

RONALDO COELHO SILVA

**EFEITOS DOS BLOQUEADORES DO RECEPTOR GLUTAMATÉRGICO TIPO  
NMDA NA TAREFA DE ILUSÃO DE MÜLLER-LYER EM PRIMATAS NÃO-  
HUMANOS (*SAPAJUS* SPP.).**

Brasília

2020



**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA**  
**FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**

RONALDO COELHO SILVA

**EFEITOS DOS BLOQUEADORES DO RECEPTOR GLUTAMATÉRGICO TIPO  
NMDA NA TAREFA DE ILUSÃO DE MÜLLER-LYER EM PRIMATAS NÃO-  
HUMANOS (*SAPAJUS* SPP.).**

Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade de Brasília.

Orientador: Prof. Dr. Rafael Plakoudi Souto Maior

Brasília  
2020

RONALDO COELHO SILVA

**EFEITOS DOS BLOQUEADORES DO RECEPTOR GLUTAMATÉRGICO TIPO  
NMDA NA TAREFA DE ILUSÃO DE MÜLLER-LYER EM PRIMATAS NÃO-  
HUMANOS (*SAPAJUS* SPP.).**

Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade de Brasília.

**Aprovado em 13 de fevereiro de 2020**

**BANCA EXAMINADORA**

**Prof. Dr. Rafael Plakoudi Souto Maior (Presidente)**

**Universidade de Brasília**

**Profa. Dra. Márcia Renata Mortari**

**Universidade de Brasília**

**Prof. Dr. Mauricio Homem de Mello**

**Universidade de Brasília**

**Prof. Dr. Fábio Viegas Caixeta**

**Universidade de Brasília (Suplente)**

*Dedico este trabalho a minha amada esposa Leiziane Araújo Coelho Barros, por sua parceria, compreensão, paciência e apoio durante o período de realização deste estudo. Te amo Zizi!*

## AGRADECIMENTOS

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade de Brasília pela oportunidade de realização deste trabalho.

À CAPES pelo apoio financeiro.

A meus pais, Adão Gomes da Silva e Pedra Coelho Silva, por me guiarem ao longo da vida e me incentivarem a seguir meus objetivos com perseverança. Aos meus irmãos Ricardo Coelho Silva, e Valéria Coelho Silva, pelo apoio e afeto.

Aos amigos que de forma direta, ou indireta me deram apoio para a realização deste estudo, em especial os colegas de trabalho da Seção de Doutrina, Ensino e Pesquisa do Grupamento de Atendimento de Emergência Pré-Hospitalar do CBMDF.

Ao amigo Fábio Ometto Dias pelo incentivo inicial que me fez regressar ao campo da pesquisa.

A Antonizete dos Reis Souza e Juliana Sales pelo apoio durante as administrações e o excelente cuidado com os animais.

A Geinaldo Vieira, Almir Gomes e, Lindionor Rodrigues, pela ajuda com a captura dos sujeitos e por estarem sempre dispostos a ajudar no que fosse necessário.

Ao senhor Alexis Souto Maior pela elaboração da caixa para o projeto e por estar sempre disponível em contribuir com a pesquisa.

A Mariana Bicalho, pela sua inestimável contribuição com a elaboração das imagens, pela ajuda no treinamento dos animais e auxílio em diversas etapas do projeto. A Lorena Priscila O. Rocha, pelo apoio e por estar sempre disposta a ajudar no que fosse preciso.

A Luana Lima Alves e Nathália Lima, pela ajuda com o treinamento dos sujeitos e contribuição com o projeto.

A Pedro H. Coelho Cordeiro, pelo seu comprometimento, apoio e colaboração com esta pesquisa, que durante grande parte deste trabalho contribuiu com o treinamento diário dos sujeitos, tendo sempre boas ideias que ajudaram a concluir este estudo.

Por fim, ao meu orientador e excelente pesquisador Prof. Dr. Rafael Plakoudi Souto Maior, que me proporcionou fazer parte deste trabalho e confiou em meu entusiasmo de continuar na jornada acadêmica. Obrigado pelos conselhos, sugestões e por sua paciência, principalmente onde me faltava experiência nas diversas etapas deste estudo. Serei eternamente grato por essa oportunidade!

*“Quanto mais me aprofundo na ciência, mais me aproximo de Deus”.*

**Albert Einstein**

## RESUMO

A esquizofrenia é uma doença psiquiátrica grave e incapacitante e está entre as mais pesquisadas, devido a grandes avanços no entendimento de sua neurofisiologia nos últimos anos. As causas do aparecimento da patologia ainda permanecem sem esclarecimento, uma vez que a enfermidade apresenta componentes multifatoriais. Estudos prévios demonstraram que pacientes com esquizofrenia possuem uma sensibilidade alterada às ilusões visuais, entre elas a de Müller-Lyer, que consiste no julgamento de dois segmentos de retas paralelas, que apesar de terem o mesmo comprimento são percebidas como se tivessem comprimentos distintos. Em trabalhos anteriores de nosso grupo, foi demonstrado que macacos-prego (*Sapajus* spp.) são sensíveis também a essa ilusão, e que a administração subcrônica de MK-801 (um antagonista de receptor glutamatérgico NMDA) diminui a sensibilidade à ilusão. O presente trabalho tem como objetivo estudar as possíveis alterações na percepção visual dos macacos *Sapajus* spp. no teste da ilusão de Müller-Lyer usando duas drogas que simulam alguns sinais psicotomiméticos, além de comparar as ações destes dois compostos. Para isso, foi elaborado um *script* no programa E-Prime, que permite a implementação do teste e a manipulação dos estímulos visuais. Foram utilizados cinco animais (quatro fêmeas e um macho). Os indivíduos foram treinados para escolher a menor entre duas retas, independentemente do contexto (*i.e.*, orientação das setas). Depois da etapa de treino, foi determinado o Ponto de Igualdade Subjetiva (PIS) sem setas e com setas, para cada um dos indivíduos. Posteriormente, os indivíduos foram testados no PIS correspondente ao longo de 11 dias: 1 dia de veículo, 1 dia de MK-801 e 1 dia de cetamina, totalizando 3 dias na primeira etapa e, posteriormente, 4 dias com administração de veículo e 4 dias com administração de cetamina, totalizando 8 dias na segunda etapa. Os resultados indicam que a administração aguda de MK-801 e cetamina, e a administração subcrônica de cetamina, não alteraram a susceptibilidade dos macacos-prego no teste da ilusão. Assim, apenas administrações agudas de MK-801 poderiam induzir alterações na tarefa, bem como, mais testes com diferentes variações nas doses de cetamina ajudariam a elucidar sua ação no teste da ilusão de Müller-Lyer.

**Palavras-chave:** Esquizofrenia; ilusão de Müller-Lyer; MK-801; cetamina; *Sapajus*

## ABSTRACT

Schizophrenia is a severe and disabling psychiatric disease and is among the most researched due to great advances in understanding its neurophysiology in recent years. The cause of appearance the pathology still remain unclear, since the disease multifactorial components. Previous studies have shown that patients with schizophrenia have altered sensitivity to visual illusions, including the one by Müller-Lyer's, which consists in judging two parallel line segments, which despite having the same length are perceived as having different lengths. In previous work by our group was shown capuchin monkeys (*Sapajus* spp) are sensitivity at this illusion and subchronic administration of MK-801 (a NMDA glutamatergic receptor antagonist) decreases of sensibility of the illusion. The present work has objective studied the possible alterations in visual perceptual in the capuchin monkeys in the Müller-Lyer's illusion using two drugs that simulate some psychotomimetic signals, in addition to comparing the actions of these two compounds. To achieve that, a script using the program E-Prime was developed to test the illusion and to modify certain parameters of the illusion. Five animals were used (four were females and one was male). First, the animals had to be trained to choose the shorter between the two lines with arrows, regardless of the context (*i.e.*, the orientation of the arrows). Later, the Point of Subjective Equality (PSE) was determined for each animal. Finally, the subjects were tested, using their own previously determined PSE, for eleven days: one day with vehicle injections, one day with MK-801 injections, one day with ketamine injection, totaling three days in the first stage, subsequently; four days with vehicle injections and four days with ketamine injections, totaling eight days in the second stage. Results indicate that, the acute administration of MK-801 and ketamine, and the subchronic administration of ketamine, did not alter the susceptibility of capuchin monkeys in the Müller-Lyer's illusion. Thus, only acute administration of MK-801 could induce changes in the task, as well as, more tests with different variations in the doses of ketamine would help to elucidate is action in the Müller-Lyer's illusion.

**Key words:** Schizophrenia, Müller-Lyer's illusion, MK-801, ketamine, *Sapajus*.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Ilusão Horizontal-vertical

Figura 2 – Ilusão de Poggendorff

Figura 3 – Ilusão de Müller-Lyer

Figura 4 – Exemplo de macaco adulto de *Sapajus* spp

Figura 5 – Visão dos viveiros dos *Sapajus* spp. da FAL (UnB). (a) externa (b) interna

Figura 6 – Aparato experimental utilizado

Figura 7 – Imagem da tela principal do programa E-Prime, com exemplo de lista de imagens dos estímulos a ser apresentadas aos indivíduos

Figura 8 – Retas com setas (a) divergentes (b) convergentes

Figura 9 – Retas sem setas apresentadas (a) individualmente (b) em pares

Figura 10 – Retas com setas apresentadas em pares (a) mesma orientação das setas (b) com orientação diferente das setas

Figura 11 – Paredes de tecido para isolar visualmente o indivíduo no seu viveiro durante a tarefa

Figura 12 – Ordem de realização das etapas do estudo: (1) Etapa de treino, (2) Etapa de determinação do PIS e (3) Experimentos

Figura 13 – Estímulos da fase 1 localizados na parte (a) inferior ou (b) superior da tela

Figura 14 – Estímulos utilizados na fase 1 (a) e fase 2 (b)

Figura 15 – Estímulos utilizados na fase 3, ambas com setas (a) convergentes ou (b) divergentes

Figura 16 – Estímulos da Fase 4 em que a linha menor apresenta seta (a) convergente ou (b) divergente

Figura 17 – Ilustração da sequência utilizada para calcular o PIS em um indivíduo hipotético

Figura 18 – Esquema do (a) 'par controle' e (b) 'par ilusão' da etapa do PIS com setas

Figura 19 – Sequência temporal aplicada para realizar o primeiro experimento em cada um dos indivíduos

Figura 20 – Sequência temporal aplicada para realizar o segundo experimento em cada um dos indivíduos

Figura 21 – PIS sem setas estabelecido para cada um dos indivíduos

Figura 22 – PIS com setas estabelecido para cada um dos indivíduos

Figura 23 – Média da diferença do tamanho das retas no PIS com e sem setas

Figura 24 – Porcentagem de acertos no par controle e no par ilusão no primeiro experimento (veículo, MK-801, cetamina)

Figura 25 – Porcentagem de acertos do indivíduo 1 no ponto de igualdade subjetiva PIS 28 no segundo experimento (veículo x cetamina)

Figura 26 – Porcentagem de acertos do indivíduo 2 no ponto de igualdade subjetiva PIS 28 no segundo experimento (veículo x cetamina)

Figura 27 – Porcentagem de acertos do indivíduo 3 no ponto de igualdade subjetiva PIS 50 no segundo experimento (veículo x cetamina)

Figura 28 – Porcentagem de acertos do indivíduo 4 no ponto de igualdade subjetiva PIS 46 no segundo experimento (veículo x cetamina)

Figura 29 – Porcentagem de acertos do indivíduo 5 no ponto de igualdade subjetiva PIS 30 no segundo experimento (veículo x cetamina)

Figura 30 – Porcentagem média de acertos dos 4 dias de administração no par controle e no par ilusão no segundo experimento (veículo e cetamina)

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Comprimento das retas nas tentativas de cada uma das sessões utilizadas para calcular o PIS sem setas

Tabela 2 – Comprimento das retas nas tentativas de cada uma das sessões utilizadas para calcular o PIS com setas

Tabela 3 – Comparação do número de tentativas necessária para alcançar o critério de aprendizagem em cada fase

Tabela 4 – Número de tentativas por faixa etária dos indivíduos em cada uma das fases

Tabela 5 – PIS sem setas (em porcentagem) de cada um dos indivíduos com a diferença de comprimento referente as retas

Tabela 6 – PIS com setas (em porcentagem) para cada um dos indivíduos com a diferença de comprimento referente as retas

Tabela 7 – Comparação do desempenho dos indivíduos no PIS sem setas e PIS com setas em função da faixa etária

Tabela 8 – Porcentagem de acertos do ‘par controle’ para cada um dos indivíduos, para cada dia, no 1º experimento

Tabela 9 – Análise dos fatores condição (par controle e ilusão) e tratamento, e da interação entre eles, usando o two-way ANOVA

Tabela 10 – Porcentagem de acertos do ‘par controle’ para cada um dos indivíduos, para cada dia, no 2º experimento (veículo x cetamina)

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

|                   |   |
|-------------------|---|
| 5-HT <sub>2</sub> | Receptor de Serotonina do tipo 2                                |
| ANOVA             | Análise de variância  |
| CEUA              | Comitê de Ética de Uso Animal                                   |
| CP                | Centro de Primatologia  |
| D <sub>2</sub>    | Receptor de Dopamina do tipo 2                                  |
| DA                | Dopamina  |
| fMRI              | Ressonância Magnética Funcional                                 |
| FAL               | Fazenda Água Limpa  |
| GABA              | Ácido Gama Aminobutírico  |
| Glu               | Glutamato   |
| IBAMA             | Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Renováveis |
| LSD               | Dietilamida do Ácido Lisérgico                                  |
| MK-801            | Dizocilpina   |
| MLI               | Ilusão de Müller-Lyer (Müller-Lyer Ilusion)                     |
| NMDA              | N-metil-D-Aspartato   |
| NMDAR             | Receptor do tipo NMDA   |
| PIS               | Ponto de Igualdade Subjetiva                                    |
| PCP               | Fenciclidina  |
| PPI               | Inibição Pré-Pulso (Prepulse Inhibition)                        |
| SNC               | Sistema Nervoso Central   |
| V1                | Córtex Visual Primário  |
| V2                | Córtex Visual Secundário  |

## SUMÁRIO

|  |    |
|--|----|
| 1 INTRODUÇÃO .....   | 11 |
| 1.1 ESQUIZOFRENIA.....                                       | 11 |
| 1.2 NEUROTRANSMISSORES .....                                 | 12 |
| 1.3 MK-801 e CETAMINA.....                                   | 15 |
| 1.4 PERCEPÇÃO E ILUSÕES VISUAIS .....                        | 17 |
| 1.4.1 Ilusão de Müller-Lyer .....                            | 21 |
| 1.5 A IMPORTÂNCIA DOS PRIMATAS EM PESQUISAS .....            | 22 |
| 2 OBJETIVOS .....  | 25 |
| 2.1 OBJETIVO GERAL .....                                     | 25 |
| 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....                               | 25 |
| 3 MÉTODO.....  | 26 |
| 3.1 ASPECTOS ÉTICOS .....                                    | 26 |
| 3.2 LOCAL DE REALIZAÇÃO.....                                 | 26 |
| 3.3 SUJEITOS E CONDIÇÕES GERAIS DE ALOJAMENTO E MANEJO ..... | 27 |
| 3.4 APARATO EXPERIMENTAL .....                               | 28 |
| 3.5 SOFTWARE UTILIZADO .....                                 | 28 |
| 3.6 EXPERIMENTADORES.....                                    | 31 |
| 3.7 PROCEDIMENTO.....  | 31 |
| 3.8 ETAPA DE TREINO.....                                     | 33 |
| 3.8.1 Fase 1 .....   | 33 |
| 3.8.2 Fase 2.....  | 34 |
| 3.8.3 Fase 3.....  | 35 |
| 3.8.4 Fase 4.....  | 36 |

|   |    |
|---|----|
| 3.9 ETAPA DE DETERMINAÇÃO DO PONTO DE IGUALDADE SUBJETIVA (PIS) | 37 |
| 3.9.1 PIS sem setas   | 37 |
| 3.9.2 PIS com setas   | 39 |
| 3.10 EXPERIMENTOS   | 42 |
| 3.10.1 Administração de veículo, MK-801 e cetamina              | 43 |
| 3.10.2 Administração subcrônica de cetamina e veículo           | 44 |
| 4 RESULTADOS  | 44 |
| 4.1 ETAPA DE TREINO   | 45 |
| 4.2 DETERMINAÇÃO DO PONTO DE IGUALDADE SUBJETIVA (PIS)          | 46 |
| 4.2.1 PIS sem setas   | 46 |
| 4.2.2 PIS com setas   | 48 |
| 4.3 EXPERIMENTOS  | 50 |
| 4.3.1 Administração de veículo, MK-801 e Cetamina               | 51 |
| 4.3.2 Administração subcrônica de veículo x cetamina            | 52 |
| 5 DISCUSSÃO   | 57 |
| 5.1 ETAPA DE TREINO   | 57 |
| 5.2 ETAPA DE DETERMINAÇÃO PONTO DE IGUALDADE SUBJETIVA (PIS)    | 58 |
| 5.3 EXPERIMENTOS  | 59 |
| 6 CONCLUSÃO   | 64 |
| 7 REFERÊNCIAS   | 65 |
| APÊNDICE A – TABELA DE DESEMPENHO                               | 80 |
| ANEXO A – APROVAÇÃO DO CEUA – IB/UnB                            | 81 |

## 1 INTRODUÇÃO

### 1.1 ESQUIZOFRENIA

A esquizofrenia e os denominados transtornos esquizofrênicos constituem um grupo de distúrbios mentais graves, sem sintomas patognomônicos, afetando 1% da população mundial (1-2). É bastante alta a morbidez: quase 80% das pessoas que sofrem com esse distúrbio ficam impossibilitados de trabalhar, além da alta taxa de mortalidade por suicídio, que chega a quase 10% (3). Embora não tenha sido descoberto um mecanismo claro para explicar a doença, prejuízos complexos podem surgir nas funções integrativas resultando em uma síndrome de desconectividade de grande escala (4).

A esquizofrenia apresenta-se inicialmente durante a adolescência e geralmente em episódios que vão se repetindo ao longo da vida do indivíduo (5) em que os aflingidos apresentam uma percepção distorcida da realidade (6).

A doença afeta principalmente o desenvolvimento neural, contribuindo para um decréscimo das conectividades neuronais (7). Além disso, é uma patologia de característica multifatorial (8). Assim, as características genéticas relacionada à esquizofrenia, ao desenvolvimento cerebral comprometido e aos fatores ambientais envolvidos parecem ser os responsáveis (9).

A esquizofrenia apresenta algumas características clínicas bem definidas, e geralmente são agrupadas em sintomas positivos, negativos e cognitivos (10). Os sintomas positivos refletem a presença de pensamento e comportamentos anormais e incluem alucinações auditivas e visuais, delírios, desordens de pensamento e de movimento, comportamento grosseiramente desorganizado ou catatônico (imobilidade ou atividade motora sem motivo) entre os sintomas principais (11). Os negativos refletem a ausência de respostas que normalmente estão presentes, e aparecem, em geral, como uma redução ou ausência de socialização, embotamento afetivo, déficit da fala, entre outros. E os cognitivos incluem falhas na memória operacional, de atenção, incoerência na fala, e disfunções da percepção visual gerada pela diminuição do processamento sensorial entre outros (12). Nesse sentido, sugeriu-se que os déficits cognitivos estão associados com alterações no entendimento das

informações armazenadas na mente de tal forma que elas podem ser usadas para medir uma resposta comportamental apropriada (representação interna do contexto) (13).

## 1.2 NEUROTRANSMISSORES

As dificuldades metodológicas inerentes aos estudos neuropatológicos, os achados inconsistentes e o advento dos antipsicóticos, fizeram com que as pesquisas passassem a focar os neurotransmissores como elementos centrais na gênese da esquizofrenia (14-15). Mesmo assim os estudos são muito divididos e por isso é complexo propor um modelo plausível para explicar o desenvolvimento da esquizofrenia (16). Entre esses sistemas de neurotransmissores, o glutamatérgico tem recebido uma atenção especial, principalmente pela sua inervação no córtex cerebral (17).

A hipótese da hipofunção glutamatérgica na origem da esquizofrenia estabelece uma relação entre o bloqueio da função dos receptores NMDA (N-metil-D-Aspartato) por drogas como fenciclidina (PCP), MK-801 (dizocilpina), e cetamina, substâncias que bloqueiam a transmissão desses receptores, e os sintomas psicóticos caracterizados na esquizofrenia (18-20). O glutamato tem um importante papel na migração neuronal, na sinaptogênese, no desenvolvimento de neuritos, e na poda neuronal por apoptose. Há uma grande diversidade de subtipos de receptores glutamatérgicos que são codificados geneticamente, mas cuja expressão pode ser alterada por fatores ambientais durante o desenvolvimento cerebral, criando um modelo de disfunção glutamatérgica para a interação de fatores de risco genéticos e ambientais observados na esquizofrenia (21). Nesse sentido, foi relatado que cérebros de pacientes esquizofrênicos apresentam menores concentrações de glutamato e baixa concentração de receptores glutamatérgicos (22). Assim, a hipofunção do receptor NMDA por si só parece ser um possível mecanismo para explicar a esquizofrenia (18, 23).

É postulado que o antagonismo nos receptores NMDA no córtex pré-frontal diminui a liberação de GABA (Ácido Gama Aminobutírico) nesta área, induzindo os comportamentos psicotomiméticos negativos e cognitivos ao passo que o bloqueio

dos receptores NMDA no sistema límbico aumenta a liberação de dopamina e causa os sintomas positivos (24). Nesse sentido, já foram identificadas várias evidências de alterações nos sistemas GABAérgicos na esquizofrenia (25). Uma delas está relacionada à inibição por pré-pulso (PPI, pelas siglas em inglês, Prepulse Inhibition), uma medida de controle inibitório do processamento da informação. Em indivíduos saudáveis, existe uma redução da magnitude do sobressalto quando o estímulo (geralmente acústico – chamado de pulso) é precedido por um pré-pulso de menor intensidade. Alguns estudos sugerem que o hipocampo participa da regulação da inibição do sobressalto após o pulso (26-30), e devido essa área ter uma quantidade de neurônios GABAérgicos menor na esquizofrenia, a inibição do sobressalto não acontece, ou seja, o indivíduo sobressalta da mesma forma com ou sem o pré-pulso. Dessa forma, o teste PPI vem sendo amplamente utilizado como uma medida da habilidade de captar informação sensorial e motora em modelos de esquizofrenia (31).

Além disso, estudos *post-mortem* identificaram alteração na densidade de receptores glutamatérgicos no córtex pré-frontal, tálamo e lobo temporal, áreas que apresentam ativação diminuída durante testes de performance em esquizofrênicos (21). Nesse sentido, estudos relataram que a administração de antagonistas do receptor glutamatérgico de NMDA poderia exercer, pelo menos em parte, seu efeito no córtex pré-frontal pela ativação da neurotransmissão glutamatérgica em receptores do tipo não-NMDA no cérebro de roedores e macacos (32-34).

Outra importante hipótese relacionada à etiologia da esquizofrenia é a hipótese serotoninérgica. Esta foi postulada a partir de observações em que certas drogas alucinógenas induzem sintomas parecidos com o de pacientes esquizofrênicos (35). Estes fármacos, como por exemplo o LSD, têm seus efeitos mediados preferencialmente por receptores serotoninérgicos e causam sintomas como desrealização, despersonalização e alucinações visuais, semelhantes a alguns sintomas da esquizofrenia. Esses efeitos se dão por intermédio do agonismo de receptores serotoninérgicos e, assim, estes achados levantaram a possibilidade de que um déficit de serotonina estivesse ligado a patogênese da doença (36).

A serotonina também tem um efeito modulador inibitório nos neurônios dopaminérgicos de tipo D<sub>2</sub> do estriado e da substância negra, entretanto, as alterações dos mecanismos serotoninérgicos no córtex pré-frontal dos esquizofrênicos podem resultar em uma hiperfunção dopaminérgica. Um indicativo dessa hipótese é a eficácia do fármaco antipsicótico clozapina, em relação a outros

antipsicóticos, em função de sua atuação nas duas vias, tanto a serotoninérgica (atuando nos receptores 5-HT<sub>2</sub>) quanto na dopaminérgica (ligante nos receptores tipo D<sub>2</sub>) (36).

A primeira teoria proposta de alteração nos neurotransmissores sugerida foi a dopaminérgica. Ela foi relatada ao descobrir que algumas substâncias com efeito antipsicótico bloqueavam os receptores de dopamina (DA) do tipo D<sub>2</sub> no cérebro, diminuindo bruscamente os sintomas psicóticos (37). Em seguida, vários estudos realizados com humanos e animais expostos a substâncias que produzem efeitos muito similares ao observado em quadros psicóticos, comuns em pacientes com esquizofrenia, como a anfetamina e a apomorfina (38-40). Esses fármacos são agonistas de receptores dopaminérgicos do tipo D<sub>2</sub> e causam efeitos psicofarmacológicos semelhantes aos sintomas positivos da esquizofrenia.

A dopamina (DA) é um dos principais neurotransmissores moduladores no cérebro e, assim, foi associado que a existência de uma hiperfunção no sistema dopaminérgico nos neurônios da via mesolímbica poderia ser a causa da esquizofrenia (37). A via mesolímbica projeta-se dos corpos celulares da área tegmental ventral do mesencéfalo para o sistema límbico, como núcleo accumbens e o complexo amigdalóide. Nesse contexto, acredita-se que na esquizofrenia haja uma hiperatividade dopaminérgica nessa via e que essa disfunção esteja relacionada aos sintomas positivos (41). Além da via mesolímbica, a via mesocortical, a nigro-estriatal e a túbero-hipofisal também estão envolvidas na neurotransmissão dopaminérgica. A via mesocortical, também possui corpos celulares localizados na área tegmental ventral do mesencéfalo. Contudo, esses neurônios projetam-se para áreas corticais, principalmente o córtex pré-frontal. Nessa via, acredita-se que exista uma hipofunção dopaminérgica, responsável por causar os efeitos cognitivos e negativos da esquizofrenia (42-43). A via nigro-estriatal faz parte do sistema nervoso extrapiramidal, possuindo corpos celulares da substância negra e terminais axônicos no estriado e núcleo da base. Ela está relacionada, principalmente a comportamentos motores (44). Por fim, a via túbero-hipofisal é formada por pequenos neurônios que possuem corpos neuronais no hipotálamo ventral e se projetam para a glândula pituitária (41). Contudo, as vias nigro-estriatal e túbero-hipofisal não apresentam disfunções na esquizofrenia, entretanto estão altamente associadas aos efeitos adversos originados pelos fármacos antipsicóticos (45). No entanto, a associação entre sintomas esquizofrênicos e hiperatividade da dopamina já vem sendo

questionada (46), pois esse mecanismo não é necessariamente o único possível para o desenvolvimento da atividade psicótica. Além disso, alguns pacientes não responderam aos tratamentos convencionais com antipsicóticos baseados na hiperatividade dopaminérgica (47). Logo, o descobrimento da hiperatividade dopaminérgica não levou à compreensão da total da patofisiologia ou às causas das desordens esquizofrênicas, porém essa hipótese levantou informações iniciais importantes para essa enfermidade neurológica (46).

Diante das informações acima, é possível afirmar que a esquizofrenia compreende um grande espectro de alterações neurofisiológicas complexas que envolvem diversas vias de neurotransmissores e, ao que tudo indica, elas parecem se complementar para o desenvolvimento da enfermidade.

### 1.3 MK-801 e CETAMINA

O MK-801 (maleato de (5R,10S)-(+)-5-metil-10,11-diidro-5H-dibenzo[a,d]-ciclohepten-5-10-imina), conhecido também como dizocilpina, é um antagonista do receptor de glutamato NMDA no sistema nervoso central (SNC), que apresenta alta afinidade com o sítio de ligação da PCP (48). É aproximadamente dez vezes mais potente que a PCP, não apresenta afinidade pelo transportador de dopamina, e não afeta a reabsorção vesicular desse neurotransmissor (49-51). Nesse sentido, alguns estudos em roedores demonstraram que a administração de MK-801 resultou em efeitos psicotomiméticos, como hiperatividade, hiperlocomoção e prejuízos na memória de reconhecimento (52-53), e na PPI (54-55). Além disso, um estudo recente relatou que os potenciais evocados auditivos, utilizados como marcadores de função auditiva alterada na esquizofrenia, foram atenuados após administração sistêmica de MK-801 (56).

Em um trabalho de nosso grupo, utilizando macacos-prego, Salleti et al. (45) relataram uma diminuição na resposta da PPI e na amplitude da resposta de sobressalto após administração aguda de MK-801. Em animais da espécie *Macaca mulatta (rhesus)*, a administração de MK-801 foi efetiva na geração de efeitos semelhantes aos psicotomiméticos nesses animais, principalmente na memória visual de reconhecimento (57). Em outros trabalhos, também em *rhesus*, foi demonstrado

que o MK-801 prejudicou o aprendizado, motivação, memória de curto-prazo e memória operacional, além da discriminação de cores (58-59). Além disso, a memória de trabalho de espacial desses indivíduos também é prejudicada após a administração deste composto (60).

A cetamina (2-(2-clorofenil)-2-(metilamino)-cicloexan-1-ona) é também um antagonista do receptor de glutamato do tipo NMDA. Derivada da PCP, foi sintetizada pela primeira vez em 1965 por Calvin Lee Stevens no laboratório Parke & Davis, tendo como principal uso a anestesia em humanos e animais (63). Essa anestesia na qual ela se caracteriza é conhecida como dissociativa, pois produz um estado cataléptico que parece resultar da dissociação funcional e eletrofisiológica entre os sistemas tálamo-cortical e límbico (64).

A neurofarmacologia da cetamina é complexa devido à interação com vários tipos de receptores em diversos locais de ligação (além dos receptores de glutamato NMDA), incluindo os não-NMDA, opióides, GABAérgicos, serotoninérgicos, agindo também direta ou indiretamente, sobre as monoaminas e acetilcolina (65).

Sua utilização na pesquisa experimental da esquizofrenia vem aumentando depois da descoberta de que sua administração em doses subanestésicas em adultos saudáveis produz sintomas psicóticos, e exacerba esses mesmos sintomas em voluntários esquizofrênicos (66). De maneira geral, os voluntários normais experimentaram delírios, distorções visuais e auditivas, enquanto os esquizofrênicos reportaram fenômenos semelhantes somados às alucinações. Todos eles apresentaram desordens nos pensamentos, e esses sintomas duraram de 20 a 40 minutos (17). Além disso, um estudo usando tomografia por emissão de pósitrons (PET) demonstrou que doses subanestésicas de cetamina produzem aumentos bilaterais nas atividades metabólicas dos córtices pré-frontal e cíngulo anterior em humanos (67). Nesse sentido, existe uma inter-relação anatômica e funcional entre os sistemas dopaminérgicos e glutamatérgicos, e isso sugere que a inibição de receptores NMDA pode influenciar a neurotransmissão dopaminérgica (68). Além disso, a cetamina mostra afinidade muito similar pelos receptores NMDA e D<sub>2</sub>, com menor afinidade por receptores 5-HT<sub>2</sub> (14). Assim, ela vem sendo utilizada como modelo experimental efetivo para induzir sintomas psicotomiméticos em alguns animais como primatas não-humanos e roedores.

Em macacos-prego (*Sapajus*), foi relatado um aumento da salivação, diminuição da atividade locomotora, distonia e reatividade anormal a estímulos

ambientais após administração em doses de 2,5 - 5,0mg/kg de cetamina (69-70). Os resultados em doses de 30mg/kg administradas em roedores demonstraram aumento da atividade locomotora, comportamento rotacional e movimento anormal da cabeça para ambos os lados (17).

Em um estudo de registro extracelular utilizando um teste de memória de trabalho com macacos *rhesus*, doses subanestésicas de cetamina foram administradas antes e induziram um déficit nesses indivíduos 5 minutos a após a injeção, aumentando a porcentagem de erros na resposta da tarefa, similares aos observados em pacientes esquizofrênicos (71-72). Alterações na conectividade funcional (FC) de macacos *rhesus* após a administração de cetamina foram relatadas em um estudo com ressonância magnética funcional (fMRI), e várias áreas cerebrais como: córtex pré-frontal dorsolateral, amígdala, e núcleo accumbens e, estes apresentaram extensas modificações induzidas pela cetamina (73). Outro trabalho em primatas, porém em macacos-verdes africanos (*Cercopithecus aethiops*), avaliou oscilações neurais após a administração de cetamina, por meio de registro extracelular, e destacou que os animais apresentaram oscilações nas ondas cerebrais gama sugerindo um fenômeno anormal que pode ser responsável por estados neurológicos patológicos (74). Assim, esses resultados fornecem uma visão do papel dos receptores NMDA na sincronia neural que pode coordenar atividades neurais distribuídas e envolvidas em processos cognitivos (75). Além disso, em saguis do tufo-branco (*Callithrix jacchus*), a administração subanestésica de cetamina foi capaz de causar prejuízo cognitivo em um teste de função executiva utilizando escolha a de objetos (76).

Nenhum estudo relacionando o efeito da administração da cetamina a alterações perceptuais por meio das ilusões visuais em primatas não humanos foi demonstrado até o momento. Há, portanto, a necessidade de um maior número de estudos sobre essas alterações.

#### 1.4 PERCEPÇÃO E ILUSÕES VISUAIS

A importância do estudo das ilusões visuais está no fato de que a maioria das impressões sobre o mundo, incluindo as memórias, está na visão. Além disso, grande

parte da percepção, cerca de 80% (principalmente em primatas) se encontra na visão (77).

A percepção geralmente é definida como um meio de obtenção de conhecimento de situações particulares acerca do mundo físico, nas quais são utilizados nossos sentidos (78). Assim, as ilusões visuais são influenciadas pelo processamento de neurônios que produzem o que conhecemos como constância visual. Isso significa que um objeto é percebido a partir de suas distinções básicas, como algo constante, sem levar em consideração as variações de luminosidade, distância e perspectiva. Dessa forma, o mundo apresenta-se com uma relativa estabilidade e a percepção dos objetos não perde sua característica geral.

As ilusões visuais demonstram de forma simples a relação entre a imagem da retina e a visão, ou seja, entre a imagem e a interpretação que o nosso cérebro faz dessa imagem. Desta forma, a nossa visão não é só a imagem formada na retina, mas a versão processada pelo nosso cérebro desta imagem. As informações acessadas pelas vias visuais são comparadas e interpretadas com outras informações armazenadas na memória de experiências anteriores, objetivando atribuir significado ao que foi visualizado. Desse modo, o cérebro percebe um mundo físico e converte essa informação em uma realidade visual significativa (79). Nesse sentido, o estudo das ilusões visuais pode auxiliar no entendimento de processos fisiológicos essenciais da visão e a suscetibilidade a algumas ilusões encontra-se alterada em diversas patologias mentais, o que levanta questionamentos acerca desses processos visuais ilusórios, podendo esclarecer o metabolismo de algumas dessas doenças.

Dentre algumas dessas ilusões pode-se citar a ilusão horizontal-vertical, a ilusão de Poggendorff e a ilusão de Müller-Lyer.

Na ilusão horizontal-vertical, também conhecida como ilusão de bissecção (Figura 1), embora os segmentos de reta sejam do mesmo tamanho, o segmento de reta vertical parece ser maior em relação à horizontal (80). A ilusão horizontal vertical foi relatada inicialmente pelo médico alemão Adolf Fick em 1851 enquanto prosseguia com seus estudos sobre astigmatismo.

Mamassian e Montalembert (81) relataram que uma explicação completa para esse fenômeno ainda é evasiva, e uma das razões para essa indefinição é que existe pelo menos dois fatores separados em questão. O primeiro fator é uma verdadeira anisotropia entre segmentos verticais e horizontais, ou seja, um viés para superestimar o comprimento vertical. O segundo fator é um viés de bissecção de

comprimento, isto é, uma linha que é dividida em duas partes aparecerá mais curta do que se não fosse interrompida.

Em um estudo utilizando fMRI e testes comportamentais, Axelrod et al. (82) compararam cinco ilusões visuais (entre elas a ilusão horizontal-vertical) e correlacionaram com a densidade de matéria cinzenta local no córtex hipocampal. Eles mostraram que o efeito ilusório dessas ilusões pode ser potencialmente explicado pela integração visuo-espacial e de um processo de construção de cena nessa região cerebral.

Cabe ressaltar ainda que um dos primeiros estudos utilizando ilusões visuais em outros organismos (primatas não-humanos) foi com a ilusão horizontal-vertical, e esses sujeitos foram treinados a escolher, entre um segmento de reta vertical e outro na horizontal, aquele que possuía o menor comprimento. Nos testes aplicados neste experimento, no qual eram apresentados pares de segmentos de reta do mesmo tamanho, os sujeitos escolheram preferencialmente os dispostos na posição vertical (83).

Figura 1. Ilusão Horizontal-Vertical: o segmento de reta vertical parece ser maior do que o segmento de reta horizontal.

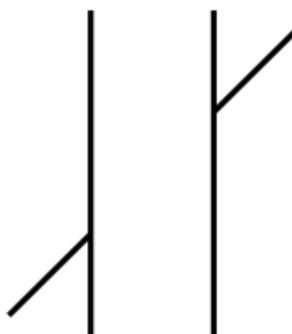


Fonte: <https://openclipart.org/detail/217772/vertica-horiztonal-illusion,2015>.

A ilusão de Poggendorff (Figura 2) é uma das ilusões mais proeminentes e atraiu o interesse duradouro por mais de cem anos (84).

Ela consiste em linhas diagonais posicionadas a um ângulo que fica atrás das listras verticais e ao observar essas linhas diagonais elas parecem estar desalinhadas. Vale ressaltar que essa ilusão de ótica foi nomeada e descrita após Johann Christian Poggendorff (um físico alemão e editor do periódico *Annalen der Physik*) analisar em 1860 as figuras do trabalho do astrônomo e físico Johann Karl Friedrich Zöllner, submetidos no primeiro relatório sobre o que hoje é conhecida como ilusão de Zöllner (85).

Figura 2. Ilusão de Poggendorff. Onde uma linha reta em um ângulo de 45 graus passa por duas linhas verticais e é interrompida pelo espaço entre essas linhas. As duas extremidades da linha transversal parecem desalinhadas, mas na verdade elas não são.



Fonte: <http://www.psy.ritsumei.ac.jp/~akitaoka/cataloge.html>, 2004.

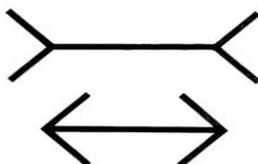
Uma das explicações fisiológicas acerca da ilusão de Poggendorff refere-se ao seu efeito sobre a percepção e a ação e essa hipótese é consistente com a noção que ilusões angulares deste tipo surgem antes da divisão em correntes do processamento dorsal e ventral, possivelmente em V1 ou V2 (86). Outro modelo fisiológico complexo para explicar o efeito Poggendorff é a inibição de orientação cruzada. A ideia é que a distribuição da atividade em uma população de neurônios sincronizados com orientação é deslocada pela presença próxima de outra linha. Se essa inibição for uma propriedade de filtros de primeira ordem, ela deve ser abolida em estímulos onde as linhas são definidas não por luminância, mas por contraste (87).

Relatado em seu trabalho por Pressey et al. (88) essa ilusão foi uma das primeiras examinadas em pacientes com esquizofrenia, pois os pacientes esquizofrênicos geralmente são mais propensos a ilusões, no entanto o estudo foi criticado posteriormente por problemas com sua metodologia que incluiu comparação de adultos esquizofrênicos analfabetos com um grupo controle de estudantes. Mais tarde, um estudo de Letourneau e Lavoie (89) comparou um grupo de pacientes com esquizofrenia (paranóica ou simples) com um grupo de indivíduos saudáveis, controlando a idade e o QI, e constataram que ambos os grupos de pacientes com esquizofrenia são mais propensos à ilusão de Poggendorff do que ao grupo controle, e indivíduos com esquizofrenia simples são mais propensos à ilusão do que aqueles com a forma paranóica do transtorno (90), entretanto no estudo de Kantrowitz et al. (91) os pacientes com esquizofrenia não apresentaram maior suscetibilidade à ilusão.

### 1.4.1 Ilusão de Müller-Lyer

A Ilusão de Müller-Lyer (MLI, pelas siglas em inglês, Müller-Lyer Illusion) é conhecida tanto em humanos quanto em animais, e verifica-se uma maior quantidade de estudos em humanos, sendo considerada uma ilusão de ótica geométrica (92). Foi desenvolvida pelo médico psiquiatra alemão Franz Müller-Lyer, e consiste em duas retas de igual comprimento que apresentam em suas extremidades setas convergentes ou divergentes (Figura 3) (93).

Figura 3. Ilusão de Müller-Lyer. Apesar do comprimento das retas ser igual, o indivíduo normal percebe a linha com setas convergentes (reta superior) mais longa que a linha com setas divergentes (reta inferior)



Fonte: <http://www.psychologyconcepts.com/muller-lyer-illusion>, 2011.

De acordo com Gregory (94) as regras de perspectiva internalizadas (isto é, conhecimento prévio) levam um indivíduo a calcular a reta com as setas convergentes como se fosse maior. Conseqüentemente, a aparência mais curta da reta entra em conflito com o tamanho real idêntico das duas retas.

Em alguns trabalhos utilizando ressonância magnética funcional (fMRI), foi relatado um maior fluxo sanguíneo no córtex occipital lateral quando os indivíduos testados observaram a ilusão de Müller-Lyer em comparação com indivíduos controles (95). Outras pesquisas, porém, (além do córtex occipital lateral), demonstraram a ativação do córtex temporal (96).

Existem algumas teorias desenvolvidas para explicar essa ilusão. Uma diz respeito à cognição, em que se acredita que os erros ocorrem quando os conhecimentos ou as estratégias para observar são mal aplicados. A outra diz respeito à fisiologia, em que as ilusões podem ocorrer devido a um distúrbio nos canais de informações ou nos grupos funcionais que processam sinais no sistema visual (92). É importante ressaltar que os processos fisiológicos não estão totalmente

compreendidos, mas em geral, dependem de processos inibitórios laterais locais no sistema visual (91).

O trabalho de Parnas et al. (97) indicou uma sensibilidade alterada a essa ilusão em pacientes com esquizofrenia. No entanto, o estágio da doença parece ser um ponto de particular importância. Foi observado que, em pacientes prodrômicos (em fases iniciais da doença), a sensibilidade à MLI é menor, ao passo que, em pacientes crônicos a sensibilidade é maior e mais significativa. Diante desses achados, a sensibilidade baixa à ilusão de Müller-Lyer pode ser utilizada como um marcador de vulnerabilidade à esquizofrenia, podendo desaparecer com a progressão da enfermidade. Isso abriu um campo de novas estratégias para o estudo experimental da esquizofrenia buscando compreender melhor a evolução da doença.

## 1.5 A IMPORTÂNCIA DOS PRIMATAS EM PESQUISAS

Diversas características inerentes aos macacos-prego (*Sapajus* spp.) demonstram ser importantes para o estudo aqui apresentado. O gênero *Sapajus* (macacos-prego; figura 4) é formado por várias espécies de macacos neotropicais e está distribuído de forma ampla na América do Sul, podendo ser encontrado em basicamente todo o território do Brasil, o que é um ponto relevante de sua grande capacidade adaptativa (98). São animais onívoros de médio porte e alimentam-se de folhas, frutas, pequenos vertebrados e insetos (99-100). Além disso, são animais facilmente mantidos em cativeiro e despertam interesse científico por apresentarem alta capacidade cognitiva, sendo capazes de utilizar ferramentas para auxiliar em diversas atividades (101), uma característica que indica essa grande capacidade cognitiva, além de serem capazes de solucionar problemas utilizando uma regra abstrata (102). Demonstram comportamento cooperativo para obter uma recompensa, sendo capazes de transmitir essa habilidade via interação social, caracterizando-se por ampla variedade de interação social com indivíduos intra e interespecíficos, por meio de sons, gestos e expressões faciais (103). Isso é um fator importante do desenvolvimento social nesse gênero, semelhante à espécie humana (104). Por apresentarem estas importantes características, o interesse científico por esses animais tem sido cada vez maior.

Figura 4. Exemplar de macaco adulto de Sapajus spp.



Fonte: <http://www.icmbio.gov.br/portal/faunabrasileira/estado-de-conservacao/7274-mamiferos-sapajus-libidinosus-macaco-prego>.

Não obstante, outra característica importante dos macacos-prego é que eles apresentam um dos maiores coeficientes de encefalização (volume cerebral em relação ao peso corporal) entre os primatas não-humanos, característica considerada um indicativo indireto de alta capacidade cognitiva desenvolvida. Por isso, espécies com cérebros “maiores” possuem, em geral, maior capacidade de construção mental do que outras (105). Nesse contexto, podem chegar a viver por volta de 45 anos de idade, apresentando volume de massa encefálica proporcional ao tamanho do corpo de maneira similar aos grandes primatas. O córtex cerebral, tálamo e cerebelo também são tão desenvolvidos quanto de primatas maiores, como o gorila, o chimpanzé, o bonomo, o orangotango e até os humanos (106).

Além das características mencionadas acima, os macacos-prego apresentam semelhanças em suas habilidades visuais com os seres humanos. Eles conseguem enxergar detalhes finos (acuidade visual), apresentam sensibilidade escotópica (sensibilidade a claridade após adaptação ao escuro) (106), e polimorfismo na percepção de cores (107).

Já foi demonstrado, por trabalhos anteriores de nosso grupo, que o macaco-prego é suscetível à ilusão de Müller-Lyer (92) e que o composto MK-801 administrado de forma subcrônica nos indivíduos antes do teste gera um aumento na quantidade de respostas corretas nos sujeitos, indicando uma diminuição da suscetibilidade à

ilusão (31). Além disso, existem vários trabalhos na literatura que estudam a sensibilidade alterada à ilusão em esquizofrênicos. Desse modo, o objetivo do presente estudo é avaliar as variações na percepção visual da ilusão de Müller-Lyer nos macacos-prego após a administração aguda de MK-801 e após a administração aguda e subcrônica de cetamina, dois antagonistas do receptor de glutamato do tipo NMDA. A hipótese é que a percepção vai ser modificada pela administração dos dois antagonistas, ou seja, a porcentagem de acertos dos indivíduos irá aumentar em comparação com o veículo. Assim, a utilização de primatas não-humanos do gênero *Sapajus* como sujeitos experimentais poderia ajudar a elucidar os mecanismos neurofisiológicos que geram a ilusão e os possíveis déficits presentes na patologia. Posteriormente, com os resultados oriundos destes estudos, poder-se-ia sugerir o teste com potenciais compostos antipsicóticos, diminuindo os efeitos extrapiramidais causados pelos fármacos atuais em um modelo animal mais próximo ao ser humano.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

- Avaliar os efeitos da administração de cetamina e de MK-801 no teste da ilusão de Müller-Lyer em macacos-prego (*Sapajus* spp).

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar os efeitos da administração aguda de MK-801 em *Sapajus* no teste de Ilusão de Müller-Lyer;
- Avaliar dos efeitos da administração aguda de cetamina em *Sapajus* no teste de Ilusão de Müller-Lyer;
- Avaliar os efeitos da administração subcrônica de cetamina no teste de Ilusão de Müller-Lyer.

### 3 MÉTODO

#### 3.1 ASPECTOS ÉTICOS

O presente estudo foi aprovado, previamente, pelo Comitê de Ética no Uso Animal (CEUA) do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade de Brasília – UnB, conforme a declaração (nº. 34/2019; Anexo A). Todos os experimentos realizados seguiram a regulamentação brasileira para uso científico de animais (Lei Arouca 11.794/2008), bem como as diretrizes para o cuidado e uso de animais de laboratório do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal do Brasil (CONCEA).

#### 3.2 LOCAL DE REALIZAÇÃO

O estudo foi realizado no centro de Primatologia (CP) localizado na Fazenda Água Limpa (FAL) da Universidade de Brasília (16°30”S, 46°30”W) aproximadamente 30 km do centro de Brasília. O CP é credenciado pela Comissão de Ética no uso animal do Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Renováveis – IBAMA (Registro IBAMA,1/53/19999/000006-2) como criadouro de primatas para fins científicos. O CP se encontra em uma área de preservação ambiental, sendo que os viveiros que alojam os animais estão circundados por mata de galeria. Isso permitiu que os mesmos fossem alojados sob condições naturais de temperatura, luminosidade e umidade. Cada viveiro possui dimensões de 4m de largura, 2,5m de profundidade e 3m de altura, onde os animais estão dispostos em pares ou trios (Figura 5).

Cada viveiro onde se encontram os animais tem uma porta guilhotina que permite separar o viveiro em duas partes, uma interna e outra externa. A área interna onde os experimentos foram realizados, é de 1,5m de largura, 1,5m de profundidade e 1,8m de altura. Os sujeitos que foram treinados no experimento foram separados dos demais habitantes do viveiro mediante o uso da porta guilhotina

Figura 5. Visão dos viveiros dos *Sapajus* spp. da FAL (UnB). (a) externa (b) interna.



Fonte: “própria”.

### 3.3 SUJEITOS E CONDIÇÕES GERAIS DE ALOJAMENTO E MANEJO

Foram utilizados nesta pesquisa 8 indivíduos *Sapajus* spp. (macaco-prego), sendo 4 machos e 4 fêmeas, com pesos variando entre 2,5 a 5 kg. Os indivíduos foram alojados nos viveiros descritos acima, e foram mantidos de acordo com as normas estabelecidas pelo IBAMA. Dos 8 indivíduos que iniciaram os treinos, somente 5 (4 fêmeas entre 2,5 e 3,5 kg e 1 macho de 5,0 kg, com jovens e adultos nos dois grupos) atingiram os critérios de aprendizagem até a última fase. Os dados dos outros indivíduos não foram utilizados na fase de testes. Todos os indivíduos já tinham experiência prévia com o uso de tela *touchscreen*.

Os indivíduos foram alimentados uma vez ao dia, tendo como base da dieta: pedaços de frutas, legumes frescos, ovos cozidos, sementes de girassol e larvas de tenébrio, possuindo ração e água disponíveis *ad libitum*. Eles foram mantidos em duplas ou trios e foram alimentados diariamente no período matutino, aproximadamente às 08:00h da manhã e a sobra retirada por volta das 17:30h.

### 3.4 APARATO EXPERIMENTAL

Para a coleta de dados, foi utilizado um computador portátil Lenovo com um processador Intel (R) Core (TM) i7 de 2,5 GHz e 8 GB de memória RAM. O computador estava acoplado a um monitor *touchscreen* de 15" marca Elo. Esses equipamentos foram montados sobre um suporte de madeira com quatro rodas que permitiu o deslocamento dos aparelhos entre os diferentes viveiros (Figura 6). Na parte lateral do aparato o experimentador ficava localizado e entregava o reforço ao sujeito e tinha acesso ao computador e outros equipamentos.

Figura 6. Aparato experimental utilizado.



Fonte: "própria".

### 3.5 SOFTWARE UTILIZADO

O software que foi utilizado para desenvolver o programa para treinar os animais e avaliar os testes de ilusão visual é o E-Prime, da *Psychology Software Tools Inc*® (EUA). Ele permite elaborar e implementar experimentos psicológicos, e analisar os dados recolhidos.

Os treinos realizados foram desenhados utilizando este programa, que permite a apresentação de uma variedade de estímulos, bem como a coleta de uma ampla variedade de dados, tais como tempo de reação, grau de acerto ou erro, data e hora de início da coleta e ordem das figuras testadas. O programa ainda permite a

modificação de diferentes parâmetros, como a ordem de estímulos (aleatórios ou sequenciais), o intervalo entre estímulos e o número de tentativas (Figura 7).

Figura 7. Imagem da tela principal do programa E-Prime, com exemplo de lista de imagens dos estímulos a ser apresentadas aos indivíduos.

The screenshot displays the E-Prime software interface. On the left is a 'Toolbox' with icons for 'List', 'Slide', 'Feedback Display', 'InLine', 'TextDisplay', 'ImageDisplay', and 'MovieDisplay'. The 'Attributes' panel shows 'Name' as 'CorrectAns'. The 'Properties' panel for 'TrialList List' includes fields for 'Filename', 'HideLevelsWithZero' (No), 'LoadMethod' (Script), 'NoRepeatAfterReset' (Yes), 'Notes', 'Order' (Random), 'OrderBy' (N/A), 'ResetEveryRun' (No), and 'Tag'. A 'Summary' box indicates '60 Samples (1 cycle x 60 samples/cycle)', '1 Cycle equals 60 samples', and 'Random Selection (No Repeat After Reset)'. The main area features a table with the following data:

| ID | Wei... | Procedure | Nested | Up     | Down   | CorrectAn... |
|----|--------|-----------|--------|--------|--------|--------------|
| 1  | 1      | TrialProc |        | SD40mm | SC0.4  | Down         |
| 2  | 1      | TrialProc |        | SC0.4  | SD40mm | Up           |
| 3  | 1      | TrialProc |        | SD0.4  | SC40mm | Up           |
| 4  | 1      | TrialProc |        | SC40mm | SD0.4  | Down         |
| 5  | 1      | TrialProc |        | SD40mm | SC0.4  | Down         |
| 6  | 1      | TrialProc |        | SC0.4  | SD40mm | Up           |
| 7  | 1      | TrialProc |        | SD0.4  | SC40mm | Up           |
| 8  | 1      | TrialProc |        | SC40mm | SD0.4  | Down         |
| 9  | 1      | TrialProc |        | SD40mm | SC0.4  | Down         |
| 10 | 1      | TrialProc |        | SC0.4  | SD40mm | Up           |
| 11 | 1      | TrialProc |        | SD0.4  | SC40mm | Up           |
| 12 | 1      | TrialProc |        | SC40mm | SD0.4  | Down         |
| 13 | 1      | TrialProc |        | SD40mm | SC0.4  | Down         |
| 14 | 1      | TrialProc |        | SC0.4  | SD40mm | Up           |
| 15 | 1      | TrialProc |        | SD0.4  | SC40mm | Up           |
| 16 | 1      | TrialProc |        | SC40mm | SD0.4  | Down         |
| 17 | 1      | TrialProc |        | SD40mm | SC0.4  | Down         |
| 18 | 1      | TrialProc |        | SC0.4  | SD40mm | Up           |
| 19 | 1      | TrialProc |        | SD0.4  | SC40mm | Up           |
| 20 | 1      | TrialProc |        | SC40mm | SD0.4  | Down         |
| 21 | 1      | TrialProc |        | SD40mm | SC0.4  | Down         |
| 22 | 1      | TrialProc |        | SC0.4  | SD40mm | Up           |
| 23 | 1      | TrialProc |        | SD0.4  | SC40mm | Up           |

As respostas corretas ou incorretas dos indivíduos eram seguidas imediatamente de estímulos sonoros distintos. Os dados foram coletados automaticamente pelo programa. Além disso, uma planilha em papel e um registro de áudio também foram utilizados para registrar paralelamente os dados pelos experimentadores. Posteriormente, esses dados foram transferidos para uma planilha digital em computador. Durante o procedimento os acertos e os erros dos sujeitos eram registrados.

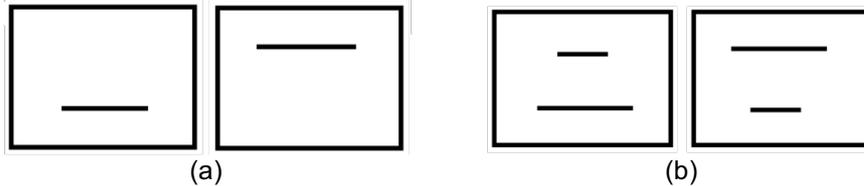
As imagens utilizadas como estímulo foram desenhadas utilizando o software *Adobe Illustrator*. Foram desenhadas linhas retas de diferentes comprimentos e linhas com setas convergentes e divergentes para realizar o treino e o teste da ilusão nos animais (Figura 8). Todas as retas foram apresentadas na posição horizontal.

Figura 8. Retas com setas (a) divergentes (b) convergentes.



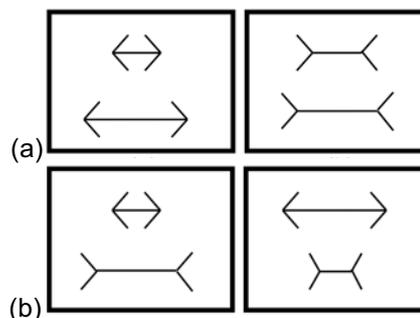
As retas sem setas tinham comprimento variando entre 2 cm e 14 cm, e uma espessura de 0,5 cm. As linhas foram apresentadas individualmente na parte superior ou inferior da tela ou em pares, com uma de maior comprimento e outra de menor comprimento, segundo o treino correspondente. O espaço entre as linhas apresentadas em pares era de 8,5 cm (Figura 9).

Figura 9. Retas sem setas apresentadas (a) individualmente ou (b) em pares.



As retas com setas apresentavam comprimentos variando entre 2 cm e 14 cm, com espessura de 0,5 cm. As setas foram desenhadas usando 25% do comprimento da linha, formando um ângulo de  $90^\circ$  entre elas e um ângulo de  $45^\circ$  com a horizontal no caso das setas divergentes e de  $135^\circ$  com a horizontal no caso das setas convergentes (Figura 10). As retas com setas foram apresentadas em pares com mesma orientação ou diferentes, dependendo do treino projetado. A distância de separação entre as retas com setas apresentadas em pares era de 8,5 cm.

Figura 10. Retas com setas apresentadas em pares com (a) mesma orientação das setas, e (b) com orientação diferente das setas.



### 3.6 EXPERIMENTADORES

Todas as etapas do treinamento dos indivíduos foram realizadas pelo mesmo experimentador que permanecia sentado do lado externo do viveiro entregando a recompensa para reforçar as respostas corretas dos indivíduos. Um segundo experimentador auxiliou no preenchimento da tabela de acertos e erros de cada indivíduo e anotou as informações adicionais sobre o desempenho deles no experimento em cada etapa realizada. A tabela de desempenho encontra-se no Apêndice A.

### 3.7 PROCEDIMENTO

Todos os procedimentos aplicados no presente trabalho, descritos a seguir, foram adaptados de Jacobsen et al. (31).

Os indivíduos foram testados dentro dos seus próprios viveiros para evitar o estresse de captura e restrição física, utilizando a porta guilhotina para separar o indivíduo a treinar dos outros animais do viveiro. O indivíduo tinha livre movimento dentro da área subdividida interna do viveiro. Em todos os casos, utilizou-se uma plataforma de metal presa no lado interno do viveiro (22,5 cm de largura x 42,0 cm de comprimento). O objetivo desta plataforma era que o indivíduo pudesse ficar sentado em frente à tela *touchscreen*, evitando que ele ficasse pendurado na grade do viveiro, aumentando sua concentração durante a tarefa.

Em todos os casos, utilizaram-se paredes de tecido (tnt) montados em canos do tipo *PVC*, dispostas em frente e ao lado dos viveiros, para isolar visualmente o indivíduo a ser treinado do ambiente externo e dos animais dos viveiros adjacentes (Figura 11). A recompensa utilizada como reforço positivo foi uva passa, que era entregue manualmente ao indivíduo pelo experimentador (que ficava sentado do lado de fora do viveiro) após cada resposta correta.

Figura 11. Paredes de tecido para isolar visualmente o indivíduo no seu viveiro durante a tarefa.



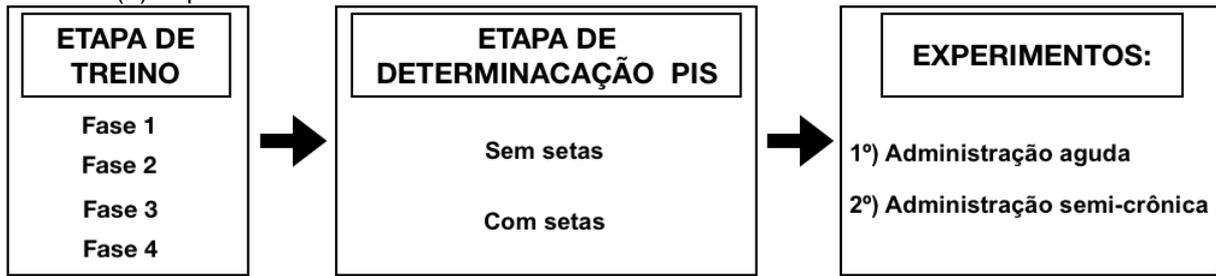
(Fonte: “própria”).

Após isolar o indivíduo na área interna do viveiro, o monitor era colocado a 10 cm de distância da grade do viveiro. Para tocar o monitor e escolher entre os estímulos, era necessário que o indivíduo estendesse o braço através da grade do viveiro.

O estudo foi dividido em três etapas, (1) Etapa de treino; (2) Etapa de determinação do ponto de igualdade subjetiva (PIS) e; (3) Experimentos (1º agudo, que consistiu na administração de veículo, MK-801 e cetamina; e o 2º subcrônico, que consistiu na administração de veículo e cetamina). Na etapa de treino (1), o objetivo era acostumar os primatas ao aparato, (2) ensinar a escolha pela reta de menor comprimento e (3) desconsiderar o contexto das retas (ou seja, se as retas eram apresentadas com setas divergentes ou convergentes). Na avaliação do PIS, o objetivo era determinar a diferença de comprimento das duas retas a partir da qual o sujeito não é capaz de distinguir a menor entre ambas (escolha ao acaso).

A ordem temporal de cada uma dessas etapas encontra-se na Figura 12. Todas as etapas serão explanadas a seguir.

Figura 12. Ordem de realização das etapas do estudo: (1) Etapa de treino, (2) Etapa de determinação do PIS e (3) Experimentos.



### 3.8 ETAPA DE TREINO

Os indivíduos foram submetidos a 4 fases da etapa de treino, cada uma com seu próprio objetivo, que será discutido a seguir. Foi realizada uma sessão por dia por sujeito, com uma duração aproximada de 3 a 10 minutos (dependendo do indivíduo). A quantidade de tentativas por sessão de treino variou de fase em fase. Foi estabelecido como acerto (ou resposta correta) o toque no estímulo (na Fase 1) e a escolha da reta de menor tamanho (nas fases 2, 3, 4, determinação do PIS e experimentos). Qualquer outra resposta era considerada um erro. O critério de aprendizagem para passar à fase seguinte era 90% de acertos em duas sessões consecutivas. O intervalo entre cada uma das tentativas era de 2 segundos, para dar tempo ao sujeito de ingerir o reforço. Para alguns indivíduos foi necessária uma ou duas fases iniciais de aproximação sucessiva, para os acostumar com os aparatos e experimentadores. Assim que estes começavam a interagir com o monitor, iniciava-se, de fato, a Fase 1.

#### 3.8.1 Fase 1

Na Fase 1, o objetivo era ensinar o indivíduo a reconhecer o estímulo e tocar nele. As primeiras sessões foram também para o sujeito se aproximar da tela e saber a quantidade de força necessária para acionar a tela sensível ao toque. O indivíduo recebia o reforço ao tocar em cima das retas apresentadas. A fase 1 foi a mais rápida

de todo o experimento devido aos macacos já terem experiência prévia com a tela *touchscreen*.

O estímulo nessa fase, consistiu em retas sem setas, uma por tentativa, localizada na parte superior ou inferior do monitor (Figura 13). A apresentação de retas de diferentes comprimentos (14 cm; 13 cm; 12,5 cm; 11 cm; 9,5 cm; 8 cm; 5,5 cm; 4 cm) foi aleatória. Cada sessão consistia de 45 tentativas. A resposta correta era o toque no estímulo. O critério de aprendizagem era atingir 90% (41 de 45 tentativas por dia) de acertos em cada uma de duas sessões consecutivas, portanto os sujeitos tinham que acertar pelo menos 82 de 90 tentativas nos dois dias.

Figura 13. Estímulos da fase 1 localizados na parte (a) inferior ou (b) superior da tela.



### 3.8.2 Fase 2

Na Fase 2, o objetivo era diferenciar duas retas de comprimentos distintos, escolhendo a reta de menor tamanho. Assim, o indivíduo só recebia a recompensa se a reta que ele tocasse fosse aquela de menor comprimento.

Esta fase consistiu na apresentação aleatória de pares de retas de comprimentos diferentes (10,5/8 cm; 10,5/7 cm; 10,5/4 cm; 9,5/7 cm; 9,5/4cm; 8/5 cm; 7/4 cm; 5/2,5 cm). A localização da reta de menor comprimento, na parte de cima ou de baixo do monitor, era também aleatória para evitar a associação da resposta com a posição (Figura 14). A resposta certa era a escolha da reta de menor tamanho. Cada sessão consistia de 45 tentativas e o critério de aprendizagem era o mínimo de 90% (41 de 45 tentativas por dia) de acerto em cada uma de duas sessões consecutivas. Assim, o indivíduo teria que acertar pelo menos 82 de 90 tentativas nos dois dias para passar à fase seguinte.

Figura 14. Estímulos utilizados na fase 2. (a) reta menor na parte inferior e a reta maior na parte superior do monitor e (b) reta menor na parte superior e reta maior na parte inferior.



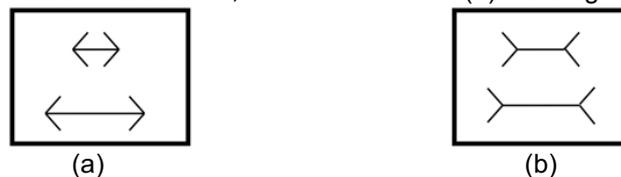
A fase 2 da etapa de treino foi a de maior duração do experimento. Nesta fase, o indivíduo tinha que aprender a tocar na reta de menor comprimento, que era apresentada na parte inferior ou superior da tela *touchscreen* de maneira aleatória. A reta de menor comprimento costuma atrair menor atenção do indivíduo, sendo assim, tem menor probabilidade de ser a escolhida.

### 3.8.3 Fase 3

A Fase 3 consistiu em discriminar duas retas de diferentes comprimentos, neste caso, considerando o contexto das retas (convergentes ou divergentes). Foram apresentadas duas retas com comprimentos distintos, com setas divergentes ou convergentes (com a mesma orientação das setas, diferindo apenas no comprimento da reta), sendo a escolha correta a reta de menor comprimento, independentemente da orientação das setas (Figura 15).

Esta fase consistiu na apresentação aleatória de pares de retas de comprimentos diferentes, com retas convergentes ou divergentes (10,5/5,5 cm; 9,5/4 cm). O posicionamento das retas no monitor e o contexto (setas divergentes ou convergentes) foram apresentadas de forma aleatória, evitando assim, a associação de respostas com essas características.

Figura 15. Estímulos utilizados na fase 3, ambas com setas (a) convergentes ou (b) divergentes.



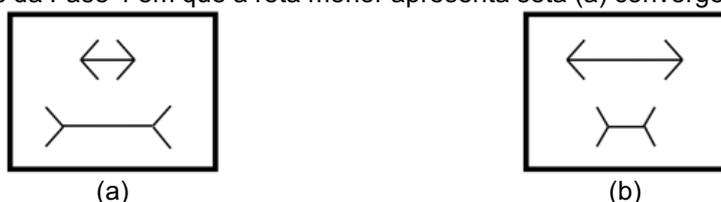
A resposta certa era a escolha da reta de menor tamanho. Cada sessão consistia de 45 tentativas e o critério de aprendizagem era o mínimo de 90% (41 de 45 tentativas por dia) de acerto em duas sessões consecutivas, portanto o indivíduo deveria acertar pelo menos 82 de 90 tentativas nos dois dias. Antes de iniciar a seção, eram realizadas 5 tentativas iniciais contendo somente as retas, sem setas, para reforçar que a regra continuava sendo a mesma (a escolha certa era a reta de menor comprimento). Porém, os dados dessas 5 tentativas iniciais não foram usados nem contabilizados ao calcular a percentagem de acertos.

#### 3.8.4 Fase 4

Nesta fase foram apresentadas retas com comprimento e posição de setas diferentes, independentemente do contexto das setas (i.e., uma reta com setas convergentes e a outra, divergentes) (Figura 16).

Assim como na fase anterior, esta fase consistiu na apresentação de pares de retas de comprimentos diferentes (10,5/5,5 cm; 9,5/4 cm) com setas convergentes ou divergentes.

Figura 16. Estímulos da Fase 4 em que a reta menor apresenta seta (a) convergente ou (b) divergente.



A escolha correta é a reta de menor tamanho, sem importar a orientação ou presença das setas, sendo apresentadas na parte de cima ou de baixo do monitor com setas convergentes ou divergentes de maneira aleatória para evitar associação da resposta com estes fatores. Assim, o indivíduo deveria atingir 90% (41 de 45 tentativas por sessão) de acerto em duas sessões consecutivas, totalizando 82 de 90 tentativas nos dois dias. Além das 45 tentativas, eram realizadas 5 tentativas iniciais e 5 tentativas ao fim do treino sem setas (como na fase 3) para reforçar que a regra

continua sendo a mesma (a escolha certa é a reta de menor comprimento). Assim, os dados dessas 10 tentativas de prática não foram usados, nem contabilizados ao calcular a percentagem de acertos. Só depois de concluída essa etapa, o indivíduo poderia passar para a próxima etapa do estudo, a etapa de determinação do Ponto de Igualdade Subjetiva (PIS) da ilusão, que será explicado a seguir.

### 3.9 ETAPA DE DETERMINAÇÃO DO PONTO DE IGUALDADE SUBJETIVA (PIS)

O Ponto de Igualdade Subjetiva (PIS) é definido como a diferença mínima no comprimento das duas retas a partir da qual o indivíduo não consegue mais distinguir diferença de tamanho entre ambas. A partir desta diferença, o indivíduo perceberia as retas como tendo o mesmo comprimento e, conseqüentemente, seu desempenho na tarefa não superaria o nível do acaso. O PIS tem como função, no caso das retas com setas, determinar o grau de ilusão individual de cada sujeito.

#### 3.9.1 PIS sem setas

O objetivo da determinação do PIS sem setas foi estabelecer o limite diferencial de detecção dos indivíduos frente às retas de comprimentos diferentes no contexto 'sem setas'. A menor diferença percebida pelo indivíduo entre duas retas de tamanhos diferentes foi considerada como o PIS sem setas.

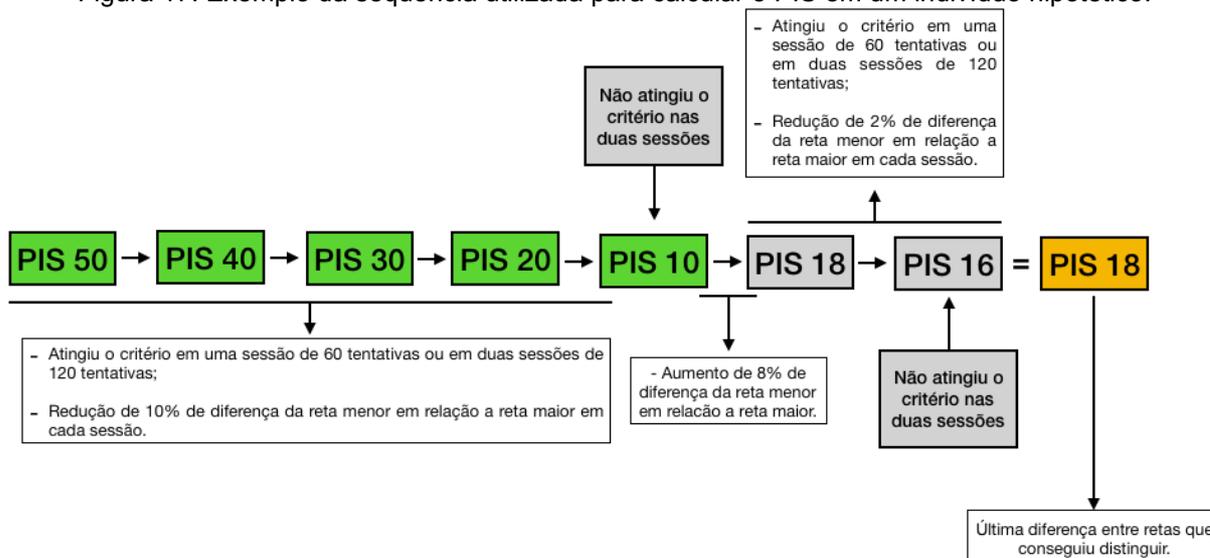
Para determinar esta diferença, foram apresentadas pares de retas inicialmente com a diferença máxima de comprimento, ou seja, a reta menor tinha metade do comprimento da maior (reta maior com 14 cm de comprimento e a menor de 7 cm de comprimento). Gradativamente, no decorrer das sessões, foram apresentadas pares com diferenças menores, aumentando-se a dificuldade do teste. Como nas fases anteriores, a posição da reta no monitor (em baixo ou em cima) foi apresentada de forma aleatória. A resposta correta era a escolha da reta de menor comprimento. Já nessa etapa, a sessão consistia de 60 tentativas com 5 tentativas de prática no início e 5 no fim, que não foram contabilizadas ao calcular a porcentagem

final de acertos.

Conforme descrito, cada sessão consistia de 60 pares com igual diferença de comprimento entre as retas. O critério para passar a sessão seguinte (com pares de menor diferença entre si) era um desempenho acima do nível do acaso. O nível do acaso para cada sessão foi estabelecido a partir de um intervalo exato de 95% de confiança usando o teste binomial. Assim, para 60 tentativas (uma sessão), o limite superior calculado do intervalo foi de 63,19%. Logo, o indivíduo teria de acertar 38 de 60 tentativas para passar a fase seguinte. Para 120 tentativas (duas sessões), o limite superior do intervalo foi de 59,26%, portanto o indivíduo deveria acertar acima de 72 tentativas das 120 para passar a fase seguinte.

Na primeira sessão, o indivíduo era submetido a tentativas com uma diferença de comprimento de 50% (em relação a reta maior) entre as retas (*i.e.* reta maior era de 14 cm, a menor era de 7 cm). Se o indivíduo atingisse a porcentagem de acerto calculado para uma única sessão (*i.e.*, 63,19%), ele passava para a sessão seguinte, com uma diferença entre as retas 10% menor do que a anterior (ou seja, se o indivíduo atingiu a porcentagem requerida na sessão de 50% de diferença, ele passava para a sessão de 40% de diferença entre as linhas). Se o indivíduo não atingisse a porcentagem de acertos em uma única sessão, uma nova sessão com a mesma diferença de comprimento era realizada. O cálculo de porcentagem de acertos então incluiria 120 tentativas, sendo 59,26% de acerto o critério de aprendizagem. Se em duas sessões consecutivas o critério não fosse alcançado, o indivíduo passava para uma sessão com uma diferença de comprimento 8% maior do que a anterior. Por exemplo, se um indivíduo não alcançou o critério em duas sessões consecutivas de 10%, ele passaria a pares com diferença de 18%. Se o critério era então atingido, ele passaria a fazer o treino com diferença de 16% e assim por diante. Caso contrário, o ponto de igualdade deste indivíduo era determinado como a última diferença em que este atingiu a porcentagem de acertos requerida, ou seja, a última diferença entre as linhas que ele consegue distinguir (Figura 17).

Figura 17. Exemplo da sequência utilizada para calcular o PIS em um indivíduo hipotético.



Totalizando, cada indivíduo foi submetido a uma sequência diferente de pares de retas, dependendo do desempenho do indivíduo e do ponto de igualdade próprio do animal. Os comprimentos das diferentes retas utilizadas para todos os indivíduos estão na Tabela 1.

Tabela 1 - Comprimento das retas nas tentativas de cada uma das sessões utilizadas para calcular o PIS sem setas.

| Diferença entre retas (%) | Comprimento reta maior (cm) | Comprimento reta menor (cm) | Diferença (cm) |
|---------------------------|-----------------------------|-----------------------------|----------------|
| 50                        | 14                          | 7,0                         | 7,0            |
| 40                        | 14                          | 8,4                         | 5,6            |
| 30                        | 14                          | 9,8                         | 4,2            |
| 20                        | 14                          | 11,2                        | 2,8            |
| 10                        | 14                          | 12,6                        | 1,4            |
| 8                         | 14                          | 12,88                       | 1,12           |
| 6                         | 14                          | 13,16                       | 0,84           |

### 3.9.2 PIS com setas

Nesta etapa, o objetivo foi alcançar o limite diferencial de detecção dos indivíduos frente as retas com setas de comprimentos diferentes.

A determinação do PIS iniciou-se com a apresentação aleatória de pares de

retas com setas com diferença máxima de comprimento (50% de diferença entre retas, tendo a maior 14 cm de comprimento, e a menor 7 cm de comprimento) e em sessões consecutivas, diminuindo a diferença de comprimento entre as retas com setas. A posição da reta com seta de menor comprimento foi aleatorizada (na parte de cima ou de baixo da tela do monitor) para evitar a associação com a posição. A resposta correta era a escolha da reta de comprimento menor.

A sessão consistia de 60 tentativas com 5 tentativas de prática no início e 5 no término, que não foram contabilizadas ao calcular a porcentagem final de acertos. Das 60 tentativas, 30 eram do tipo 'par ilusão' e 30 do tipo 'par controle'. O 'par ilusão' era aquele em que a reta de menor comprimento possuía as setas convergentes e a reta de maior tamanho setas divergentes. Assim, caracteriza-se de fato a ilusão de Müller-Lyer, em que a reta de menor comprimento aparenta ser maior e a reta de maior comprimento aparenta ser menor. Já o 'par controle' caracteriza o efeito conhecido como "ilusão de Müller-Lyer reversa". A reta de maior comprimento possui as setas convergentes e a reta de menor comprimento setas divergentes, acentuando assim a diferença aparente entre as retas. Portanto, o 'par controle' funciona como um controle positivo do teste (Figura 18).

Figura 18. Esquema do (a) 'par controle' e (b) 'par ilusão' da etapa do PIS com setas.



Da mesma maneira que a etapa do PIS sem setas, aplicou-se o mesmo critério para progressão a pares com menor diferença de comprimento. Cada sessão consistia em 30 'pares controle' e 30 'pares ilusão', porém apenas o 'par ilusão' foi utilizado para determinar o desempenho de cada indivíduo. De acordo com o teste binomial, o intervalo de confiança para 30 tentativas é de 68,7% e, portanto, o indivíduo deveria acertar 21 das 30 tentativas para prosseguir ao próximo par de linhas. Semelhante à etapa do PIS sem setas, começou-se pelos pares com maior diferença entre as retas e, gradativamente, apresentado pares com menor diferença nas sessões seguintes. Se o indivíduo alcançasse o critério de acerto em um dia, passava-se a um par com diferença de 10% menor no comprimento das retas com setas. Se o indivíduo não atingisse a porcentagem de acertos em uma única sessão,

uma nova sessão com a mesma diferença de comprimento era realizada. O cálculo de porcentagem de acertos então incluiria 60 tentativas, sendo 63,19% (38 acertos) o critério de aprendizagem. Se em duas sessões consecutivas o critério não fosse alcançado, o indivíduo passava para uma sessão com uma diferença de comprimento 8% maior do que a anterior. Por exemplo, se um indivíduo não alcançou o critério em duas sessões consecutivas de 10%, ele passaria a pares com diferença de 18%. Se o critério era então atingido, ele passaria a fazer o treino com diferença de 16% e assim por diante. Caso contrário, o ponto de igualdade subjetiva com setas deste indivíduo era determinado como a última diferença em este atingiu a porcentagem de acertos requerida, ou seja, a última diferença entre as retas que ele consegue distinguir, semelhante ao cálculo do PIS sem setas explicado anteriormente e demonstrado na Figura 17.

Cada indivíduo foi submetido a diferentes sequências de pares de retas, dependendo do desempenho do indivíduo e do ponto de igualdade subjetiva de cada animal. Os comprimentos das diferentes retas utilizadas para os indivíduos estão indicados na Tabela 2.

Tabela 2 - Comprimento das retas nas tentativas de cada uma das sessões utilizadas para calcular o PIS com setas.

| Diferença entre linhas (%) | Comprimento reta maior (cm) | Comprimento reta menor (cm) | Diferença (cm) |
|----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|----------------|
| 50                         | 14                          | 7                           | 7              |
| 48                         | 14                          | 7,28                        | 6,72           |
| 46                         | 14                          | 7,56                        | 6,44           |
| 44                         | 14                          | 7,84                        | 6,16           |
| 42                         | 14                          | 8,12                        | 5,88           |
| 40                         | 14                          | 8,4                         | 5,6            |
| 38                         | 14                          | 8,68                        | 5,32           |
| 36                         | 14                          | 8,96                        | 5,04           |
| 34                         | 14                          | 9,24                        | 4,76           |
| 32                         | 14                          | 9,52                        | 4,48           |
| 30                         | 14                          | 9,8                         | 4,2            |
| 28                         | 14                          | 10,08                       | 3,92           |
| 26                         | 14                          | 10,36                       | 3,64           |
| 24                         | 14                          | 10,64                       | 3,36           |
| 22                         | 14                          | 10,92                       | 3,08           |
| 20                         | 14                          | 11,2                        | 2,8            |

### 3.10 EXPERIMENTOS

Esta parte do estudo foi dividida em dois experimentos: 1) administração aguda de veículo, MK-801, cetamina; e 2) administração subcrônica de veículo e cetamina.

Para a realização dos experimentos, os animais foram capturados no viveiro por dois tratadores com o auxílio de um puçá, em seguida os veterinários administravam os compostos conforme ordem pseudoaleatória previamente estabelecida.

O objetivo do primeiro experimento foi avaliar as possíveis variações do PIS próprio de cada um dos indivíduos sob a administração de veículo, cetamina e MK-801. Foi realizada uma administração por dia em cada animal, com um intervalo de no mínimo 72 horas, em uma ordem pseudoaleatória e avaliado o PIS com setas determinado previamente para cada indivíduo (Figura 19).

Figura19. Sequência temporal aplicada para realizar o primeiro experimento em cada um dos indivíduos. Os números de 1 a 3 representam os dias de administração dos compostos.

| <b>Composto</b> | <b>Tratamento 1</b> |                         | <b>Tratamento 2</b> |                         | <b>Tratamento 3</b> |
|-----------------|---------------------|-------------------------|---------------------|-------------------------|---------------------|
| <b>Dia</b>      | 1                   | <b>72h de intervalo</b> | 2                   | <b>72h de intervalo</b> | 3                   |

Na segundo experimento, o objetivo foi avaliar as possíveis variações do PIS de cada um dos indivíduos durante a administração subcrônica de veículo e cetamina, com duração de 4 dias consecutivos (para cada composto). Em seguida, foi avaliado o PIS com setas determinado previamente para cada indivíduo (Figura 20). As doses escolhidas foram baseadas em estudos prévios com primatas não-humanos (108, 109). Para garantir o entendimento da regra de cada tarefa e o controle positivo dos testes, o limite inferior da média do desempenho no 'par controle' foi estabelecido em 90% de acertos.

Figura 20. Sequência temporal aplicada para realizar o segundo experimento em cada indivíduo. Os números de 1 a 8 representam os dias de administração dos compostos.

| Composto | Tratamento 1 |   |   |   | 72h de intervalo | Tratamento 2 |   |   |   |
|----------|--------------|---|---|---|------------------|--------------|---|---|---|
|          | Dia          | 1 | 2 | 3 |                  | 4            | 5 | 6 | 7 |
|          |              |   |   |   |                  |              |   |   |   |

### 3.10.1 Administração de veículo, MK-801 e cetamina

O objetivo deste experimento foi avaliar o desempenho dos indivíduos no ponto de igualdade subjetiva, determinado previamente nas administrações agudas de veículo, MK-801 e cetamina.

Foi administrado 0,5 mL/kg de peso de solução salina de NaCl 0,9% em cada um dos indivíduos e após 25 minutos foi realizada uma sessão no PIS com setas próprio de cada indivíduo, em seguida, foi dado um intervalo de 72 horas para administrar um novo composto no sujeito.

A dose de MK-801 administrada nos indivíduos foi de 5,6 $\mu$ g/kg de peso (31, 62) sem ser observada ataxia nos sujeitos e após 25 minutos foi realizada uma sessão no PIS com setas próprio de cada indivíduo. Em seguida, foi dado um intervalo de 72 horas para administrar um novo composto no indivíduo.

A administração subanestésica de cetamina foi inicialmente de 1,0 mg/kg, mas provocou leve ataxia nos indivíduos, impedindo-os de completar as sessões. A dose foi posteriormente reduzida a 0,3 mg/kg de peso sem ser observada ataxia nos sujeitos. Após 25 minutos, foi realizada uma sessão no PIS com setas próprio de cada indivíduo, em seguida foi dado um intervalo de 72 horas para administrar um novo composto no indivíduo. Todas as administrações realizadas nos indivíduos foram por via intramuscular.

### 3.10.2 Administração subcrônica de cetamina e veículo

O objetivo deste experimento foi avaliar o desempenho dos indivíduos no PIS com setas, determinado previamente após a administração subcrônica de cetamina. Foi administrado 0,3 mg/0,5 mL por kg peso de cetamina subanestésica. Após 25 minutos, foi realizada uma sessão no PIS com setas próprio de cada indivíduo, esse protocolo foi realizado por 4 dias consecutivos com cada um dos indivíduos.

Após um intervalo de 72 horas, foi administrado 0,5 mL/kg de peso de solução salina de NaCl 0,9% em cada um dos indivíduos e após 25 minutos foi realizada uma sessão no PIS com setas próprio de cada sujeito. Esse protocolo também foi realizado por 4 dias consecutivos com cada um deles, visando ter um controle positivo do teste.

### 3.11 ANÁLISE DOS DADOS

Para o processamento estatístico dos dados foi utilizado o programa *Prism8 GraphPad Software*. A avaliação da normalidade dos dados foi feita através do teste de Shapiro-Wilk. O número de tentativas nas diferentes fases do treino foi analisado usando o teste não paramétrico de Wilcoxon. O teste não-paramétrico U de Mann-Whitney foi utilizado a fim de estudar a influência da idade dos indivíduos no número de tentativas necessárias para passar à fase seguinte, para analisar a influência da idade na determinação do ponto de igualdade subjetiva e para analisar a possível influência da idade no desempenho nos testes. A comparação do PIS com setas e PIS sem setas, a fim de estudar o grau de ilusão nos indivíduos, foi determinada utilizando o teste T paramétrico para amostras pareadas. Foi realizado o teste de ANOVA para múltiplas medições para analisar o desempenho de cada indivíduo das em todas as partes do teste (veículo, administração de MK-801, administração de cetamina). Os dados correspondentes a todos os indivíduos foram analisados usando *two-way ANOVA* para múltiplas medições e o teste de Bonferroni como post-hoc, para estudar as variações no desempenho em cada uma das fases do teste. O nível de significância estabelecido para todos os testes foi de 5% ( $p = 0,05$ ).

## 4 RESULTADOS

### 4.1 ETAPA DE TREINO

As fases da etapa de treino foram analisadas para os 5 indivíduos. O número de tentativas realizadas em cada uma das fases foi analisado para obtenção do critério de aprendizagem entre cada fase do treino. Foi utilizado o teste de Wilcoxon para esta análise. Não foi encontrada diferença estatística significativa entre a quantidade de tentativas necessárias para atingir o critério de aprendizagem entre as fases utilizadas no experimento (Tabela 3).

Tabela 3 - Comparação do número de tentativas necessária para alcançar o critério de aprendizagem em cada fase.

| Fase    | p      |
|---------|--------|
| F1 x F2 | 0.0625 |
| F1 x F3 | 0.1250 |
| F1 x F4 | 0.1250 |
| F2 x F3 | 0.0625 |
| F2 x F4 | 0.8750 |
| F3 x F4 | 0.8750 |

A quantidade de tentativas necessárias para passar a fase seguinte em relação à diferença de faixa etária também foi comparada entre os indivíduos. Para efetuar essa comparação, utilizou-se o teste de U Mann-Whitney. Não foram encontradas diferenças significativas entre o número de tentativas dentro de cada fase e a faixa etária dos indivíduos.

Na tabela 4, encontram-se os valores obtidos para os indivíduos segundo a diferença de faixa etária.

Tabela 4 - Número de tentativas por faixa etária dos indivíduos em cada uma das fases. DESVPAD = desvio padrão da média.

| Faixa etária    | Indivíduo | Fase 1   | Fase 2       | Fase 3     | Fase 4      |
|-----------------|-----------|----------|--------------|------------|-------------|
| Jovem           | 1         | 2        | 11           | 2          | 2           |
|                 | 3         | 2        | 21           | 14         | 30          |
|                 | 5         | 2        | 12           | 8          | 13          |
| Média (DESVPAD) |           | 2 (0)    | 14,67 (5,51) | 8 (6)      | 15 (14,11)  |
| Adulto          | 2         | 2        | 16           | 14         | 30          |
|                 | 4         | 2        | 63           | 46         | 27          |
| Média (DESVPAD) |           | 3 (1,42) | 39,5 (33,23) | 30 (22,63) | 28,5 (2,13) |

## 4.2 DETERMINAÇÃO DO PONTO DE IGUALDADE SUBJETIVA (PIS)

O número de tentativas para cada indivíduo na determinação do PIS variou de acordo com o resultado individual, sendo assim, o número de sessões realizadas para determinar o PIS próprio de cada dos indivíduos foi bastante variável. Foram analisados o PIS estabelecido (com e sem setas) e a quantidade necessária de sessões para cada um dos indivíduos.

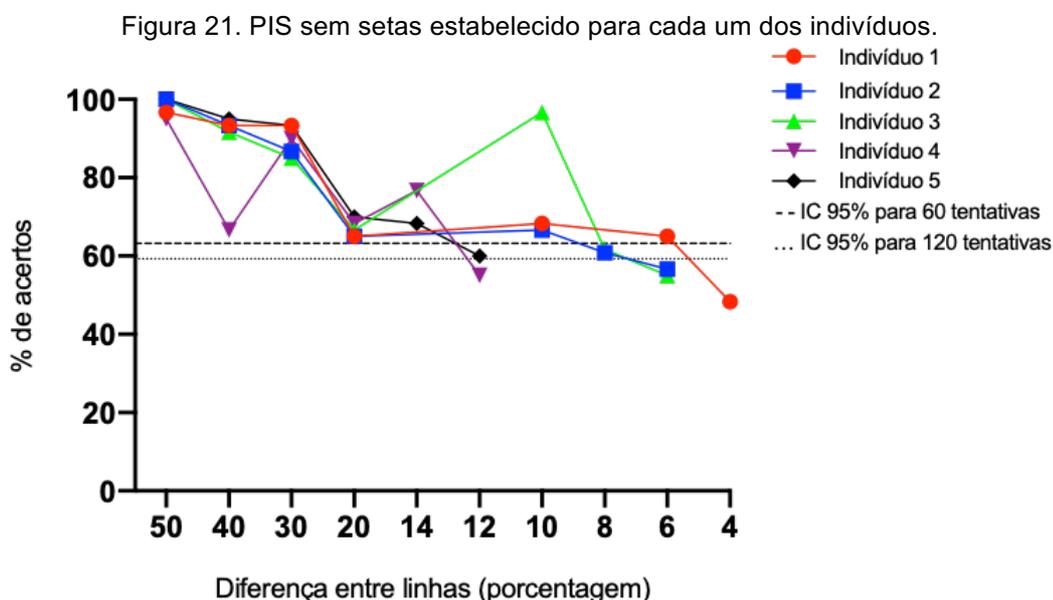
### 4.2.1 PIS sem setas

O ponto de igualdade subjetiva sem setas foi estabelecido para cada um dos indivíduos. O PIS está determinado em função da porcentagem de diferença entre duas retas. Logo, um PIS de 10, por exemplo, significa que a reta de menor comprimento era 10% menor que a reta maior. O comprimento da reta maior foi constante (14 cm), assim, a reta menor tinha um comprimento de 12,6 cm (90% do tamanho da reta maior). Os resultados obtidos encontram-se na Tabela 5.

Tabela 5 - PIS sem setas (em porcentagem) de cada um dos indivíduos com a diferença de comprimento referente as retas. DESVPAD = desvio padrão da média.

| Indivíduo       | PIS sem setas | Diferença entre as retas (cm) |
|-----------------|---------------|-------------------------------|
| 1               | 6             | 0,84                          |
| 2               | 8             | 1,12                          |
| 3               | 8             | 1,12                          |
| 4               | 14            | 1,96                          |
| 5               | 14            | 1,96                          |
| Média (DESVPAD) | 10 (3,75)     |                               |

A quantidade de sessões necessárias para estabelecer o PIS sem setas foi específico de cada indivíduo e foi estabelecido pelo desempenho deles em sessões consecutivas. Como relatado anteriormente, era necessário que cada indivíduo atingisse uma porcentagem de acertos superior a 63,19% em uma sessão (ou seja, acertar 38 de 60 tentativas), se o indivíduo não alcançasse essa porcentagem, realizava-se mais uma sessão no mesmo ponto, só que dessa vez o indivíduo deveria alcançar 59,26% das tentativas das duas sessões somadas (ou seja, acertar 72 de 120 tentativas).



Como demonstrado na figura 21, observa-se que o número de sessões é diferente para cada um dos indivíduos. Por exemplo, os indivíduos 4 e 5 foram os únicos que precisaram fazer o PIS 14 e não conseguiram alcançar a porcentagem estabelecida no PIS 12, diferentemente dos indivíduos 2 e 3, que fizeram o PIS 6

como última sessão utilizando o intervalo de confiança para 120 tentativas, e o indivíduo 1 que não conseguiu atingir o critério no PIS 4.

#### 4.2.2 PIS com setas

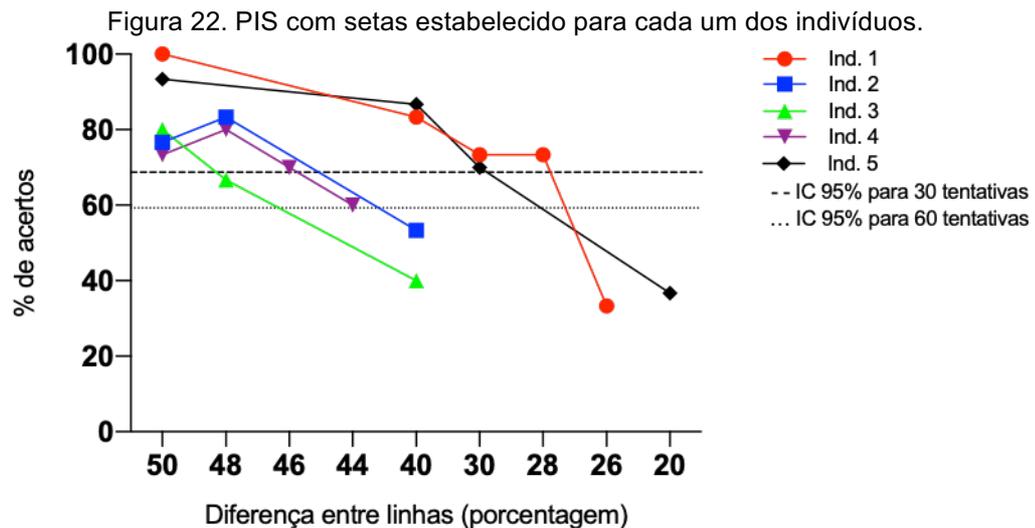
O ponto de igualdade subjetiva com setas foi estabelecido para cada um dos indivíduos. O número de sessões necessário para determinar o PIS com setas dependeu diretamente do desempenho de cada um dos indivíduos utilizados. O valor do PIS está determinado em função da porcentagem de diferença entre as duas retas. Logo, um PIS de 30, por exemplo, significa que a reta menor tinha uma diferença de comprimento de 30% em relação a maior. Como o comprimento da reta maior é constante (14 cm), a reta menor então terá um comprimento de 9,8 cm (70% do tamanho da reta maior). Assim, quanto maior é a porcentagem do PIS, maior a diferença entre os comprimentos das retas, semelhante ao caso do PIS sem setas relatado anteriormente. Os resultados obtidos se encontram na tabela 6.

Tabela 6 - PIS com setas (em porcentagem) para cada um dos indivíduos com a diferença de comprimento referente as retas. DESVPAD = desvio padrão da média.

| Indivíduo       | PIS com setas | Diferença entre as retas (cm) |
|-----------------|---------------|-------------------------------|
| 1               | 28            | 3,92                          |
| 2               | 48            | 6,72                          |
| 3               | 50            | 7,0                           |
| 4               | 46            | 6,44                          |
| 5               | 30            | 4,2                           |
| Média (DESVPAD) | 40,4 (10,53)  |                               |

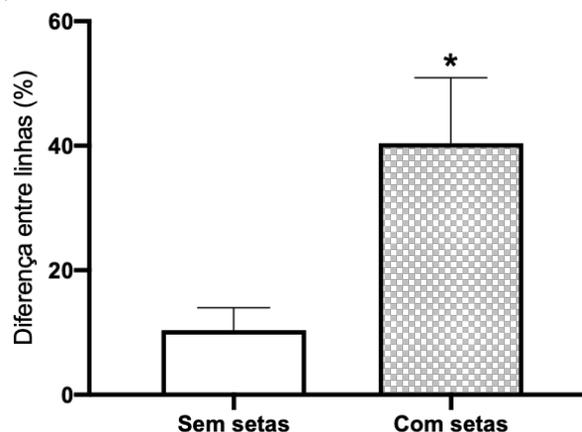
A quantidade de sessões necessária para estabelecer o PIS com setas foi própria de cada indivíduo, com base no desempenho de cada um em sessões consecutivas. O indivíduo tinha que alcançar uma porcentagem de acertos maior que 68,7% em uma única sessão que foi realizada (ou seja, acertar 21 de 30 tentativas), se o indivíduo não alcançasse essa porcentagem, realizava-se mais uma sessão no mesmo ponto, só que dessa vez o indivíduo deveria alcançar 59,26% das tentativas das duas sessões somadas (ou seja, acertar 38 de 60 tentativas).

Na figura 22, observa-se a média da porcentagem de acertos de cada um dos indivíduos em cada uma das fases. O número e o tipo de sessões foram diferentes para cada indivíduo. Por exemplo, os indivíduos 2 e 3 precisaram de três sessões diferentes para determinar o ponto de igualdade, enquanto o indivíduo 1 precisou de 5 sessões diferentes até encontrar tal meta.



Ao serem comparadas as médias entre o PIS nos diferentes contextos encontrou-se que as diferenças de porcentagem obtidas eram estatisticamente significativas entre o PIS sem setas e o PIS com setas (Figura 23, Teste t;  $p=0,0035$ ;  $t=6,175$ ;  $df=4$ ).

Figura 23. Média da diferença do tamanho das retas no PIS com e sem setas. As barras indicam o erro padrão da média.  $*p < 0,005$ .



Foi analisada também a possibilidade de diferença nos pontos de igualdade subjetiva agrupadas por faixa etária dos indivíduos usando o teste U de Mann-Whitney (Tabela 7). Não foram encontradas diferenças significativas no PIS sem setas nem no PIS com setas quando se analisou a faixa etária dos indivíduos. Assim, levando em consideração as diferenças de idade, o desempenho entre os grupos foi similar.

Tabela 7 - Comparação do desempenho dos indivíduos no PIS sem setas e PIS com setas em função da faixa etária. O valor de U e de p foram obtidos usando o teste U de Mann-Whitney.

|              | PIS sem setas | PIS com setas |
|--------------|---------------|---------------|
| Faixa etária | U = 1,500     | U = 2,000     |
|              | p = 0,500     | p = 0,800     |

#### 4.3 EXPERIMENTOS

Assim que foram determinados os pontos de igualdade subjetiva de cada um dos indivíduos, foram realizados os experimentos. Estes foram divididos em: (1) administração de veículo, MK-801 e cetamina; e (2) administração subcrônica de veículo e cetamina. O primeiro experimento foi realizado em 3 dias de administração em cada indivíduo, sendo que cada indivíduo recebeu uma dose por dia dos compostos (veículo, MK-801 ou cetamina) e aguardou-se o intervalo de no mínimo 72h para uma nova administração. Assim, totalizaram-se 3 dias de administração no primeiro experimento. O segundo experimento foi realizado em 4 dias consecutivos de administração de veículo e de cetamina em cada indivíduo, e novamente aguardaram-se 72h horas de intervalo entre estas administrações. No segundo experimento, totalizaram-se 8 dias de administração. No total foram 11 dias para completar os dois experimentos. Foi utilizada a sessão correspondente ao ponto de igualdade subjetiva com setas de cada indivíduo, determinado previamente, em cada um dos 11 dias de administração.

### 4.3.1 Administração de veículo, MK-801 e Cetamina

Nos dois experimentos a escolha da reta de menor comprimento pelos indivíduos não pode estar relacionada ao contexto das setas, ela deve ser realizada apenas pelo seu comprimento. Logo, foi estabelecido um desempenho médio mínimo de 90% para cada um dos indivíduos no ‘par controle’, que apresenta diferença visual robusta entre ambas as retas, funcionando como controle positivo da tarefa. A porcentagem de acertos para cada um dos indivíduos no primeiro experimento encontra-se na tabela 8. O indivíduo 1 no terceiro dia de administração dos compostos não se interessou em realizar o experimento.

Tabela 8 - Porcentagem de acertos do ‘par controle’ para cada um dos indivíduos, para cada dia, no 1º experimento. Não foi obtido resultado para o dia 3 do indivíduo 1. DESVPAD = desvio padrão da média.

| Dia                | Indivíduo 1  | Indivíduo 2  | Indivíduo 3  | Indivíduo 4  | Indivíduo 5  |
|--------------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| 1                  | 96,66        | 93,33        | 90,00        | 86,66        | 83,33        |
| 2                  | 86,66        | 96,00        | 83,33        | 86,66        | 93,33        |
| 3                  | ---          | 96,66        | 96,66        | 83,33        | 96,42        |
| Média<br>(DESVPAD) | 91,66 (7,07) | 95,33 (1,76) | 89,99 (6,66) | 85,55 (1,92) | 91,02 (6,84) |

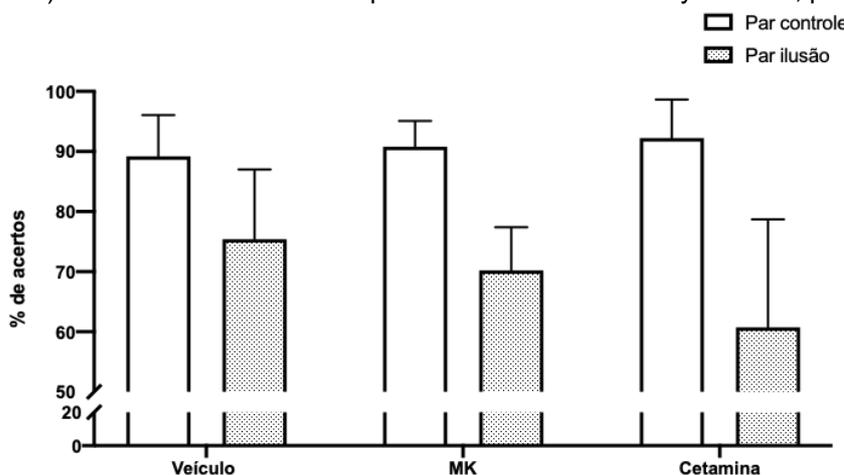
Foram analisados os dados de todos os indivíduos do grupo na primeira etapa de administração dos compostos. Foi utilizado o *two-way* ANOVA e foi encontrada diferença estatística significativa nas condições (par controle e par ilusão), mas não foi encontrada nos tratamentos e nem na interação entre as condições e o tratamento (Tabela 9).

Tabela 9 - Análise dos fatores condição (par controle e ilusão) e tratamento e da interação entre eles, usando o *two-way* ANOVA. \* $p < 0,005$

| Fatores             | F      | p       |
|---------------------|--------|---------|
| Condição            | 35,42  | 0,0040* |
| Tratamento          | 0,7951 | 0,4397  |
| Condição*Tratamento | 1,855  | 0,2398  |

Como não foi encontrada diferença estatística significativa entre os tratamentos realizados, não foi rejeitada a hipótese nula, segundo a qual não há diferença no desempenho dos macacos-prego entre os tratamentos (Figura 24;  $p > 0,05$ ).

Figura 24. Porcentagem de acertos no par controle e no par ilusão, no primeiro experimento (veículo, MK-801, cetamina). As barras indicam o erro padrão da média. Two-way ANOVA;  $p > 0,05$ .



#### 4.3.2 Administração subcrônica de veículo x cetamina

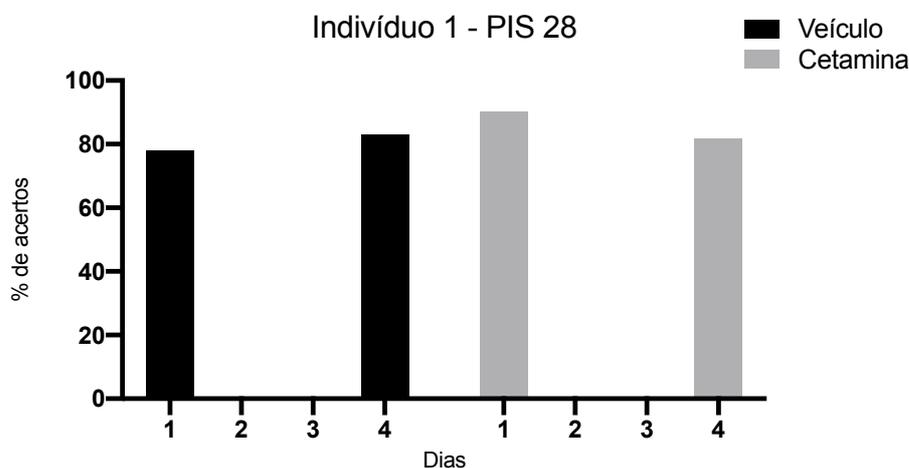
Assim como no primeiro experimento, a escolha da reta de menor comprimento pelos indivíduos não pode estar relacionada ao contexto das setas, ela deve ser realizada apenas pelo seu comprimento. Assim, também foi estabelecido um desempenho médio mínimo de 90% para cada um dos indivíduos no 'par controle', que apresenta diferença visual robusta entre ambas as retas. A porcentagem de acertos para cada um dos indivíduos no segundo experimento encontra-se na tabela 10.

Tabela 10 - Porcentagem de acertos do 'par controle' para cada um dos indivíduos, para cada dia, no 2º experimento (veículo x cetamina). Não foram obtidos resultados para os dias 5, 6, 9, e 10 do indivíduo 1. DESVPAD = desvio padrão da média.

| Dia             | Indivíduo 1  | Indivíduo 2  | Indivíduo 3  | Indivíduo 4  | Indivíduo 5  |
|-----------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| 4               | 100,00       | 96,15        | 86,66        | 96,66        | 80,00        |
| 5               | ---          | 100,00       | 96,66        | 100,00       | 88,88        |
| 6               | ---          | 96,66        | 96,66        | 76,66        | 88,88        |
| 7               | 100,00       | 96,66        | 93,33        | 90,00        | 85,71        |
| 8               | 96,42        | 96,66        | 73,33        | 86,66        | 96,66        |
| 9               | ---          | 100,00       | 90,00        | 96,66        | 83,33        |
| 10              | ---          | 96,66        | 93,33        | 96,66        | 93,33        |
| 11              | 100,00       | 96,66        | 93,33        | 96,66        | 94,73        |
| Média (DESVPAD) | 96,66 (1,79) | 97,43 (1,59) | 90,49 (7,65) | 92,49 (7,71) | 89,54 (6,02) |

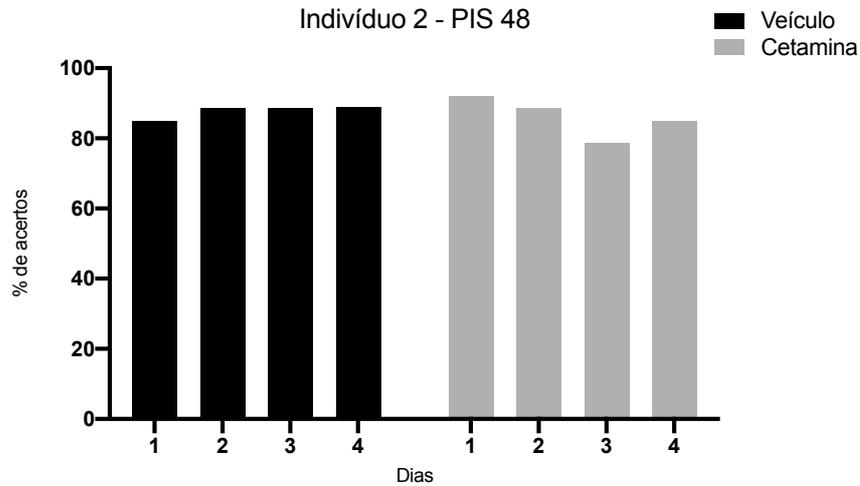
Foi realizada a sessão do ponto de igualdade subjetiva com setas determinado previamente para o indivíduo 1 com o PIS 28 (entre a reta maior e a reta menor há uma diferença de comprimento de 28%) repetido nos 4 dias de administração. No segundo e terceiro dia de administrações dos compostos, o indivíduo 1 não realizou o teste por não ter demonstrado interesse em realizar a tarefa. Portanto, não foi possível obter dados para esses dias. Não foi encontrada diferença estatística significativa no segundo experimento (veículo x cetamina) (Figura 25;  $F = 3,542$ ;  $p = 0,5760$ ).

Figura 25. Porcentagem de acertos do indivíduo 1 no ponto de igualdade subjetiva PIS 28 no segundo experimento (veículo x cetamina).



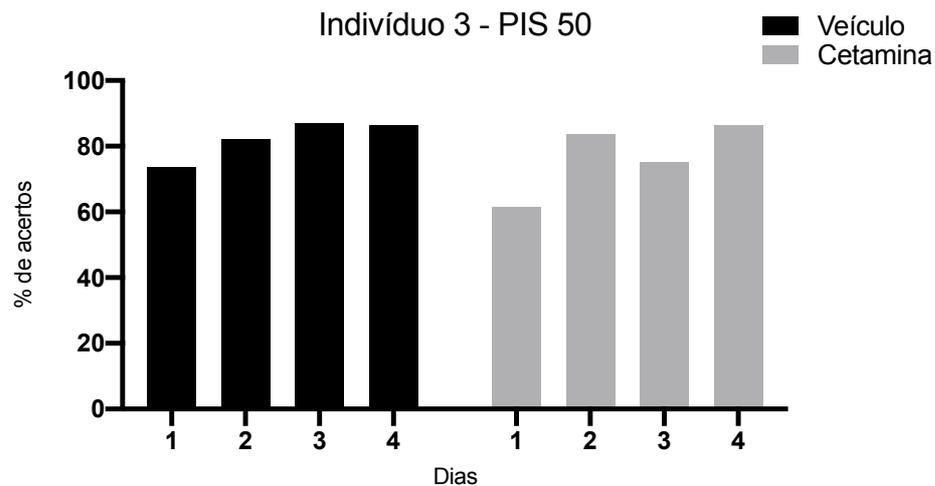
Para o indivíduo 2, foi realizada a sessão do ponto de igualdade subjetiva determinado previamente, ou seja, o PIS 48, (entre a reta de maior tamanho e a de menor tamanho há uma diferença de comprimento de 48%) repetido nos 4 dias de administração. Não foi encontrada diferença estatística significativa na segundo experimento (veículo x cetamina) (Figura 26;  $F = 6,306$ ;  $p = 0,4743$ ).

Figura 26. Porcentagem de acertos do indivíduo 2 no ponto de igualdade subjetiva PIS 48 no segundo experimento (veículo x cetamina).



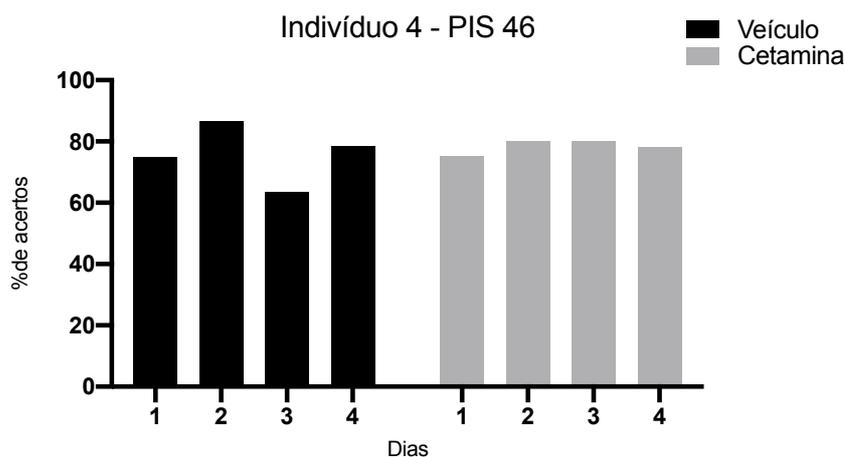
Para o indivíduo 3, foi realizada a sessão do ponto de igualdade subjetiva determinado previamente, ou seja, o PIS 50 (entre a reta de maior tamanho e a de menor tamanho há uma diferença de comprimento de 50%) repetido nos 4 dias de administração. Não foi encontrada diferença estatística significativa no segundo experimento (veículo x cetamina) (Figura 27;  $F = 4,969$ ;  $p = 0,4474$ ).

Figura 27. Porcentagem de acertos do indivíduo 3 no ponto de igualdade subjetiva PIS 50 no segundo experimento (veículo x cetamina);



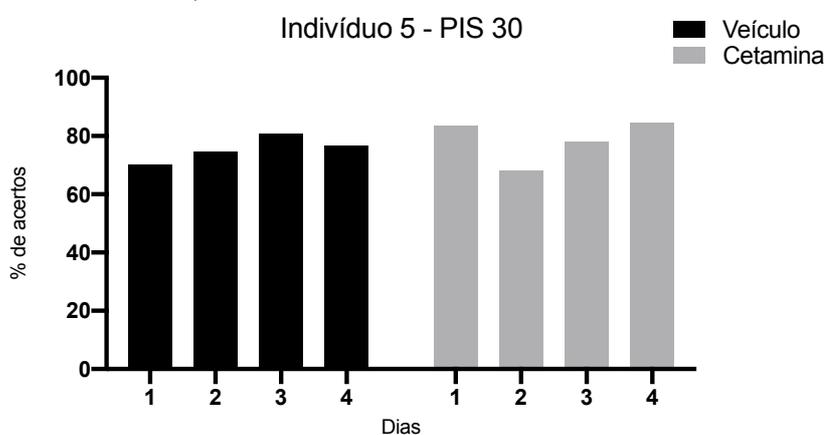
Para o indivíduo 4, foi realizada a sessão do ponto de igualdade subjetiva determinado previamente, ou seja, o PIS 46 (entre a reta de maior tamanho e a de menor tamanho há uma diferença de comprimento de 46%) repetido nos 4 dias de administração. Não foi encontrada diferença estatística significativa no segundo experimento (veículo x cetamina) (Figura 28;  $F = 6,176$ ;  $p = 0,3431$ ).

Figura 28. Porcentagem de acertos do indivíduo 4 no ponto de igualdade subjetiva PIS 46 no segundo experimento (veículo x cetamina).



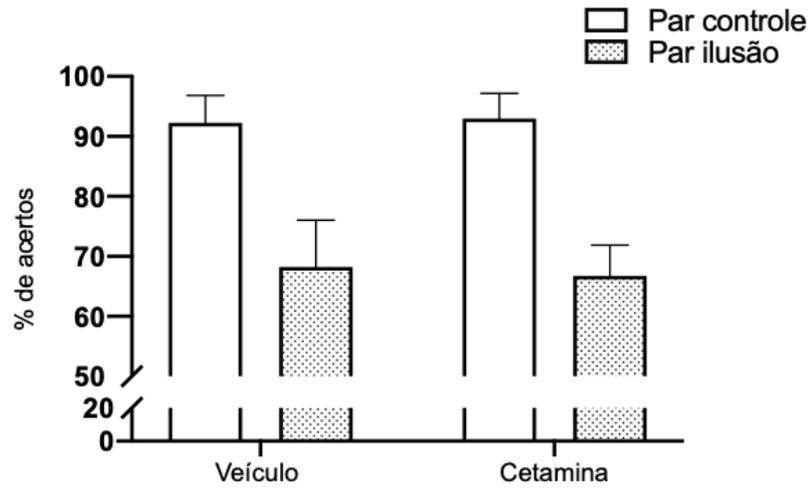
Para o indivíduo 5, foi realizada a sessão do ponto de igualdade subjetiva determinado previamente, ou seja, o PIS 30 (entre a reta de maior tamanho e a de menor tamanho há uma diferença de comprimento de 30%) repetido nos 4 dias de administração de cetamina e veículo. Foi encontrada diferença estatística significativa no segundo experimento (veículo x cetamina) (Figura 29;  $F = 8,125$ ;  $p = 0,0047$ ).

Figura 29. Porcentagem de acertos do indivíduo 5 no ponto de igualdade subjetiva PIS 30 no segundo experimento (veículo x cetamina).



Foi estabelecida a porcentagem média de acertos durante os 4 dias de administração de todos os indivíduos agrupados e não houve diferença estatística significativa entre os tratamentos (Figura 30;  $F_{0,1487}$ ;  $p = 0,1255$ ).

Figura 30. Porcentagem média de acertos dos 4 dias de administração no par controle e no par ilusão no segundo experimento (veículo e cetamina). As barras indicam o erro padrão da média. Two-way ANOVA;  $p > 0,05$ .



## 5 DISCUSSÃO

Os resultados obtidos neste trabalho vão ao encontro de outros de nosso grupo (31, 92) de que os primatas não-humanos do gênero *Sapajus* são suscetíveis ao fenômeno ilusório de Müller-Lyer, contudo não foi observado um aumento no número de respostas corretas no teste da ilusão de Müller-Lyer após a administração de MK-801, conforme obtido por Jacobsen et al. (31). Além disso, a administração aguda, e a subcrônica durante 4 dias consecutivos de cetamina, outro antagonista de receptores glutamatérgicos do tipo NMDA, também não aumentou o número de respostas corretas no teste da ilusão de Müller-Lyer nos macacos-prego, em comparação com a administração de veículo.

### 5.1 ETAPA DE TREINO

Antes de iniciar os experimentos foi necessária a etapa de treino para cada um dos indivíduos. Essa etapa foi necessária para garantir que todos os indivíduos aprendessem a regra de tocar na reta de menor comprimento e estabelecer o PIS com setas e sem setas de cada um dos indivíduos participantes.

A quantidade de tentativas na fase 1 do treino foi homogênea em todos os indivíduos, já que eles tinham experiência prévia com a tela *touchscreen* e, semelhante ao trabalho de Jacobsen et al. (31), no presente trabalho não houve diferença estatística significativa na quantidade de tentativas necessárias para avançar à fase subsequente. O estímulo nesta fase consistia em uma reta preta na parte inferior ou superior da tela branca do monitor. A reta destacava do fundo branco, o que atraía a atenção dos indivíduos e facilitava o aprendizado e a escolha da reta na tela.

A fase mais demorada foi a fase 2 da etapa de treino. Uma vez que, era necessário que o indivíduo tocasse na tela e na reta de menor comprimento entre duas retas de tamanhos distintos que eram apresentadas, ou seja, caracterizava uma nova regra a ser aprendida pelos indivíduos e, em contraste com a fase 1, quando a regra era apenas tocar no estímulo. Outro fator que caracteriza essa fase com uma

duração maior, é que a reta de maior comprimento na tela de fundo branco é um caractere de estímulo visual mais forte que a reta menor, logo, os indivíduos tendem a escolher a maior entre as duas apresentadas. Porém, apesar dos indivíduos necessitarem de uma maior quantidade de tentativas nesta fase, não foi encontrada diferença estatística significativa na fase 2 em relação as outras fases, provavelmente pela experiência prévia com o treino, o que aumentou de forma moderada esta fase, mas não de forma estatisticamente significativa, conforme já mencionado anteriormente. Apenas um indivíduo escolheu a reta de menor comprimento durante toda essa fase e, após dois meses, o indivíduo não foi mais treinado nem contabilizado entre os sujeitos do presente trabalho.

Nas fases da etapa de treino posteriores, ou seja, as fases 3 e 4, a quantidade de tentativas necessárias para passar a fase seguinte foi similar entre os indivíduos, uma vez que a regra continuou sendo a mesma e a presença do contexto (as setas convergentes ou divergentes nas retas) não influenciou a escolha dos indivíduos. Assim, uma vez que os indivíduos aprendem o uso do monitor e a regra de escolha da reta de menor comprimento, o desempenho deles torna-se homogêneo, corroborando os dados encontrados nos trabalhos anteriores de nosso grupo (31, 92).

Quando comparada a quantidade de tentativas necessárias em cada uma das fases em função da faixa etária dos indivíduos, também não foi encontrada diferença estatística significativa. Assim, o resultado dos indivíduos foi considerado análogo, corroborando mais uma vez os dados encontrados no trabalho de Jacobsen et al. (31).

## 5.2 ETAPA DE DETERMINAÇÃO PONTO DE IGUALDADE SUBJETIVA (PIS)

A presença do contexto nas retas (setas convergentes ou divergentes) influenciou a percepção do comprimento das retas no macaco-prego, corroborando estudos preliminares de nosso grupo (31, 92). Assim, a diferença de comprimento entre as retas no ponto de igualdade subjetiva com setas foi significativamente maior que a diferença de comprimento entre as retas ao determinar o ponto de igualdade subjetiva sem setas.

O valor médio encontrado para o PIS com setas no presente trabalho foi de 40,4% já no trabalho de Jacobsen et al. (31) o valor encontrado foi menor, de 34,4%

de diferença no comprimento das retas. Essa diferença entre os resultados pode ter sido influenciada por variações individuais dos sujeitos que participaram dos trabalhos. Considerando que os animais são mantidos por vários anos no Centro de Primatologia e participam de inúmeros estudos, a variação individual é grande neste tipo de estudo. Por esta mesma razão, o desenho experimental adotado utiliza amostras dependentes, i.e., em que cada indivíduo é seu próprio controle. Assim, a despeito da diferença encontrada no valor de PIS, a diferença entre PIS com e sem setas foi significativa.

Foram analisadas também possíveis diferenças nos valores determinados individualmente nos PIS com e sem setas em função da faixa etária dos indivíduos e não foi encontrada diferença estatística significativa. Assim, embora os resultados do PIS encontrados sejam diferentes em cada um dos indivíduos, o desempenho do grupo pode ser considerado homogêneo. De maneira semelhante, em humanos, alguns estudos não encontraram influência da faixa etária na sensibilidade à ilusão de Müller-Lyer (110-111). Porém, essa influencia ainda é objeto de estudo e permanece com resultados divergentes em outros grupos (112).

A ilusão de Müller-Lyer foi testada vários animais, como pombos (113), peixes (114), papagaios (115), e mais recentemente em cães domésticos (116), e todos foram suscetíveis a ela. Sendo identificada em um vasto grupo de espécies, o mecanismo perceptual envolvido nesta ilusão aparenta ser altamente conservado no histórico evolutivo dos animais. Isto sugere que a ilusão está relacionada a propriedades básicas do sistema sensorial, possivelmente com grande valor de sobrevivência. (91, 117).

### 5.3 EXPERIMENTOS

Foram analisados nos dois experimentos o par de setas caracterizado como 'par controle' para cada um dos indivíduos. Neste par de setas, a reta de menor comprimento tem setas divergentes e a reta de maior comprimento tem setas convergentes. Elas intensificam a percepção da diferença entre as retas, ao contrário da ilusão de Müller-Lyer. Logo, a reta que tem maior comprimento aparenta ser ainda maior e a reta de menor comprimento aparenta ser menor. O 'par controle' funciona

então, como um controle positivo da tarefa, pois garante que a escolha da reta não está associada a direção das setas. A média do desempenho dos indivíduos neste par foi, na maioria dos indivíduos, acima de 90%. Apenas o indivíduo 4 (no primeiro experimento) apresentou uma média de 85,55% de acertos no 'par controle'. Porém, no segundo experimento o mesmo indivíduo apresentou 92,49% de acerto, o que pode indicar uma possível desatenção do indivíduo em algum momento do primeiro experimento, uma vez que pequenos ruídos ou movimentações aos arredores dos viveiros podem ocasionar na saída do animal da frente do monitor e mudar o foco de sua atenção por alguns instantes. Entretanto, ainda assim, pode-se afirmar que os valores encontrados para a escolha do 'par controle' indicam que não houve modificação da regra de escolha das retas ao longo dos experimentos.

No presente trabalho, as administrações de MK-801 e cetamina não induziram diferenças estatísticas significativas no experimento quando comparadas à administração veículo, o que demonstra que eles não diminuíram a suscetibilidade do macaco-prego à ilusão de Müller-Lyer e, portanto, não aumentaram o desempenho dele no teste (*i.e.*, não aumenta o número de respostas corretas).

Os resultados aqui relatados vão em sentido oposto aos encontrados por Jacobsen et al. (31) que demonstrou que o modelo farmacológico de esquizofrenia gerado pelo fármaco MK-801, aumentou o número de respostas corretas no teste da ilusão de Müller-Lyer. Este resultado sugere que houve uma diminuição da suscetibilidade à ilusão. Essa divergência de resultados pode ser explicada pela diferença na metodologia dos experimentos aplicada nos dois trabalhos. No estudo de Jacobsen et al. (31) foi utilizada a administração subcrônica do fármaco MK-801 durante 4 dias consecutivos, ao passo que no presente trabalho houve apenas uma administração, na mesma dose, de MK-801. Assim, o efeito esperado do MK-801 no presente trabalho pode não ter sido encontrado devido a sua não administração subcrônica.

Nesse sentido, um estudo utilizando outro teste, o teste da inibição por pré-pulso (PPI) da resposta de sobressalto acústico com ratos, verificou uma diminuição da PPI após nove dias consecutivos de administração, além de um aumento na resposta de sobressalto na ausência de pré-pulso (118). Gomes et al. (119) também observaram um efeito de sensibilização após um tratamento de 28 dias consecutivos em camundongos no teste do PPI. Portanto, o MK-801 parece ter seus efeitos mais pronunciados quando administrado de forma repetida. Porém, esse perfil de

administração do MK-801 não é consenso. Em sentido oposto, Tsukada et al. (59) utilizando macacos *rhesus*, relatou que o MK-801 prejudicou a memória operacional após administrações agudas e crônicas. Em outro estudo com macacos *rhesus*, foi evidenciado que uma única administração de MK-801 nas doses de 0,02 e 0,04 mg/kg foi suficiente para prejudicar a memória operacional quando comparada à resposta dos mesmos animais antes da administração da droga (60). Em estudos anteriores, a administração deste composto em doses maiores também foi realizada, porém provocou ataxia nos indivíduos, o que impediu a execução da tarefa (45, 59, 60-62). Assim, futuros estudos poderiam focar no estabelecimento de uma curva dose-resposta do MK-801 para os macacos-prego no teste de ilusão, tendo como limite máximo o aparecimento de efeitos atáxicos.

O MK-801 é um antagonista do receptor de glutamato de tipo NMDA (NMDAR), assim, a administração deste composto ocasiona o bloqueio desses receptores, simulando uma hipofunção dos receptores de NMDA, uma hipótese da teoria glutamatérgica da esquizofrenia. Estudos anteriores verificaram que ele é capaz de mimetizar alguns dos sintomas esquizotípicos em pessoas hígdas e intensificar em pacientes com esquizofrenia (120, 121). Além disso, a intoxicação acidental ou abuso de compostos em seres humanos com antagonistas de NMDA provocam sintomas clínicos semelhantes aos de pacientes esquizofrênicos, como psicoses, comportamentos anormais ou depressão, períodos de letargia seguidos de agitação, distúrbios de pensamento, distúrbios na fala, distúrbios motores, redução da dor (122). Em macacos, a administração de MK-801 produz prejuízos na aprendizagem, déficits nas tarefas visuo-espaciais, dificuldade perceptual em tarefas de discriminação e produz déficits no teste da inibição por pré-pulso (PPI) (45). Nesse sentido, Deutsch et al. (123) propusera que os antagonistas não-competitivos de NMDA, ao bloquearem esse receptor, levariam à estimulação de receptores glutamatérgicos não-NMDA como alfa-amino-3-hidroxi-metil-5-4-isoxazolpropiónico (AMPA) e cainato por meio da redução da estimulação em interneurônios GABAérgicos e por consequência desinibição de neurônios glutamatérgicos no córtex cerebral.

Outro antagonista não-competitivo do receptor NMDA utilizado no presente trabalho é a cetamina (17). Entre os antagonistas de NMDA, a cetamina tem recebido atenção em vários trabalhos (14, 124-125). Em um estudo com humanos, a cetamina administrada de forma dose-resposta induziu sintomatologia psicótica em voluntários humanos saudáveis, além de causar um aumento de mesma magnitude em voluntários

esquizofrênicos (126-127). Assim, a cetamina vem sendo usada para avaliar sintomas positivos e negativos da esquizofrenia. Umbricht et al. (128) mostrou, em um trabalho utilizando 20 humanos saudáveis, após administração subanestésica de cetamina, que eles apresentaram déficits auditivos e visuais, alterações nas regiões límbico cortical, na formação hipocampal, núcleo accumbens, e amígdala basolateral, além de aumento cerebral do fluxo sanguíneo no córtex cingulado anterior e redução cerebral do fluxo sanguíneo no hipocampo e córtex visual primário. Além disso, pacientes esquizofrênicos demonstraram ser especialmente sensíveis ao teste de ilusão de propriedade do corpo inteiro e, conseqüentemente, a ilusão foi intensificada com a administração de cetamina quando comparadas ao placebo administrado nos mesmos indivíduos (129).

Em trabalho com primatas não-humanos do gênero *Callithrix*, a administração de cetamina prejudicou a memória de trabalho desses animais quando comparados à administração de veículo (130). Nesse sentido, Taffe et al. (109) utilizando macacos *rhesus* em tarefas comportamentais e testes neuropsicológicos, relatou que doses subanestésicas de cetamina prejudicaram o desempenho dos sujeitos em todos os testes, interferindo na retenção de informações visuais, memória de trabalho espacial, resposta e coordenação motora e atenção, tanto em doses mais baixas quanto em doses mais altas. Além disso, os decréscimos relacionados a cetamina no desempenho das tarefas de memória interagiram com a dificuldade da tarefa, o que indica um efeito específico da droga nos aspectos de memória do desempenho da tarefa.

De fato, a cetamina demonstra ser mais um composto capaz de mimetizar os principais sintomas esquizotípicos em uma grande diversidade de animais. Porém, ela ainda não tinha sido testada no teste da ilusão de Müller-Lyer em primatas não-humanos, o que torna difícil sua comparação e análise mais robusta e podendo levar a conclusões superficiais. Contudo, a suscetibilidade desses indivíduos à ilusão já é bem estabelecida e de maneira similar ao dos humanos (131).

No presente trabalho, a administração aguda e subcrônica de cetamina (todos na dose de 0,3 mg/kg peso) não alterou a percepção dos indivíduos do gênero *Sapajus* no teste da ilusão de Müller-Lyer, em comparação com o veículo. Até o momento, não há relatos na literatura sobre a influência da cetamina no teste da ilusão de Müller-Lyer em primatas. É importante que mais estudos sejam realizados, com um maior número de sujeitos e com uma curva dose-resposta da cetamina para os

macacos-prego, para que se possa interpretar com mais clareza os resultados encontrados até o momento. Isso porque, possivelmente, ele pode induzir alterações na percepção da MLI nesses indivíduos (semelhante ao MK-801) uma vez que essa alteração pode ser similar àquelas encontradas na fase prodrômica da esquizofrenia, conforme observado por Parnas et al. (97).

## 6 CONCLUSÃO

Os resultados do presente trabalho indicam que os macacos-prego do gênero *Sapajus* são suscetíveis ao fenômeno ilusório visual da ilusão de Müller-Lyer, em conformidade com trabalhos anteriores de nosso grupo (92, 31). Além disso, o resultado do PIS com setas ser maior do que o PIS sem setas representa como o julgamento do comprimento das retas foi influenciado pelo contexto inserido nas retas (*i.e.*, setas divergentes e convergentes). Conforme já relatados em trabalhos anteriores, humanos esquizofrênicos demonstram ter uma alteração em sua percepção na ilusão de Müller-Lyer e, assim, pode-se concluir que os indivíduos do gênero *Sapajus* (macacos-prego) são sensíveis também a ilusão. Essa sensibilidade alterada à ilusão reforça a ideia de que mais estudos da ilusão de Müller-Lyer devam ser realizados, visando um modelo farmacológico da esquizofrenia utilizando primatas não-humanos como indivíduos experimentais no entendimento da patologia, dada a proximidade filogenética e fisiológica desses animais com os seres humanos, tornando comparações nos resultados mais congruentes e confiáveis. Assim, a presença da ilusão de Müller-Lyer em primatas não-humanos e seres humanos corrobora a hipótese de que este fenômeno é importante para a nossa sobrevivência, desde os nossos ancestrais mais antigos e indicando semelhanças nos mecanismos fisiológicos da percepção entre os primatas.

A administração aguda de MK-801 e cetamina não alterou a suscetibilidade dos macacos à ilusão. Também não foram encontradas alterações induzidas pela administração subcrônica de cetamina, em função da restrição do tamanho amostral em teste de primatas, no entanto não foi possível testar variações de doses com os compostos testados. Não obstante, tendo em vista resultados os efeitos encontrados para administração subcrônica de MK-801 em estudos anteriores, os resultados do presente trabalho sugerem que somente a administração repetida de MK-801 induziria alterações significativas na tarefa da ilusão de Müller-Lyer.

## 7 REFERÊNCIAS

1. Almeida NF, Mari JJ, Coutinho ESF, França JF, Fernandes JG, Andreoli SB. Estudo multicêntrico de morbidade psiquiátrica em áreas urbanas brasileiras (Brasília, São Paulo, Porto Alegre). *Revista da Associação Brasileira de Psiquiatria-Asociación Psiquiátrica de la América Latina*, 1992;16: 93-104.
2. McGrath J, Saha S, Chant D, Welham J. Schizophrenia: a concise overview of incidence, prevalence, and mortality. *Epidemiologic Reviews*, 2008;30(1): 67-76.
3. Messias E, Chen CY, Eaton WW. Epidemiology of Schizophrenia: Review of Findings and Myths. *Psychiatric Clinics of North American*, 2007;30(3): 323-338.
4. Notredame C-E, Pins D, Deneve S, Jardri R. What visual illusions teach us about schizophrenia. *Frontiers in Integrative Neuroscience*, 2014;8(63): 1-16.
5. Perala J, Suvisaari J, Saarni Si, Kuoppasalmi K, Isometsa E, Pirkola S, Partonen T, Tuulio-Henriksson A, Hintikka J, Kieseppa T, Härkänen T, Koskinen S, Lonnqvist J. Lifetime prevalence of psychotic and bipolar I disorders in a general population. *Archives of General Psychiatry*, 2007;64(1): 19-28.
6. Lewis DA, Lieberman JA. Catching up on schizophrenia: natural history and neurobiology. *Neuron*, 2000;28(2): 325-334.
7. Balu DT, Coyle JT. The NMDA receptor 'glycine modulatory site' in schizophrenia: D-serine, glycine, and beyond. *Current Opinion in Pharmacology*, 2015;20: 109-115.
8. Surguladze SA, Chkonia ED, Kezeli AR, Roinishvili MO, Stahl D, David AS. The McCollough Effect and Facial Emotion Discrimination in patients with Schizophrenia and their Unaffected Relatives. *Schizophrenia Bulletin*, 2012;38(3): 599-607.

9. Goldman-Rakic PS. Working memory dysfunction in schizophrenia. *Journal Neuropsychiatry Clinical Neurosciences*, 1994;6(4): 348-357.
10. Ferretjans R, Moreira FA, Teixeira AL, Salgado JV. O sistema endocanabinóide e seu papel na esquizofrenia: uma revisão sistemática da literatura. *Revista Brasileira de Psiquiatria*, 2012;34(2): 163-193.
11. Range, H. P. and Dale, M. M. *Farmacologia*. 7th ed. Elsevier: 2012.
12. Butler PD, Javitt DC. Early-stage visual processing deficits in schizophrenia. *Current Opinion in Psychiatry*, 2005;18(2): 151-157.
13. Cohen JD, Servan-Schreiber D. Context, cortex, and dopamine: a connectionist approach to behavior and biology in schizophrenia [review]. *Psychologica Review*, 1992;99(1): 45-77.
14. Becker A, Peters B, Schroeder H, Mann T, Huether G, Grecksch G. Ketamine-induced changes in art behavior: a possible animal model of schizophrenia. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 2003;27(4): 687-700.
15. Bernstein HG, Becker A, Keilhoff G, Spilker C, Gorczyca WA, Braunewell KH, Grecksch G. Brain region-specific changes in the expression of calcium sensor proteins after repeated application of ketamine in rats. *Neuroscience Letters*, 2003; 339(2): 95-98.
16. Marcotte ER, Pearson DM, Srivastava LK. Animal models of schizophrenia: A critical review. *Journal of Psychiatry and neuroscience*, 2001;26(5): 395-410.
17. Vasconcelos SMM, Andrade MM, Soares PM, Chaves BG, Patrocínio MCA, Sousa FCF, MacêDo DS. Ketamine: general aspects and relationship with schizophrenia. *Revista de Psiquiatria Clínica*, 2005;32(1): 10-16.
18. Olney JW. Endogenous excitotoxins and neuropathological disorders. In: Lodge D. *Excitatory Amino acids in health and disease*. John Wiley & Sons, 1988; 337-51.

19. Javitt DC, Zukin SR. Recent advances in the phencyclidine model of schizophrenia. *American Journal of Psychiatry*, 1991;148(10): 1301-1308.
20. Coyle JT. The glutamatergic dysfunction hypothesis for schizophrenia. *Harvard Review of Psychiatry*, 1996;3(5): 241-253.
21. Araripe Neto AGA, Bressan RA, Bussato Filho G. Fisiopatologia da esquizofrenia: aspectos atuais. *Revista Psiquiatria Clínica*, 2007;32(2): 198-207.
22. Pillowsky LS, Bressan RA, Stone JM. First in vivo evidence of an NMDA receptor deficit in medication-free schizophrenic patients. *Molecular psychiatry*, 2006;11(2): 118-119.
23. Olney JW, Farber NB. NMDA antagonists as neurotherapeutic drugs, psychotogens, neurotoxins, and research tools for studying schizophrenia. *Neuropsychopharmacology*, 1995;13(4): 335-345.
24. Enomoto T, Tse MT, Floresco SB. Reducing prefrontal gamma-aminobutyric acid activity induces cognitive, behavioral, and dopaminergic abnormalities that resemble schizophrenia. *Biology Psychiatry*, 2011;69(5): 432-441.
25. Benes FM, Taylor JB, Cunningham MC. Convergence and plasticity of monoaminergic systems in the medial prefrontal cortex during the postnatal period: implications for the development of psychopathology. *Cerebral Cortex*, 2000;10(10): 1014-1027.
26. Caine SB, Geyer MA, Swerdlow NR. Carbachol infusion into the dentate gyrus disrupts sensorimotor gating of startle in the rat. *Psychopharmacology*, 1991;105: 347-354.
27. Caine SB, Geyer MA, Swerdlow NR. Hippocampal modulation of acoustic startle and prepulse inhibition in the rat. *Pharmacology Biochemistry Behaviour*, 1992;43(4): 1201-1208.

28. Koch M. The neurobiology of startle. *Progress in Neurobiology*, 1999;59(2): 107-128.
29. Swerdlow NR, Caine SB, Braff DL, Geyer MA. Neural substrates of sensorimotor gating of the startle reflex: preclinical findings and their implications. *J Psychopharmacology*, 1992;6(2): 176-190.
30. Swerdlow NR, Geyer MA, Braff DL. Neural circuit regulation of prepulse inhibition of startle in the rat: current knowledge and future challenges. *Psychopharmacology*, 2001;156(2-3): 194-215.
31. Jacobsen ME, Barros M, Maior RS. MK-801 reduces sensitivity to Müller-Lyer's illusion in capuchin monkeys. *Behavioural Brain Research*, 2017;316, 54-58.
32. Moghaddam B, Adams B, Verma A, Daly D. 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*, 1997;17(8): 2921-7.
33. Martin PR, White AJR, Goodchild AK, Wilder HD, Sefton AE. Evidence that blue-on cells are part of the third geniculocortical pathway in primates. *European Journal of Neuroscience*, 1997;9(7): 1536-1541.
34. Jentsch JD, Roth RH. The neuropsychopharmacology of phencyclidine: From NMDA receptor hypofunction to the dopamine hypothesis of schizophrenia. *Neuropsychopharmacology*, 1999;20(3): 201-25.
35. Wooley DW, Shaw E. A biochemical and pharmacological suggestion about certain mental disorders. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 1954;40(4): 228-231.

36. Ouhouha DC, Hyde TM, Kleinman JE. The role of serotonin in schizophrenia: an overview of the nomenclature, distribution and alterations of serotonin receptors in the central nervous system. *Psychopharmacology*, 1993;112(1suppl): 5-15.
37. Carlsson A, Lindquist L. Effect of chlorpromazine or haloperidol on formation of 3-methoxytyramine and normetanephrine in mouse brain. *Acta Pharmacologica Et Toxicologica*, 1963;20: 140-144.
38. Yokel RA, Wise RA. Increased lever pressing for amphetamine after pimozide in rats: implications for a dopamine theory of reward. *Science*, 1975;187(4176):547-9.
39. Meltzer HY, Stahl SM. The dopamine hypothesis of schizophrenia: a review. *Schizophrenia Bulletin*, 1976;2(1): 19-76.
40. Ellison G. Stimulant-induced psychosis, the dopamine theory of schizophrenia, and the habenula. *Brain Research Reviews*, 1994;19(2): 223-239.
41. Stevens JR. Schizophrenia and dopamine regulation in the mesolimbic system. *Trends in Neuroscience*, 1979;2: 102-105.
42. Davis KL, Kahn RS, Ko G, Davidson M. Dopamine in schizophrenia: A review and reconceptualization. *The American Journal of Psychiatry*, 1991;148(11): 1474-86.
43. Akil M, Pierri JN, Whitehead RE, Edgar CL, Mohila C, Sampson AR, Lewis DA. Lamina-specific alterations in the dopamine innervation of the prefrontal cortex in schizophrenic subjects. *The American Journal of Psychiatry*, 1999;156(10): 1580-9.
44. Davis KL, Kahn RS, Ko G, Davidson M. Dopamine in schizophrenia: A review and reconceptualization. *The American Journal of Psychiatry*, 1991;148(11): 1474-86.
45. Saletti PG, Maior RS, Hori E, Nishijo H, Tomaz C. Sensorimotor gating impairments induced by MK-801 treatment may be reduced by tolerance effect and by familiarization in monkeys. *Frontiers in Pharmacology*, 2015;6: 204.

46. Brisch R, Saniotis A, Wolf R, Bielau H, Bernstein H-G, Steiner J, Bogerts B, Braun K, Jankowski Z, Kumaratilake J, Henneberg M, Gos T. The role of dopamine in schizophrenia from a neurobiological and evolutionary perspective: old fashioned, but still in vogue. *Frontiers of Psychiatry*, 2014;5(47): 1-10.
47. Gardner DM, Baldessarini RJ, Waraich P. Modern antipsychotic drugs: a critical overview. *Canadian Medical Association Journal*, 2005;172(13): 1703-1711.
48. Wong EH, Kemp JA, Priestley T, Knight AR, Woodruff GN, Iversen LL. The anticonvulsant MK- 801 is a potent N-methyl-D-aspartate antagonist. *Proceedings of the National Academy Sciences of the United States*, 1986;83(18): 7104-7108.
49. Boireau A, Bordier F, Durand G, Doble A. The antidepressant metopramine is a low-affinity antagonist at N-methyl-D-aspartic acid receptors. *Neuropharmacology*. 1996;35(12): 1703-7.
50. Maurice T, Vignon J, Kamenka JM, Chicheportiche R. Differential interaction of phencyclidine-like drugs with the dopamine uptake complex in vivo. *Journal of Neurochemistry*, 1991;56(2): 553-9.
51. Crosby MJ, Hanson JE, Fleckenstein AE, Hanson GR. Phencyclidine increases vesicular dopamine uptake. *European Journal of Pharmacology*, 2002;438(1-2): 75-78.
52. Park SJ, Lee Y, Oh HK, Lee HE, Lee Y, Ko SY, Kim B, Cheong JH, Shin CY, Ryu JH. Oleanolic acid attenuates MK-801- induced schizophrenia-like behaviors in mice. *Neuropharmacology*, 2014;86: 49-56.
53. Basurto E, Flores OG, Hoffman KL. Glycinamide prevents MK-801-induced hyperactivity and deficits in object recognition memory in an animal model of positive and cognitive symptoms of schizophrenia. *Schizophrenia Research*, 2015;166(1-3): 349-350.

54. Long LE, Malone DT, Taylor DA. Cannabidiol reverses MK-801-induced disruption of prepulse inhibition in mice. *Neuropsychopharmacology*, 2006;31(4): 795-803.
55. Arai S, Takuma K, Mizoguchi H, Ibi D, Nagai T, Takahashi K, Kamei H, Nabeshima T, Yamada K. Involvement of pallidotegmental neurons in methamphetamine- and MK-801-induced impairment of prepulse inhibition of the acoustic startle reflex in mice: reversal by GABAB receptor agonist baclofen. *Neuropsychopharmacology*, 2008;33(13): 3164-75.
56. Teichert T. Loudness and time-dependence of auditory evoked potentials in blunted by the NMDA channel blocker MK-801. *Psychiatry Research*, 2017;256: 202-206.
57. Ogura H, Aigner TG. MK-801 impairs recognition memory in rhesus monkeys: comparison with cholinergic drugs. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 1993;266(1): 60-64.
58. Buffalo E a, Gillam MP, Allen RR, Paule MG. Acute behavioral effects of MK-801 in rhesus monkeys: assessment using an operant test battery. *Pharmacology Biochemistry Behavioural*, 1994;48(4): 935-40.
59. Tsukada H, Nishiyama S, Fukumoto D, Sato K, Kakiuchi T, Domino EF. Chronic NMDA antagonism impairs working memory, decreases extracellular dopamine, and increases D1 receptor binding in prefrontal cortex of conscious monkeys. *Neuropsychopharmacology*, 2005;30(10): 1861-1869.
60. Wang J, Chen Y, Carlson S, Li L, Hu X, Ma Y. Interactive effects of morphine and scopolamine, MK-801, propranolol on spatial working memory in rhesus monkeys. *Neuroscience Letters*, 2012;523(2): 119-124.
61. Tsukada H, Miyasato K, Nishiyama S, Fukumoto D, Kakiuchi T, Domino EF. Nicotine normalizes increased prefrontal cortical dopamine D1 receptor binding and decreased working memory performance produced by repeated pretreatment with MK-

801: A PET study in conscious monkeys. *Neuropsychopharmacology*, 2005;30(12): 2144-2153.

62. Harder JA, Aboobaker AA, Hodgetts TC, Ridley RM. Learning impairments induced by glutamate blockade using dizocilpine (MK-801) in monkeys. *British Journal of Pharmacology*, 1998;125(5): 1013-1018.

63. Micallef J, Tardieu S, Gentile S. Évaluation psychocomportementale de l'administration de faible dose de kétamine chez le sujet sain. *Neurophysiologie Clinique*, 2003;33: 138-47.

64. Silva FCC, Dantas RT, Citó MCO, Silva MIG, Vasconcelos SMM, Fonteles MMF, Viana GSB, Sousa FCF. Ketamina, da anestesia ao uso abusivo: artigo de revisão. *Revista Neurociência*, 2010;18(2): 227-237.

65. Smith KM, Larive LL, Romanelli F. Club drugs: methylenedioxymethamphetamine, flunitrazepam, ketamine, hydrochloride and  $\gamma$ -hydroxybutyrate. *American Journal of Health-System Pharmacy*, 2002;59(11):1067-76.

66. Adler CM, Malhotra AK, Elman I, Goldberg T, Egan M, Pickar D, Breier A. Comparison of ketamine-induced thought disorder in healthy volunteers and thought disorder in schizophrenia. *The American Journal Psychiatry*, 1999;156(10):1646-9.

67. Langsjo JW, Salmi E, Kaisti KK, Aalto S, Hinkka S, Aantaa R, Oikonen V, Vijanen T, Kurki T, Silvanto M, Scheinin H. Effects of subanesthetic ketamine on regional cerebral glucose metabolism in humans. *Anesthesiology*, 2004; 100(5): 1065-71.

68. Zheng P, Zhang XX, Bunney BS, Shi WX. Opposite modulation of cortical N-methyl-D-aspartate receptor-mediated responses by low and high concentrations of dopamine. *Neuroscience*, 1999;91(2): 527-35.

69. Shigii Y, Casey DE. Effects of benztropine on ketamine-induced behaviours in Cebus monkeys. *Behavioural Pharmacology*, 2001;12(4): 293-298.

70. Shiigi Y, Casey DE. Behavioural effects of ketamine, an NMDA glutamatergic antagonist, in non-human primates. *Psychopharmacology*, 1999;146(1): 67-72.
71. Ma L, Skoblenick K, Johnston K, Everling S. Ketamine alters lateral prefrontal oscillations in a rule-based working memory task. *The Journal of Neuroscience*, 2018;38(10): 2482-2494.
72. Salazar RF, Dotson NM, Bressler SL, Gray CM. Content-specific fronto-parietal synchronization during visual working memory. *Science*, 2012; 338(6110):1097-1100.
73. Gopinath K, Matbie E, Urushino N, Kempf D, Howell L. Ketamine-induced changes in connectivity of functional brain networks in awake female nonhuman primates: a translational functional imaging model. *Psychopharmacology*, 2016;233(21-22): 3673-3684.
74. Slovic M, Rosin B, Moshel S, Mitelman R, Schechtman E, Eitan R, Raz A, Bergman H. Ketamine induced converged synchronous gamma oscillations in the cortico-basal ganglia network of nonhuman primates. *Journal of Neurophysiology*, 2017;118(2): 917-931.
75. Kusi M, Brooks G, Noakes J, Hasekiu E, Gonzalez JEI. Modeling schizophrenia's abnormal cortical neural synchrony in monkeys. *The Journal of Neuroscience*, 2018;38(34): 7375-7377.
76. Kotani M, Enomoto T, Murai T, Nakako T, Iwamura Y, Kiyoshi A, Matsumoto K, Matsumoto A, Ikejiri M, Nakayama T, Ogi Y, Ikeda K. The atypical antipsychotic blonanserin reverses (+)-PD-128907- and ketamine-induced deficit in executive function in common marmosets. *Behavioural Brain Research*, 2016;305: 212-217.
77. Glezer, V. D. *Vision and Mind: Modeling Mental Functions*. Mahwah, NJ: Erlbaum Associates; 1995.
78. Armstrong, D. M. *La percepción y el mundo físico*. Ed. Tecnos, Madrid; 1966.

79. Miller, D. *Creating visual stories and illusions around the retinal image*. The wisdom of the eye. 1st ed. Elsevier; 2000.
80. Edwards KR, Brosvic M, Dihoff RE. Influences of academic training and nonacademic experience on susceptibility to the horizontal-vertical illusion. *Bulletim of the Psychonomic Society*, 1993;31(5): 465-467.
81. Mamassian P, Montalembert M. A simple model of the vertical-horizontal illusion. *Vision Research*, 2010;50(10): 956-962.
82. Axelrod V, Schwarzkopf DS, Gilaie-Dotan S, Rees G. Perceptual similarity and the neural correlates of geometrical illusions in human brain structure. *Scientific Reports*, 2017;7(39968): 1-16.
83. Dominguez, K. E. A study of visual illusion in the monkey. *Journal of Genetic Psychology*, 1954;85(1): 105-127.
84. Spehar B, Gillam B. Modal Completion in the Poggendorff Illusion: Support for the Depth-Processing Theory. *Psychological Science*, 2002;13(4): 306-312.
85. Zöllner, F. Ueber eine neue Art von Pseudoskopie und ihre Beziehungen zu den von Plateau und Oppel beschriebenen Bewegungsphänomenen. *Annalen der Physik*, Germany, 1860;186(7): 500-523.
86. Melmoth DR, Marc S, Tibber SG, Morgan MJ. The Poggendorff illusion affects manual pointing as well as perceptual judgements. *Neuropsychologia*, 2009;47(14):3217-3224.
87. Morgan, M. J. The Poggendorff illusion: a bias in the estimation of the orientation of virtual lines by second-stage filters. *Vision Research*, 1999;39(14): 2362-2380.

88. Pressey AW, Bayer CA, Kelm H. The Poggendorff illusion in schizophrenic patients. *Schizophrenia*, 1969;1: 88-94.
89. Letourneau JE, Lavoie G. The Poggendorff illusion among paranoid and simple schizophrenic patients. *American Journal of Optometry and Archives of American Academy of Optometry*, 1973;50(12): 944-948.
90. Ciszewski S, Wichowicz HM, Zuk K. Perception of physiological visual illusions by individuals with schizophrenia. *Psychiatria polska*, 2015;49(2): 325-336.
91. Kantrowitz JT, Butler PD, Schechter I, Silipo G, Javitt DC. Seeing the Word Dimly: The Impact of Early Visual Deficits on Visual Experience in Schizophrenia. *Schizophrenia Bulletin*, 2009;35(6): 1085-1094.
92. Suganuma E, Pessoa VF, Monge-Fuentes V, Magalhães Castro B, Henrique Tavares MC. Perception of the Müller-Lyer illusion in capuchin monkeys. *Behavioural Brain Research*, 2007;182(1): 67-72.
93. Pessoa VF, Monge-Fuentes V, Simon CY, Suganuma E, Henrique Tavares, MC. The Müller-Lyer illusion as a tool for schizophrenia screening. *Reviews in Neuroscience*, 2008;19(3): 91-100.
94. Gregory, R. L. Visual illusions classified. *Trends in cognitive sciences*, 1997;1(5): 190-194.
95. Weidner R, Fink GR. The neural mechanisms underlying the Müller-Lyer illusion and its visuospatial judgments. *Cerebral Cortex*, 2007;17(4): 878-884.
96. Weidner R, Boers F, Mathiak K, Dammers J, Fink GR. The temporal dynamics of the Müller-Lyer illusion. *Cerebral Cortex*, 2010;20(7): 1586-1595.
97. Parnas J, Vianin P, Saebye D, Jansson L, Volmer-Larsen A, Bovet P. Visual binding abilities in the initial and advanced stages of schizophrenia. *Acta Psychiatrica Scandinavica*, 2001;103(3): 171-180.

98. Janson CH, Boinski S. Morphological and behavioral adaptations for foraging in generalist primates: the case of the cebines. *American Journal of Physical and Anthropology*, 1992;88(4): 483-498.
99. Chapman CA, Fedigan LM. Dietary differences between neighboring *Cebus capucinus* groups: local traditions, food availability or responses to food profitability? *Folia Primatologica*, 1990;54(3-4): 177-86.
100. Canale GR, de Freitas MA, Andrade LL. Predation of lizards by a critically-endangered primate (*Sapajus xanthosternos*) in a tropical biodiversity hotspot in Brazil. *Herpetology Notes*, 2013;6(1): 323-6.
101. Visalberghi E, Limongelli L. Lack of comprehension of cause-effect relations in tool-using capuchin monkey (*Cebus apella*). *Journal of Comparative Psychology*, 1994;108(1): 15-22.
102. Tavares MCH, Tomaz C. Working memory in capuchin monkeys (*Cebus apella*). *Behavioural Brain Research*, 2002;131(1-2): 131-137.
103. Maior RS, Hori E, Barros M, Teixeira DS, Tavares MCH, Ono T, Nishijo H, Tomaz C. Superior colliculus lesions impair threat responsiveness in infant capuchin monkeys. *Neuroscience Letters*, 2011;504(3): 257-260.
104. De Waal FB, Berger ML. Payment for labour in monkeys: Capuchins will voluntarily share with other monkeys that helped to secure them. *Nature*, 2000;404(6778): 563.
105. Jerison, H. J. *Evolution of brain and intelligence*, New York, Academic Press, 1973.
106. Fragaszy, D. M., Visalberghi, E. and Fedigan, L. M. *The complete capuchin: the biology of the genus Cebus*. 1a ed. Cambridge: Cambridge University Press; 2004.

107. Gomes UR, Pessoa DMA, Suganuma E, Tomaz C, Pessoa VF. Influence of stimuli size on color discrimination in capuchin monkey. *American Journal of Primatology*, 2005;67(4): 437-446.
108. Nakako T, Murai T, Ikejiri M, Hashimoto T, Kotani M, Matsumoto K, Manabe S, Ogi Y, Konoike N, Nakamura K, Ikeda K. Effects of lurasidone on ketamine-induced joint visual attention dysfunction as a possible disease model of autism spectrum disorders in common marmosets. *Behavioural Brain Research*, 2014;274: 349-54.
109. Taffe MA, Davis SA, Gutierrez T, Gold LH. Ketamine impairs multiple cognitive domains in Rhesus monkeys. *Drug Alcohol Dependence*, 2002;68(2): 175-187.
110. Crosland HR, Taylor HR, Newsom SJ. Intelligence and susceptibility to the Muller-Lyer illusion. *Journal Experimental Psychology*, 1927;10(1): 40-51.
111. Hartmann GW, Friche A. Differential susceptibility of children and adults to standard illusions. *Journal of Genetic Psychology*, 1933(2);42: 493-498.
112. Brosvic GM, Dihoff RE, Fama J. Age-relates susceptibility to the Müller-Lyer and the horizontal-vertical illusions. *Perceptual and Motor Skills*, 2002;94(1): 229-234.
113. Warden CJ, Baar J. The Müller-Lyer illusion in the ring dove, *Turtur risorius*. *Journal of Comparative Psychology*, 1929;9(4): 275-292.
114. Sovrano VA, da Pos O, Albertazzi L. The Müller-Lyer illusion in the teleost fish *Xenotoca eiseni*. *Animal Cognition*, 2016;19(1):123-132.
115. Pepperberg IM, Vicinay J, Cavanagh P. Processing of the Müller-Lyer illusion by a Grey parrot (*Psittacus erithacus*). *Perception*, 2008;37: 765-781.
116. Keep B, Zulch HE, Wilkinson A. Truth is in the eye of the beholder: Perception of the Müller-Lyer illusion in dogs. *Learning and Behavior*, 2018;46: 501-512.

117. Weckowicz TE, Blewett DB. Size constancy and abstract thinking in schizophrenic patients. *Journal of Mental Science*, 1959;105(441): 909-34.
118. Schulz B, Fendt M, Pedersen V, Koch M. Sensitization of prepulse inhibition deficits by repeated administration of dizocilpine. *Psychopharmacology*, 2001;156(2-3): 177-181.
119. Gomes FV, Issy AC, Ferreira FR, Viveros MP, Del Bel EA, Guimaraes FS. Cannabidiol attenuates sensorimotor gating disruption and molecular changes induced by chronic antagonism of NMDA receptors in mice. *Internacional Journal of Neuropsychopharmacology*, 2014;18(5): 1-10.
120. Adell A, Jiménez-Sánchez L, López-Gil X, Romón T. Is the acute NMDA receptor hypofunction a valid model of schizophrenia? *Schizophrenia Bulletin*, 2012;38(1):9-14.
121. Bubeníková-Valesová V, Horáčěk J, Vrajová M, Höschl C. Models of schizophrenia in humans and animals based on inhibition of NMDA Receptors. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 2008;32(5): 1014-1023.
122. Bey T, Patel A. Phencyclidine Intoxication and Adverse Effects: A clinical and pharmacological review of an illicit drug. *The California Journal of Emergency Medicine*, 2007;8(1): 9-14.
123. Deutsch SI, Rosse RB, Schwartz BL, Mastropaolo J. A revised excitotoxic hypothesis of schizophrenia: therapeutic implications. *Clinical Neuropharmacology*, 2001;24(1): 43-9.
124. Miyamoto S, Mailman RB, Lieberman JA, Duncan GE. Blunted brain metabolic response to ketamine in mice lacking D(1A) dopamine receptors. *Brain Research*, 2001;894(2): 167-180.
125. Duncan GE, Miyamoto S, Leipzig JN, Lieberman JA. Comparison of the effects of clozapine, risperidone, and olanzapine on ketamine-induced alterations in regional

brain metabolism. *The Journal Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 2000;293(1): 8-14.

126. Lahti AC, Koffel B, Laporte D, Laporte D, Tamminga CA. Subanesthetic doses of ketamine stimulate psychosis in schizophrenia. *Neuropsychopharmacology*, 1995;13(1): 9-19.

127. Duncan EJ, Madonick SH, Parwani A, Angrist B, Rajan R, Chakravorty S, Efferen TR, Szilagyi S, Stephanides M, Chappel PB, Gonzenbach S, Ko GN, Rotrosen JP. Clinical and sensorimotor gating effects of ketamine in normals. *Neuropsychopharmacol*, 2001;25(1): 72-83.

128. Umbricht D, Schmid L, Koller R, Vollenweider FX, Hell D, Javitt DC. Ketamine-induced deficits in auditory and visual cortex-dependent processing in healthy volunteers: implications for models of cognitive deficits in schizophrenia. *Archives of General Psychiatry*, 2000;57(12): 1139-47.

129. Morgan HL, Turner DC, Corlett PR, Absalom AR, Adapa R, Arana FS, Pigott J, Gardner J, Everitt J, Haggard P, Fletcher PC. Exploring the Impact of Ketamine on the Experience of Illusory Body Ownership. *Biological Psychiatry*, 2011;69(1): 35-41.

130. Nakako T, Murai T, Ikejiri M, Ishiyama T, Taiji M, Ikeda K. Effects of a dopamine D1 agonist on ketamine-induced spatial working memory dysfunction in common marmosets. *Behavioural Brain Research*, 2013;249: 109-115.

131. Tudusciuc O, Nieder A. Comparison of length judgments and the Müller-Lyer illusion in monkeys and humans. *Experimental Brain Research*, 2010;207(3-4): 221-231.



## ANEXO A – APROVAÇÃO DO CEUA – IB/UnB



**Universidade de Brasília**  
 Instituto de Ciências Biológicas  
 Comissão de Ética no Uso Animal

Brasília, 15 de abril de 2019.

### DECLARAÇÃO

Declaramos que o projeto intitulado “**AVALIAÇÃO DE FÁRMACOS ANTIPSICÓTICOS NO MODELO DE ESQUIZOFRENIA BASEADO NA ILUSÃO DE MÜLLERLYER EM PRIMATAS NÃO-HUMANOS (SAPAJUS SPP.)**”. Protocolo n.º 34/2019, sob responsabilidade do Professor Rafael Plakoudi Souto Maior foi avaliado e aprovado pela Comissão de Ética no Uso Animal (CEUA) da Universidade de Brasília. Este projeto foi aprovado para utilização de: *Sapajus ssp* (4 machos e 4 fêmeas). A presente aprovação é válida pelo período de: 28/04/2019 a 28/04/2021.



Prof. Dr. Cássio José da Silva  
 Coordenador da CEUA – UnB



\*Este documento se restringe à avaliação ética do projeto supracitado e não substitui outras licenças e permissões que porventura se façam necessárias.