the brain of rats subjected to ketamine-induced schizophrenia. **Metab Brain Dis**, v. 30, n. 4, p. 1043-1053, 2015. ISSN 1573-7365. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1007/s11011-015-9671-3> >.