



Universidade de Brasília
Faculdade de Saúde
Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde

**Caracterização eletrofisiológica de neurônios do córtex pré-frontal
e hipocampo sob bloqueio farmacológico de receptor NMDA**

MARIANA BICALHO MAIA CORREIA

Brasília
2023



Universidade de Brasília
Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde

**Caracterização eletrofisiológica de neurônios do córtex pré-frontal
e hipocampo sob bloqueio farmacológico de receptor NMDA**

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
2023

AGRADECIMENTOS

Agradeço aos meus pais, Elaine e Denison, e meus irmãos, Ádon e Clara, pelo apoio durante toda esta etapa da minha trajetória acadêmica. Não teria chegado até aqui sem todo o esforço que vocês fizeram para que eu pudesse superar os obstáculos no caminho e alcançar meus objetivos. Ao João, pela compreensão, carinho e por ser bom porto durante esse período.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Rafael Maior, pela dedicação, confiança e amizade ao longo de todos esses anos. Seus ensinamentos, visão crítica e experiência me guiaram brilhantemente e têm contribuição inestimável na minha formação como pesquisadora. Ao Prof. Dr. Fábio Caixeta, pelo apoio, amizade e por toda a assistência no delineamento, coleta e análise dos dados. Estendo também meus agradecimentos à Prof. Dra. Márcia Mortari que disponibilizou seu equipamento, laboratório e conhecimento para que eu pudesse ser treinada nas técnicas utilizadas neste estudo.

Ao Pedro Cordeiro, que esteve comigo nas horas difíceis e felizes do mestrado. Sem você esta pesquisa não seria possível. À Helena Schuch, que se tornou uma grande amiga e me ensinou com tanta paciência e zelo todos os processos para a aplicação do estudo. À Beatriz Monferrari e Camila Acero, que tanto me ajudaram no experimento, mas que também me deram todo o suporte emocional durante esse período e vibraram a cada conquista. À Juliana Lis, pelo acolhimento caloroso e prontidão para sempre me ajudar onde me faltava experiência. Vocês todos foram peças fundamentais no desenvolvimento desta pesquisa(dora).

À Dra. Carina Krewer, que muito solícitamente me deu suporte nos procedimentos e protocolos cirúrgicos.

Aos queridos alunos André Teixeira, Maria Clara Oliveira e Giovanna Fernandes, que me auxiliaram em diversas etapas dos experimentos.

À Aline Caron, Lorena Rocha, Luana Alves e Nathalia Lima, que compartilharam comigo as delícias e crises da vida acadêmica.

Ao laboratório de Micologia da Universidade de Brasília, por disponibilizarem o uso de equipamentos e materiais indispensáveis para as análises histológicas.

Ao Programa de Pós-Graduação de Ciências da Saúde, pela oportunidade de me formar em uma Universidade de excelência.

À FAP/DF, CAPES e DGP/UnB, pelo apoio financeiro.

RESUMO

A esquizofrenia é um distúrbio que acomete aproximadamente 1% da população mundial, e sua manifestação heterogênea de sintomas incluem episódios psicóticos, delírios, alucinações, apatia, anedonia, além de déficits cognitivos nos domínios de memória, controle executivo e linguagem. O desenvolvimento da esquizofrenia é o resultado de interações cumulativas entre variados fatores de risco genéticos e ambientais, o que dificulta os esforços para entender sua fisiopatologia. Alterações na neurotransmissão de dopamina, glutamato e ácido gama-aminobutírico (GABA) constituem a base de distúrbios fisiológicas em pacientes com esquizofrenia. Testes farmacológicos realizados com antagonistas do receptor N-metil-D-aspartato (NMDAr) resultaram na hipótese de que a hipofunção de receptores NMDA em interneurônios GABAérgicos dariam origem aos sintomas apresentados. Essa hipótese tem possibilitado a compreensão dos microcircuitos corticais na esquizofrenia, e a identificação de biomarcadores do distúrbio. Dado o envolvimento de oscilações neurais na execução de tarefas cognitivas e a correlação entre a deficiência de conectividade cerebral e os prejuízos apresentados por pacientes e em modelos animais deste transtorno, faz-se mister a caracterização dos padrões de atividade neural oscilatória para a melhoria do diagnóstico e tratamento da esquizofrenia. O presente estudo se propôs a estabelecer em nosso laboratório um protocolo cirúrgico de implante crônico de eletrodos intracerebrais de profundidade e coleta de dados eletrofisiológicos. Foram examinados os registros do potencial de campo local no córtex pré-frontal e hipocampo de 10 ratos Wistar sob o efeito sistêmico de quetamina (QUET; 25 mg/kg; i.p.) e dizocilpina (MK-801; 0,1 mg/kg; i.p.), juntamente com o comportamento locomotor. A QUET aumentou a distância percorrida pelos animais no Campo Aberto e o poder relativo das bandas gama e teta no hipocampo e córtex pré-frontal. A dose de MK-801 não foi suficiente para alterar o padrão de locomoção e tampouco oscilações nas frequências avaliadas. Os dados encontrados reforçam a associação entre modelos de bloqueio farmacológico de receptor NMDA e alterações comportamentais e na atividade elétrica cerebral.

Palavras-chave: NMDAr; quetamina; MK-801; potencial de campo local; oscilações neurais.

ABSTRACT

Schizophrenia is a disorder that affects approximately 1% of the world population, and its heterogeneous manifestation of symptoms includes psychotic episodes, delusions, hallucinations, apathy, anhedonia, and cognitive deficits in memory, executive control, and language. The development of schizophrenia is the result of cumulative interactions between various genetic and environmental risk factors, which complicates efforts to understand its pathophysiology. Neurotransmitters such as dopamine, glutamate, and gamma-aminobutyric acid (GABA) are known to induce physiological abnormalities in patients with schizophrenia. Pharmacological tests performed with N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptor antagonists resulted in the hypothesis that hypofunction of NMDA receptors on GABAergic interneurons would give rise to the symptoms presented. This hypothesis has enabled the understanding of cortical microcircuitry in schizophrenia, and the identification of biomarkers of the disorder. Given the involvement of neural oscillations in the execution of cognitive tasks and the correlation between impaired brain connectivity and the impairments presented by patients and in animal models of this disorder, it is necessary to characterize the patterns of oscillatory neural activity to improve the diagnosis and treatment of schizophrenia. The present study established in our laboratory a surgical protocol for chronic implantation of deep intracerebral electrodes and collection of electrophysiological data. Local field potential recordings were examined in the prefrontal cortex and hippocampus of 10 Wistar rats under the systemic effect of ketamine (KET; 25 mg/kg; i.p.) and dizocilpine (MK-801; 0.1 mg/kg; i.p.), along with locomotor behavior. KET increased the distance the animals traveled in the Open Field and the relative power of gamma and theta bands in the hippocampus and prefrontal cortex. The dose of MK-801 was not enough to alter the locomotion pattern or oscillations in the frequencies evaluated. Results found here underscore the association between pharmacological blockade models of NMDA receptor and behavioral changes and brain electrical activity.

Keywords: NMDAR; ketamine; MK-801; local field potential; neural oscillations.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

| | |
|----------------|---|
| ASC | Área Sob a Curva |
| ATV | Área Tegmentar Ventral |
| AU | Unidade Arbitrária |
| CA | Campo Aberto |
| CEUA | Comissão de Ética no Uso Animal |
| CONCEA | Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal |
| CPF | Córtex pré-frontal |
| DA | Dopamina |
| DSM-5 | Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais |
| E/I | Excitatório/Inibitório |
| ECoG | Eletrocorticograma |
| EEG | Eletroencefalograma |
| GABA | Ácido gama-aminobutírico |
| GAD | Ácido glutâmico descarboxilase |
| GAT-1 | Transportadores de GABA tipo 1 |
| GND+Ref | Aterramento+Referência |
| HFO | <i>High Frequency Oscillation</i> |
| i.p. | Intraperitoneal |
| I/I | Inibitório/Inibitório |
| IB | Instituto de Ciências Biológicas |
| LFP | <i>Local Field Potential</i> |
| MK-801 | Dizocilpina |
| NMDAr | Receptor de glutamato N-metil-D-aspartato |
| PCP | Fenciclidina |
| PV+ | Interneurônios GABAérgicos expressantes de parvalbumina |
| QUET | Quetamina |
| s.c. | Subcutânea |
| UnB | Universidade de Brasília |

SUMÁRIO

| | |
|--|----|
| 1. Introdução | 10 |
| 1.1 Esquizofrenia | 10 |
| 1.2 Hipóteses fisiopatológicas da esquizofrenia | 11 |
| 1.2.1 Hipótese dopaminérgica | 11 |
| 1.2.2 Hipótese GABAérgica | 13 |
| 1.2.3 Hipótese glutamatérgica | 15 |
| 1.2.4 Síntese das hipóteses dopaminérgica, GABAérgica e glutamatérgica .. | 16 |
| 1.3 Bloqueio farmacológico de receptores do tipo NMDA | 18 |
| 1.3.1 Validade dos modelos via antagonismo de NDMAr | 20 |
| 1.4 Oscilações neurais e processamento cognitivo | 20 |
| 1.5 Local Field Potential (LFP) | 22 |
| 1.6 Oscilações e cognição na esquizofrenia | 23 |
| 2. Objetivos | 26 |
| 3. Metodologia | 27 |
| 3.1 Aspectos éticos | 27 |
| 3.2 Sujeitos experimentais | 27 |
| 3.3 Procedimentos cirúrgicos | 27 |
| 3.4 Procedimentos experimentais | 30 |
| 3.5 Registro eletrofisiológico | 31 |
| 3.6 Análise dos dados | 32 |
| 3.7 Análise histológica | 32 |
| 3.8 Análise estatística | 33 |
| 4. Resultados | 34 |
| 4.1 Verificação dos alvos corticais | 34 |
| 4.2 A administração de 20mg/kg de quetamina, mas não 0,1mg/kg de MK-801, induziu hiperlocomoção | 34 |
| 4.3 A administração de 20mg/kg de quetamina aumentou o poder de gama e teta | 36 |
| 4.4 A administração de 0,1mg/kg MK-801 não teve efeito no poder de gama e teta | 37 |

| | |
|---|----|
| 4.5 QUET (20 mg/kg) e MK-801 (0,1 mg/kg) tiveram efeito pouco robusto no poder de HFO | 38 |
| 5. Discussão | 40 |
| 5.1 Efeitos da quetamina | 41 |
| 5.2 Efeitos da dizocilpina | 43 |
| 6. Considerações finais | 45 |
| 7. Referências bibliográficas | 46 |
| ANEXO 1 - Certificado de Aprovação pela Comissão de Ética no Uso Animal .. | 60 |
| APÊNDICE A - Script de análise dos dados eletrofisiológicos (MATLAB) | 61 |
| APÊNDICE B - Verificação histológica dos alvos corticais | 74 |

1 INTRODUÇÃO

1.1 Esquizofrenia

O termo “esquizofrenia” (do grego, “mente fendida”) foi cunhado ainda no século XIX por Eugen Bleuler (1857-1939), na tentativa de descrever um grupo de doenças de base neural que apresentavam um grupo de sintomas básicos comuns — como perturbações do pensamento, incongruência afetiva e afastamento da realidade — e sintomas complementares, tais como alucinações e delírios (JABLENSKI, 2010). A variedade de sinais e sintomas na esquizofrenia, bem como o requisito da presença de no mínimo dois de cinco sintomas para o diagnóstico segundo o Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais (DSM-5), reforçam a patologia como um transtorno de apresentação variável (APA, 2014).

A esquizofrenia se manifesta por sintomas de alterações de percepção e de funções cognitivas que são categorizados em sintomas positivos, negativos e déficits cognitivos. Apesar de muito variados, nenhum deles pode ser considerado patognomônico. Os sintomas positivos refletem um comportamento distintivamente alterado com episódios psicóticos, incapacitando o paciente de distinguir percepções reais de alucinações, além de provocar pensamentos e memória desordenados. Ao invés de episódios psicóticos, os sintomas negativos incluem retração social, apatia, anedonia e afasia. Ambos tipos de sintomas se relacionam e afetam os sistemas cognitivos, tais como linguagem, percepção sensorial e expressão emocional (ANDREASEN; OLSEN, 1982; ANDREASEN, 1995).

A validação nosológica do transtorno é de extrema importância, uma vez que atinge aproximadamente 1% da população mundial e afeta as diferentes culturas na mesma frequência (ANDREASEN, 1995; POLIMENI; REISS, 2003; PERÄLÄ et al., 2007). Possui um impacto social forte sobre os pacientes, afetando sua autonomia e capacidade mental desde o início do transtorno e apresenta mortalidade por suicídio em 10% dos acometidos. Ainda que sua manifestação seja heterogênea, grande parte dos pacientes são incapazes de trabalhar e manter atividades que exijam volição (ANDREASEN, 1995; LEWIS; LIEBERMAN, 2000).

Evidências sugerem que parte da origem da esquizofrenia se dê no neurodesenvolvimento, sendo o encéfalo passível de disfunções estruturais até sua maturação ao final da adolescência, momento em que as primeiras manifestações comportamentais da psicose ocorrem (LARSON; WALKER; COMPTON, 2010). Tais

manifestações parecem ser resultante tanto de anormalidades internas em diferentes regiões, mas também de circuitos corticais e subcorticais que se mostram deficientes (FIELD; WALKER; CONN, 2011).

Foram identificados mais de 100 *loci* gênicos de risco para esquizofrenia, o que reforça a arquitetura poligênica do distúrbio. No entanto, cada *locus* contribui apenas de forma limitada aos efeitos da esquizofrenia (RIPKE et al., 2014; SRINIVASAN et al., 2016). Apesar do risco relativo de desenvolver a patologia se correlacionar positivamente com a quantidade de genes compartilhados, o fenótipo não é exclusivamente determinado pela genética, uma vez que gêmeos monozigóticos apresentam uma concordância de somente 48% de risco (TSUANG, 2000).

A etiologia do transtorno segue elusiva, uma vez que é um produto de interações cumulativas entre diversos fatores de risco (HOWES et al., 2004). Sendo assim, o desenvolvimento da esquizofrenia, bem como sua evolução clínica, são influenciados também por fatores ambientais. Intercorrências pré e perinatal, experiências emocionalmente traumáticas, *bullying*, imigração, infecções e variáveis biológicas e sociais na adolescência e início de vida adulta são alguns fatores estressores que sobrecarregam os circuitos neurais nos quais os genes de risco são expressos, gerando falhas no seu funcionamento (MESSIAS; CHEN; EATON, 2007; OWEN; SAWA; MORTENSEN, 2016; GUERRIN et al., 2021; STAHL, 2021).

1.2 Hipóteses farmacológicas da esquizofrenia

1.2.1 Hipótese dopaminérgica

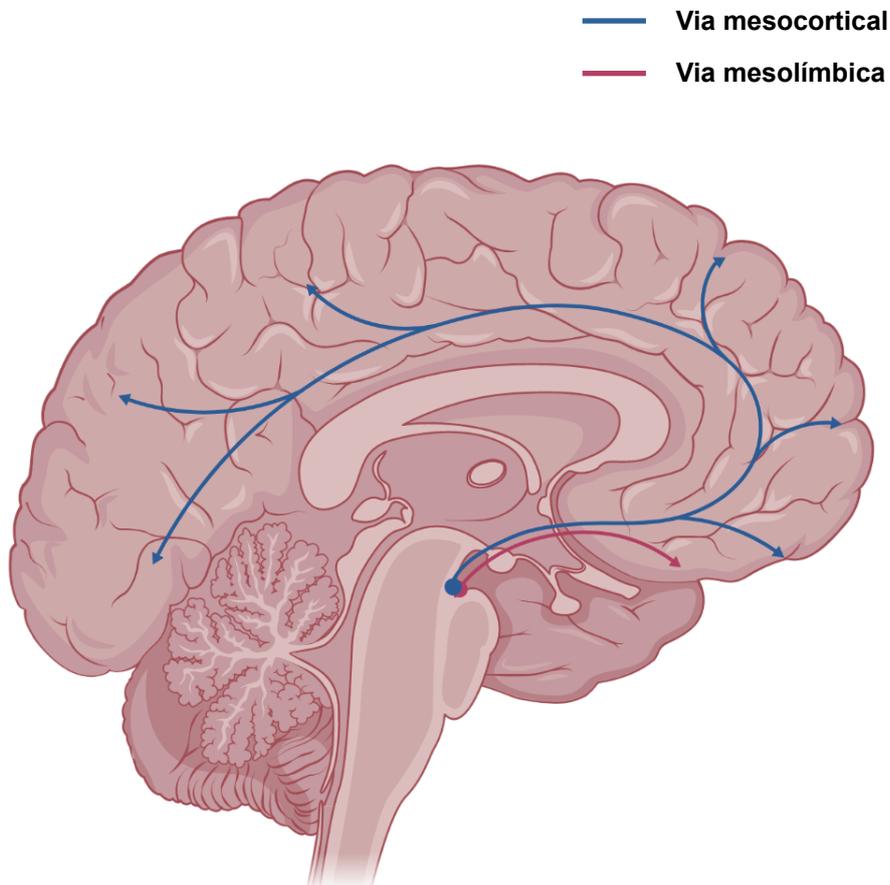
O primeiro modelo fisiopatológico do distúrbio foi sugerido com base na descoberta das propriedades antipsicóticas da clorpromazina, um antagonista de dopamina (DA), e nos comportamentos psicóticos induzidos pelos efeitos hiperdopaminérgicos da anfetamina, dando origem à hipótese dopaminérgica clássica da psicose e esquizofrenia. Fortemente reforçada ao longo dos últimos 50 anos, a hipótese foca isoladamente no excesso de transmissão de DA no encéfalo (HOWES; KAPUR, 2009; FERRARELLI, 2013; STAHL, 2021).

A ideia da hiperdopaminergia homogênea da hipótese original se mostrou inconsistente ao longo do tempo, e foi enfraquecida por evidências como a ineficácia do uso de neurolépticos em alguns pacientes, e também no tratamento dos sintomas negativos e cognitivos — sugerindo o envolvimento de outros sistemas na fisiopatologia

da esquizofrenia (HOWES; KAPUR, 2009; DAVIS et al., 1991; GUERRIN et al., 2021). Unindo dados de experimentos *post mortem*, análise de metabólitos e dados de imagem, Davis et al. (1991) sugeriram que a diferente distribuição dos receptores dopaminérgicos — D1, predominantemente corticais e D2, subcorticais — no encéfalo explicariam a disfunção dopaminérgica variada nas regiões do encéfalo.

A via dopaminérgica mesolímbica se projeta da área tegmentar ventral até o estriado, uma parte do sistema límbico do cérebro que se acredita estar envolvida em comportamento emocional, motivação e recompensa. De acordo com a hipótese dopaminérgica, o excesso de liberação de DA nesta região está associado aos sintomas positivos da psicose, enquanto a diminuição, aos sintomas negativos. A via dopaminérgica mesocortical, por sua vez, interliga a área tegmentar ventral às áreas do córtex pré-frontal (CPF), nas quais alterações na transmissão dopaminérgica podem mediar os sintomas negativos e cognitivos da esquizofrenia (Figura 1; STAHL, 2021).

Figura 1. Via dopaminérgica mesocortical (azul) e via dopaminérgica mesolímbica (vermelho), cujas atividades defeituosas foram relacionadas à sintomatologia da esquizofrenia. Fonte: Mariana B. M. Correia (Biorender).



Complementando e corrigindo a hipótese original, Davis e colaboradores (1991) propuseram que os sintomas positivos da esquizofrenia seriam decorrentes de um aumento na síntese pré-sináptica de DA e sua hiperfunção subcortical, mais especificamente em regiões dos núcleos da base, o que é coerente com os efeitos e mecanismo de ação de antipsicóticos. Por outro lado, os sintomas negativos seriam consequência de uma hipofunção dopaminérgica no CPF, hipótese corroborada por estudos em animais e humanos que, em situação de atividade anormal das regiões frontais, demonstraram comportamentos semelhantes a pacientes com esquizofrenia (DAVIS et al., 1991).

Portanto, acredita-se que sintomas positivos e negativos da esquizofrenia sejam consequência de alterações na atividade das vias dopaminérgicas mesolímbica e mesocortical, respectivamente (BRISCH et al., 2014; STAHL, 2021). Todavia, a hipótese dopaminérgica não explica inteiramente os comportamentos associados aos três tipos de sintomas esquizotípicos, tampouco especifica os mecanismos moleculares subjacentes à transmissão disfuncional encontrada nos pacientes (HOWES; KAPUR, 2009; FIELD; WALKER; CONN, 2011; KANTROWITZ; JAVITT, 2010). Novas hipóteses alternativas articulam a desregulação originada em outros sistemas, culminando no déficit dopaminérgico.

1.2.2 Hipótese GABAérgica

Diversas argumentações sobre o envolvimento de uma transmissão de ácido gama-aminobutírico (GABA) alterada na etiologia dos sintomas da esquizofrenia se deram a partir dos achados de Perry et al. (1979) e Bird (1985) que, respectivamente, encontraram baixa concentração cortical de GABA e da enzima limitante ácido glutâmico descarboxilase (GAD) em pacientes (NAKAZAWA et al., 2012).

Parte da sinalização GABAérgica é regulada pela atividade da GAD67, uma enzima responsável por mais de 90% da síntese do neurotransmissor (LEWIS et al., 2012; LAZARUS; KRISHNAN; HUANG, 2015). Dados *post mortem* de pacientes com esquizofrenia revelaram redução, não apenas na densidade de neurônios GABAérgicos que expressam GAD67, mas também de interneurônios GABAérgicos, nas regiões hipocámpais e pré-frontais (LEWIS et al., 2012; DE JONGE et al., 2017; KAAR et al., 2019; GUERRIN et al., 2021). Uma vez que a variabilidade na expressão de GAD67 em pacientes não se correlaciona com severidade, duração ou agentes preditores da

esquizofrenia, é possível que seja uma característica componente, e não consequente, do desenvolvimento da patologia (LEWIS et al., 2012).

Apesar da variedade de classes de neurônios GABAérgicos, 50% dos interneurônios GABAérgicos expressam parvalbumina (PV⁺), uma proteína ligante de cálcio. O grupo de neurônios GABAérgicos cuja quantidade de GAD67 não é detectada inclui 50% dos neurônios PV⁺, sugerindo a seleção de PV⁺ na expressão reduzida de GAD67 (DE JONGE et al., 2017; NAHAR; DELACROIX; NAM, 2021). Além de GAD67, transportadores de GABA tipo 1 (GAT-1) — responsáveis pela recaptação do neurotransmissor após a atividade sináptica — também têm níveis reduzidos de transcrição em neurônios PV⁺ na esquizofrenia. A redução da síntese GABAérgica e da recaptação de GABA tendem a diminuir e aumentar, respectivamente, a atividade sináptica inibitória (LEWIS; HASHIMOTO; VOLK, 2005; DE JONGE et al., 2017).

A fim de determinar se a alteração nas regiões corticais se dá pela redução da síntese GABAérgica ou pela inibição excessiva resultante dos níveis deficientes de GAT-1, estudos demonstraram que subunidades $\alpha 2$ em receptores GABA_A são expressas de maneira inversamente proporcional ao GAT-1 em regiões do CPF (e.g., VOLK et al., 2002). Uma vez que camundongos com o gene de GAT-1 nocauteado não apresentam alterações em GAD67 (JENSEN et al., 2003), é provável que o déficit na expressão de GAD67 seja anterior às alterações em receptores GABA_A e GAT-1 (LEWIS; HASHIMOTO; VOLK, 2005).

No córtex, o balanço da atividade excitatória de neurônios glutamatérgicos piramidais se dá pela ativação de interneurônios GABAérgicos. Diversos estudos têm fornecido evidências de que a disfunção na inibição realizada por interneurônios PV⁺ em regiões corticais está relacionada a déficits cognitivos observados na esquizofrenia (revisado em GONZALEZ-BURGOS; LEWIS, 2008; 2012; revisado em DE JONGE et al., 2017; revisado em NAHAR; DELACROIX; NAM, 2021).

A hipótese GABAérgica não exclui as alterações propostas pela hipótese dopaminérgica original: é possível que, por um problema de regulação na atividade de neurotransmissão, o déficit de inibição por parte de interneurônios GABAérgicos seja responsável pelo aumento de DA (REYNOLDS; NEILL, 2016; REYNOLDS, 2022). Os achados de Reynolds (1983) e Reynolds, Czudek e Andrews (1990) corroboram essa possibilidade ao demonstrarem um déficit assimétrico na atividade de sinapses GABAérgicas no hipocampo correlacionado ao aumento, também unilateral, de liberação de DA na amígdala (REYNOLDS, 1983; REYNOLDS; CZUDEK; ANDREWS, 1990).

1.2.3 Hipótese glutamatérgica

O envolvimento do glutamato nos sintomas esquizotípicos foi sugerido pela primeira vez após um estudo no qual a concentração de glutamato no líquido cefalorraquidiano estava praticamente reduzida pela metade em pacientes diagnosticados com esquizofrenia, em relação aos voluntários saudáveis (KIM et al., 1980). A hipótese de que a hipofunção do glutamato — causada por déficits de transmissão em seus receptores — estaria fortemente relacionada à sintomatologia da esquizofrenia começou a ser mais analisada e corroborada a partir de evidências que provêm de testes utilizando fenciclidina (PCP) e quetamina (QUET), ambos antagonistas do receptor de glutamato N-metil-D-aspartato (NMDAr) (JAVITT; ZUKIN, 1991; KRYSTAL et al., 1994; LAHTI et al., 1995).

De la Fuente-Sandoval et al. (2011) relataram níveis mais altos de glutamato no núcleo caudado de pacientes prodrômicos e de primeira admissão sem medicação. Por outro lado, pacientes crônicos e pacientes com distúrbios esquizoafetivos apresentam níveis reduzidos ou similares de glutamato nesse núcleo, em comparação com voluntários saudáveis (THÉBERGE et al., 2003; LUTKENHOFF et al., 2008). Assim, um aumento na liberação de glutamato pode ser um processo neurotóxico que ocorre caracteristicamente em pacientes prodrômicos e em estágios iniciais (LATHI; REID, 2011).

Também foi constatado que cérebros de pacientes apresentam reduzida concentração de receptores glutamatérgicos (PILOWSKY et al., 2006). O aumento da atividade pré-frontal possivelmente ocorre porque a PCP, a QUET e a MK-801 bloqueiam preferencialmente NMDAr localizados em neurônios GABAérgicos do circuito corticolímbico, o que prejudica a inibição cortical e conseqüentemente desinibe os neurônios glutamatérgicos piramidais associados com intensa atividade neuronal (ADELL et al., 2012).

Trocas nas subunidades componentes dos NMDAr são realizadas durante as janelas de desenvolvimento encefálico, momento no qual ocorre a formação e maturação de circuitos neurais, deixando os receptores glutamatérgicos vulneráveis aos fatores de risco ambientais e genéticos (SNYDER; GAO, 2020). Esse dado é congruente com as evidências de que é necessária uma interação sinérgica entre fatores genéticos e celulares com estressores ambientais em janelas críticas para o desenvolvimento da esquizofrenia (GERRIN et al., 2021; REYNOLDS, 2022).

Apesar da ubiquidade do glutamato no sistema nervoso central, os NMDAr participam de processos específicos em cada região cerebral, que dependem especificamente das propriedades do receptor e.g. permeabilidade ao cálcio, voltagem-dependência, cinética. Desta maneira, a hipótese glutamatérgica como subsídio para déficits do distúrbio se baseia em processos que dependem de tais propriedades moleculares (KANTROWITZ; JAVITT, 2010).

Efetivamente, uma vez que a neurotransmissão glutamatérgica é crucial para mecanismos de neuroplasticidade, aprendizado, memória e demais processos cognitivos (HASSEL; DINGLEDINE, 2012), a hipofunção em NMDAr é congruente às disfunções cognitivas presentes na esquizofrenia (SNYDER; GAO, 2020). Uma disfunção no NMDAr pode gerar também déficits na transmissão de neurotransmissores como dopamina, serotonina e outros, resultando em outras disfunções mentais ocorrentes na patologia (JENTSCH; ROTH, 1999; GURURAJAN; TAYLOR; MALONE, 2011). Sendo assim, a hipofunção glutamatérgica em interneurônios é um ponto convergente entre a progressão e sintomas da esquizofrenia (SNYDER; GAO, 2020).

1.2.4 Síntese das hipóteses dopaminérgica, GABAérgica e glutamatérgica

Atualmente, as evidências que corroboram separadamente a participação dos neurotransmissores dopamina, GABA e glutamato, e suas respectivas vias neurais, têm sido integradas em uma perspectiva sintética, como descrito abaixo. Acredita-se que os sintomas esquizotípicos sejam resultado da hipofunção de NMDAr especificamente em interneurônios GABAérgicos no CPF (STAHL, 2021). Sem a liberação de GABA, os sintomas positivos (Figura 2) e negativos (Figura 3) são explicados, respectivamente, (a) pelo aumento da liberação de DA pela via mesolímbica, como consequência da desinibição de neurônios glutamatérgicos que inervam neurônios dopaminérgicos na via mesolímbica e da área tegmentar ventral (ATV); e (b) pela redução de DA na via glutamatérgica mesocortical, uma vez que a hiperatividade da via glutamatérgica cortico-talâmica aumenta a atividade GABAérgica local (ENOMOTO; TSE; FLORESCO, 2011; STAHL, 2021; KRUSE; BUSTILO, 2022).

Figura 2. Teoria da base biológica dos sintomas positivos da esquizofrenia a partir da hiperdopaminergia mesolímbica. **(A)** Em funcionamento normal, a projeção glutamatérgica do córtex ao tronco encefálico se comunica com a via dopaminérgica mesolímbica, regulando a liberação de dopamina no núcleo *accumbens*. **(B)** Com o bloqueio de NMDAR em interneurônios na região frontal, não há inibição da via glutamatérgica cortico-talâmica e, conseqüentemente, esta é hiperativada. **(C)** Normalmente, projeções glutamatérgicas partindo do hipocampo estimulam a liberação de GABA que, por sua vez, inibe a excitação excessiva do núcleo *accumbens* e do globo pálido. **(D)** A hipoativação dos NMDAR no hipocampo impede que haja um controle à jusante, levando a uma hiperinibição no globo pálido, desinibindo a via mesolímbica. Fonte: Stahl (2021), adaptado por Maríá Camila Acero Castillo e Mariana B. M. Correia.

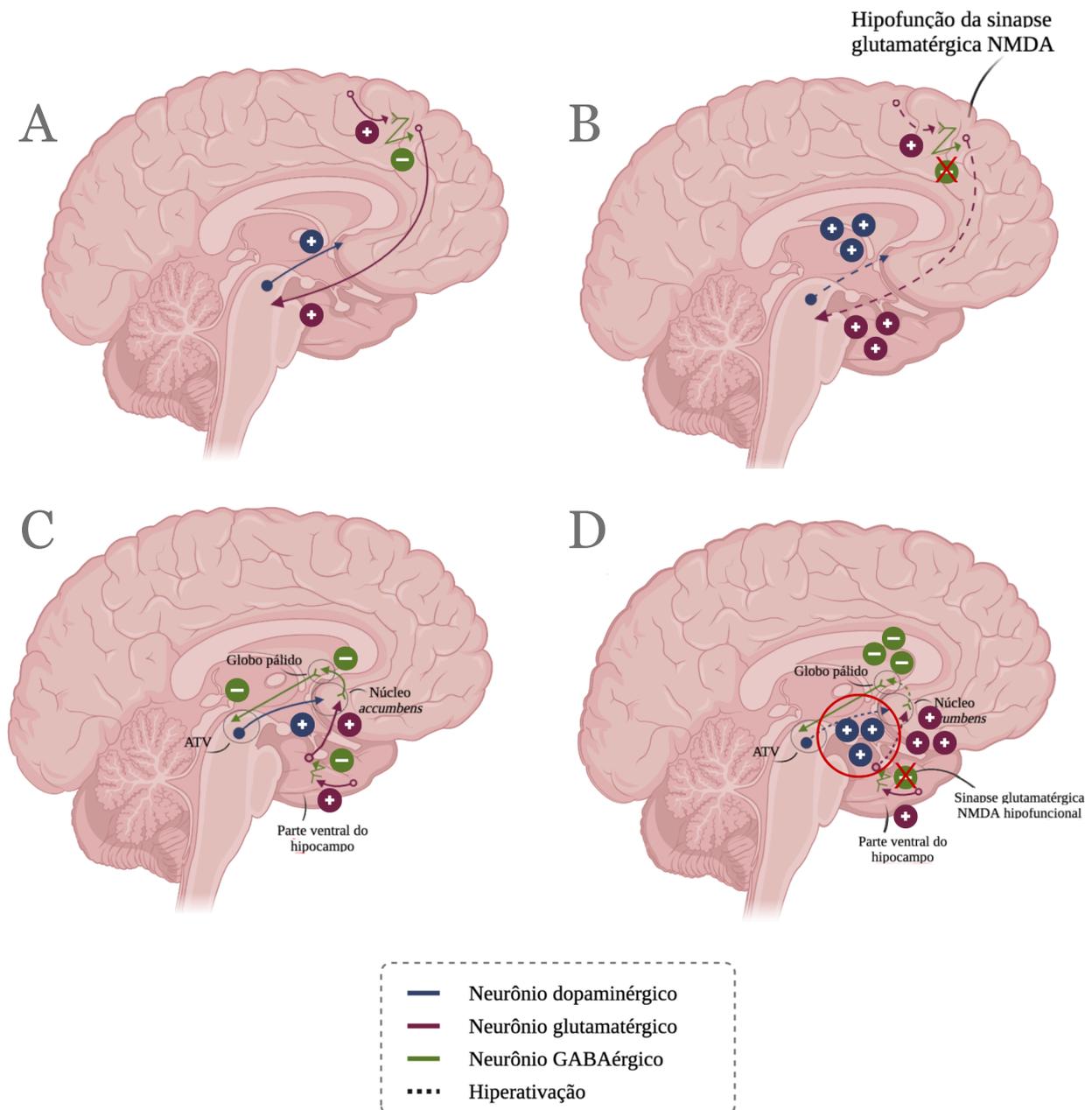
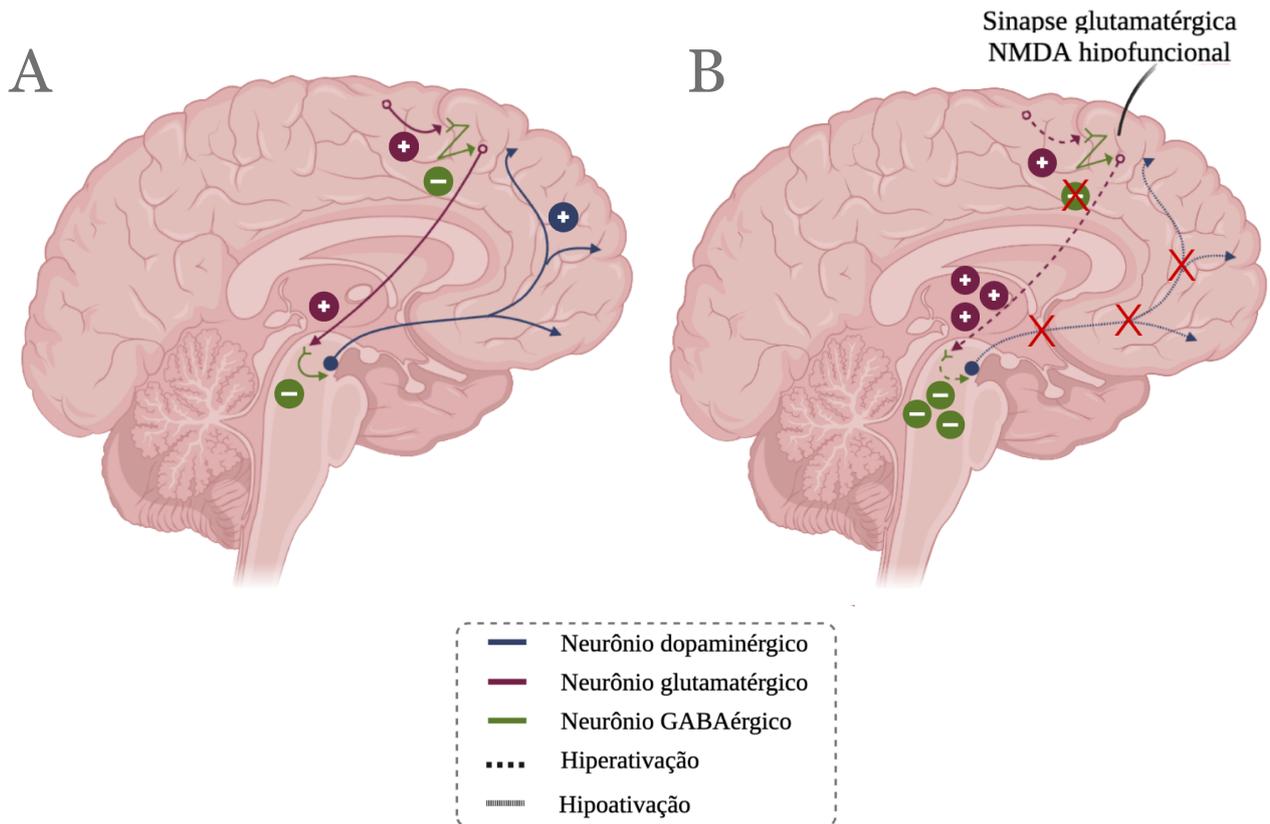


Figura 3. Teoria da base biológica dos sintomas negativos e cognitivos da esquizofrenia a partir da hiperdopaminergia mesocortical. **(A)** O balanço E/I da comunicação entre a via glutamatérgica cortico-talâmica e a via dopaminérgica mesocortical é crucial para que a liberação de DA no CPF seja regulada. **(B)** Com a hipofunção de NMDAr nos interneurônios GABAérgicos, uma grande liberação de GABA na ATV levará à redução da liberação de DA nas regiões frontais. Fonte: Stahl (2021), adaptado por María Camila Acero Castillo e Mariana B. M. Correia.



1.3 Bloqueio farmacológico de receptores do tipo NMDA

Como supracitado, a inibição farmacológica de neurônios GABAérgicos resultaria em uma diminuição da liberação de GABA no CPF. A redução de atividade gabaérgica impactaria a liberação de dopamina que, por sua vez, induziria as alterações cognitivas e comportamentais semelhantes às alterações encontradas na esquizofrenia (ADELL et al., 2012). Na literatura, os antagonistas de NMDAr mais utilizados são PCP, QUET e dizocilpina (MK-801).

A PCP foi sintetizada pela primeira vez em 1956 e, desde os primeiros estudos realizados, mostrou ter um efeito de catalepsia em alguns animais e efeito excitatório em outros, apresentando uma farmacologia inédita. Além disso, apresentou potencial

anestésico, acompanhado de delírio prolongado, inviabilizando-a para uso em anestesia (DOMINO, 2010). A PCP se liga com alta afinidade e especificidade nos NMDAr, bloqueando o canal de cálcio voltagem-dependente e reduzindo seletivamente a ação excitatória do glutamato (OLNEY; LABRUYERE; PRICE, 1989; STEINPREIS, 1996). Essa ligação faz com que o glutamato atue em receptores GABAérgicos e AMPA, sendo este responsável pelo aumento de espinhas dendríticas e da excitação de neurônios dopaminérgicos (CATENA-DELL'OSSO et al., 2013; STAHL, 2021). Além disso, possui afinidade por receptores opioides e aumenta, por exemplo, a transmissão serotoninérgica (MARTIN et al., 1998).

Luby et. al (1959) reportaram que a PCP não só aumentou os sintomas primários em pacientes crônicos, como induziu sintomas esquizotípicos em pacientes saudáveis. Os mesmos resultados foram replicados em Adler et. al (1999). Após os estudos clínicos que concluíram que a PCP não era um fármaco viável para anestesia humana, foram realizados novos estudos para a síntese de compostos derivados, o que deu origem à QUET. A QUET mostrou ter propriedades anestésicas excelentes de curta duração e é utilizada até hoje clinicamente com humanos e na veterinária (DOMINO, 2010). Assim como a PCP, a QUET em humanos replica sintomas-chave da esquizofrenia, incluindo desordem de pensamentos e alterações na percepção (KRYSTAL et al., 1994; ADLER et al., 1999). Nesse sentido, a administração subanestésica de QUET gera alterações em uma miríade de comportamentos, como por exemplo na resposta de sobressalto (e.g. MONTE et al., 2013; FUJIKAWA; YAMADA; JINNO, 2021), comportamento social (e.g. ONAOLAPO et al., 2017; XU et al., 2019) e memória (e.g. RANGANATHAN et al., 2017; KOZELA et al., 2020; ROUSSY et al., 2021).

Mais recentemente, passou-se a utilizar a MK-801 em modelos animais de esquizofrenia (JACOBSEN et al., 2017; SALETTI et al., 2017; GURURAJAN; TAYLOR; MALONE, 2011). De atuação semelhante à PCP e QUET, a MK-801 apresenta uma maior afinidade pelo sítio de ligação. Possui dissociação lenta e fica retida dentro do canal após o bloqueio (DAVIES et al., 1988; LÓPEZ-GIL et al., 2007).

Apesar de mimetizar vários sintomas esquizotípicos e ser considerada mais potente que os outros fármacos de ação similar, a MK-801 não é aprovada para uso humano. Por outro lado, a QUET possui baixa afinidade com o canal de cálcio e uma dissociação mais rápida, configurando um melhor índice terapêutico (DOMINO, 2010). Por esses motivos, é importante a comparação dos efeitos e atividades da MK-801 com as de fármacos utilizados em pesquisa e uso abusivo por seres humanos, como no caso da

QUET, priorizando um caráter translacional aos estudos em Psicofarmacologia. Assim, é possível melhor mimetizar sintomas da esquizofrenia em modelos animais experimentais.

1.3.1 Validade dos modelos via antagonismo de NDMAR

A utilização de modelos animais na pesquisa psicofarmacológica permite a investigação das bases neurobiológicas, bem como de intervenções preventivas e terapêuticas (GUERRIN et al., 2021). Considerando a complexidade e heterogeneidade da esquizofrenia, é certo afirmar que nenhum modelo, farmacológico ou não, é capaz de mimetizar inteiramente o distúrbio. Uma vez que sua sintomatologia se baseia fortemente em faculdades humanas, existe um impasse no desenvolvimento de modelos que tenham validade preditiva, fenomenológica, e por construto (JONES; WATSON; FONE, 2011).

A fim de conferir uma relevância translacional aos modelos animais, foram traçados paralelos entre sintomas esquizotípicos de pacientes e diversos comportamentos em animais. Por exemplo, o comportamento motor anormal em pacientes é correlacionado à hiperlocomoção e aumento do comportamento exploratório em animais; anedonia e apatia social, por sua vez, podem ser mensurados em animais por meio de testes de recompensa e interação social (KILT, 2001; JONES; WATSON; FONE, 2011).

1.4 Oscilações neurais e processamento cognitivo

A dinâmica cerebral é um produto da atividade de várias populações neuronais interconectadas: a flutuação no balanço excitatório e inibitório das células nervosas é um dos principais mecanismos para a geração da oscilação neural, que controla temporalmente a atividade neuronal (COHEN, 2015; PESARAN et al., 2018).

Embora o tamanho do encéfalo tenha mudado drasticamente ao longo da história evolutiva dos mamíferos, houve a conservação das frequências oscilatórias cerebrais e seus correlatos comportamentais entre as espécies, fortalecendo a noção de que sejam subjacentes a mecanismos básicos de processamento de informação neural que geram percepção, emoção e cognição (BUZSÁKI; DRAGUHN, 2004; BUZSÁKI; LOGOTHETIS; SINGER, 2013; COHEN, 2015). A preservação das frequências oscilatórias não reflete uma inflexibilidade do sistema, uma vez que oscilações em sistemas biológicos se adaptam a mudanças apresentadas no ambiente (BUZSÁKI; WATSON, 2012; COHEN, 2015). De fato, as frequências das oscilações cerebrais variam de <1Hz a 600Hz, e representam estados mentais diversos (Tabela 1).

Não obstante ter falhado na tentativa de provar a telepatia, Hans Berger foi, na realidade, o primeiro a registrar oscilações neurais em humanos. Em seu artigo sobre a eletroencefalografia (EEG), publicado em 1929, distinguiu padrões de ondas e sugeriu a associação de estados cognitivos a diferentes frequências de oscilação (BERGER, 1934). No geral, neurocientistas classificam as frequências em: (1) *delta*, 0,5-4 Hz; (2) *teta*, 4-8 Hz; (3) *alfa*, 8-12 Hz; (4) *beta*, 12-30 Hz; (5) *gama*, 30-100 Hz; e (6) *high-frequency oscillation* (HFO), 110-160 Hz (BUZSÁKI, 2006; TORT et al., 2008; SCHEFFER-TEIXEIRA et al., 2012).

Tabela 1. Bandas de frequência e suas funções associadas.

| Onda | Banda de frequência | Funções associadas |
|-------|---------------------|--|
| Delta | 0,5-4 Hz | Sono profundo; sono não-REM; estado de inconsciência (SRIMAHARAJ et al., 2018). |
| Teta | 4-8 Hz | Sono REM (<i>rapid-eye-movement</i>); navegação espacial; plasticidade sináptica; memória (BUZSÁKI, 2002). |
| Alfa | 8-12 Hz | Estado relaxado de vigília; meditação; atenção; inibição (ULHLAAS; SINGER, 2013; SRIMAHARAJ et al., 2018). |
| Beta | 12-30 Hz | Coordenação temporal de potenciais de ação do sistema motor; foco e concentração; percepção (BUZSÁKI; LOGOTHETIS; SINGER, 2013; ULHLAAS; SINGER, 2013; SRIMAHARAJ et al., 2018). |
| Gama | 30-100 Hz | Função motora; processamento de informações; percepção; memória; atenção (ULHLAAS; SINGER, 2013; SRIMAHARAJ et al., 2018). |
| HFO | 110-160 Hz | Processamento de memória (TORT et al., 2013). |

Visto que processamentos cognitivos e sensoriais são realizados de maneira paralela em diferentes regiões corticais, faz-se mister uma integração tanto entre as modalidades cognitivas, quanto entre as áreas envolvidas (UHLHAAS; SINGER, 2006). O possível mecanismo que realiza tal integração é a sincronia de disparos neuronais, permitindo que múltiplos processamentos sejam realizados simultaneamente em diversas escalas (BUZSÁKI; DRAGUHN, 2004; UHLHAAS; SINGER, 2006).

Mais especificamente, oscilações gama são encontradas em diversas regiões do encéfalo, nas quais interneurônios GABAérgicos atuam vastamente via receptor GABA_A (BUZSÁKI, 2006). Considerando o provável envolvimento de sinapses inibitórias na sincronia de neurônios na frequência gama, foram propostos mecanismos da geração do ritmo, revisados em Buzsáki e Wang (2012): o modelo I/I (Inibitório/Inibitório) e o modelo E/I (Excitatório/Inibitório). O primeiro modelo dá origem a oscilações gama a partir da

despolarização concomitante de uma rede de interneurônios — uma vez que os potenciais de ação gerados inibem a geração de potenciais de outro interneurônio, eventualmente, começaram a disparar conjuntamente. O segundo modelo inclui o recrutamento de células piramidais, que alteram o padrão de atividade de interneurônios e geram uma interação cíclica de excitação e inibição da rede (WHITTINGTON et al., 2000; BUZSÁKI; WANG, 2012).

Diferentes frequências podem coexistir e até mesmo interagir uma com as outras. Ao decompor o sinal de oscilações coexistentes — dado originalmente em um domínio temporal — em um domínio de frequência, é possível obter um espectro da dominância relativa das frequências i.e. o valor de *poder* relativo de cada frequência no sinal (BUZSÁKI; DRAGUHN, 2004; BUZSÁKI, 2006). Conhecidas por modular, em grandes escalas espacial e temporal, o poder de oscilações gama no hipocampo e córtex em ratos (BUZSÁKI et al., 2003) e HFO no neocórtex humano (CANOLTY et al., 2006), as ondas teta são um exemplo de tal interação (TORT et al., 2008; CANOLTY; KNIGHT, 2010).

Tort et al. (2008) descreveram como as ondas teta modulam de forma diferente as oscilações de alta frequência no hipocampo e no estriado durante comportamentos ativos em ratos, e identificaram que certos processos cognitivos dependem da interação entre as ondas teta-gama e teta-HFO. Como a transmissão e organização de informações no cérebro são baseadas em mecanismos de processamento neural de oscilações, déficits no acoplamento de ondas são propensos a gerar alterações nos processos cognitivos relacionados (LISMAN; BUZSÁKI, 2008).

1.5 Local Field Potential (LFP)

Existem diferentes métodos de registro de oscilações neurais que variam em sua resolução espacial. Esses métodos podem capturar a atividade de canais iônicos, neurônios individuais ou grandes populações neuronais (OBIEN et al., 2015). No entanto, técnicas como o eletroencefalograma (EEG) ou o eletrocorticograma (ECoG), que são realizadas no couro cabeludo e na superfície da dura-máter, respectivamente, são afetadas pela resistência heterogênea oferecida por diferentes estruturas que o sinal elétrico atravessa antes de chegar aos eletrodos, e.g. tecidos ósseo, epitelial e muscular (BUSZÁKI; ANASTASSIOU; KOCH, 2012; BEAR; CONNORS; PARADISO, 2017).

Por outro lado, o uso de registros profundos, nos quais os eletrodos são implantados diretamente no cérebro, como no caso do potencial de campo local (LFP) — *local field potential*, em inglês — permite uma proximidade maior entre a atividade elétrica

e os eletrodos e, conseqüentemente, uma maior resolução espacial (BUSZÁKI; ANASTASSIOU; KOCH, 2012; BOZER; UHELSKI; LI, 2017).

A movimentação bidirecional de íons através de membranas excitáveis gera correntes *sources* (do espaço intracelular para o extracelular) ou *sink* (do espaço extracelular para o intracelular), resultando, por exemplo, em potenciais pós-sinápticos excitatórios ou inibitórios (BUSZÁKI; ANASTASSIOU; KOCH, 2012; BOZER; UHELSKI; LI, 2017). As correntes transmembrana, portanto, levam à uma deflexão da voltagem não só no lado interno da célula, mas também do lado externo. Sendo assim, a sobreposição e o somatório das correntes elétricas dos processos celulares iônicos em um certo volume cerebral geram um potencial de campo local no meio extracelular (BUSZÁKI, 2006; BUSZÁKI; ANASTASSIOU; KOCH, 2012).

O registro LFP é a medida intracerebral desta atividade elétrica extracelular local. A resolução espacial do registro de profundidade depende do tamanho, impedância e condutância do eletrodo, como também da região na qual está inserido, pois a densidade celular e arquitetura irregular do tecido cerebral afetam o registro. Apesar dos fatores que acarretam na variação da resolução, a atividade LFP se mostra uma ferramenta robusta para mensurar os processos neurais região-dependente que se correlacionam fortemente com uma miríade de comportamentos (PESARAN, 2018, BUSZÁKI; ANASTASSIOU; KOCH, 2012; HERRERAS, 2016; BOZER; UHELSKI; LI, 2017).

1.6 Oscilações e cognição na esquizofrenia

Embora os tratamentos medicamentosos aplicados à esquizofrenia tenham progredido significativamente na redução dos sintomas positivos, a inalteração de déficits cognitivos e sintomas negativos indicam que o prognóstico clínico se correlaciona mais fortemente com estes últimos. Sendo assim, esforços têm sido empregados na compreensão dos microcircuitos corticais na esquizofrenia, a fim de identificar biomarcadores na emergência do distúrbio (GÜNTHER; HANGANU-OPATZ, 2022; THÖRN; KAFETZOPOULOS; KOCSIS, 2022).

Congruente à fisiopatologia proposta pela hipótese glutamatérgica, os comprometimentos nas vias que abrangem as regiões frontal, estriatal e talâmica, em conjunto com as desconexões corticais resultantes de sinapses defeituosas entre neurônios piramidais e interneurônios, estão associados à ocorrência de déficits de memória, atenção e função executiva, que são comuns no quadro esquizotípico (MILLAN et al., 2012; SHAW et al., 2020).

Portanto, os déficits em operações cognitivas complexas que caracterizam a esquizofrenia refletem também uma deficiência de conectividade entre diversas estruturas cerebrais. Considerando a importância das oscilações na manutenção desta conectividade, o estudo de suas alterações são essenciais no entendimento da patofisiologia do distúrbio (UHLHAAS; SINGER, 2010). Mais especificamente, a comunicação entre as regiões pré-frontal e hipocampal foi sugerida como subjacente a déficits cognitivos, dados consistentemente corroborados em modelos animais de esquizofrenia (MEYER-LINDENBERG et al., 2005; GÜNTHER; HANGANU-OPATZ, 2022).

O CPF e o hipocampo apresentam oscilações de baixa frequência específicas que se correlacionam a comportamentos também específicos: ondas teta são geradas com a ativação do hipocampo, enquanto ondas delta são dominantes no CFP e estão relacionadas à memória de trabalho, por exemplo (THÖRN; KAFETZOPOULOS; KOCSIS, 2022).

Já foram reunidas evidências do aumento da banda delta em regiões frontais em pacientes (revisado em BOUTROS et al., 2008; SIEKMEIER; STUFFLEBEAM, 2010) e teta, de maneira generalizada (SCHMIEDT et al., 2005; BOUTROS et al., 2008; KIRIHARA et al., 2012; ADAMS et al., 2020). Os dados encontrados por Schmiedt et al. (2005) sugerem que alterações em teta na modulação frontal estão relacionadas à inabilidade de controle executivo por parte de pacientes, cuja integridade da rede subjacente à inibição de processamentos automático é comprometida, impedindo que a integração, geração, manutenção e ajuste antecipatório de tarefas mentais culmine em ações monitoradas e antecipadamente planejadas.

Do ponto de vista perceptual, Ramsay e colaboradores (2023) demonstraram uma atenuação de oscilações alfa na região occipital em pacientes com esquizofrenia (revisado em BOUTROS et al., 2008), o que pode representar perturbações na distribuição de atenção, resultado congruente com a percepção atípica no distúrbio (RAMSAY et al., 2023). Em contrapartida, não há consenso na literatura em relação à localização de oscilações beta alteradas na esquizofrenia (revisado em SIEKMEIER; STUFFLEBEAM, 2010). Há, porém, uma grande ampliação na faixa 12,5-30 Hz no córtex auditivo durante alucinações auditivas na magnetoencefalografia de pacientes, em relação a voluntários sadios (ROPOHL et al., 2004).

Ondas gama e, mais recentemente, HFO, são as mais estudadas na esquizofrenia. Encontra-se vastamente na literatura dados coletados em humanos que apontam uma

correlação negativa entre o aumento de demandas de controle cognitivo e o registro de frequência gama (CHO et al., 2006; revisado em SENKOWSKI; GALLINAT, 2015).

Todavia, no início da pesquisa eletrofisiológica da esquizofrenia, eventuais experimentos apontaram aumento generalizado em ondas de alta frequência, incluindo gama (e.g., ITIL; SALETU; DAVIS, 1972). Essa hipótese voltou a ser revisitada com evidências de que administrações de bloqueadores de NMDAr levam ao aumento significativo de gama em controles saudáveis (HONG et al., 2010; GRENT-'T-JONG et al., 2018; NOTTAGE et al., 2023), *in vitro* (ANVER et al., 2011, MCNALLY et al., 2011) e *in vivo* (HUNT; FALINSKA; KASICKI, 2010; KITTELBERGER et al., 2012; CAIXETA et al., 2013; GRÜTZNER ET AL., 2013; SUN ET AL., 2013; QI et al., 2018; YAN. et al., 2022). É possível que, tanto na esquizofrenia, quanto no bloqueio farmacológico de NMDAr, haja o aumento de oscilação gama basal e, por outro lado, uma atenuação de ondas gama evocadas (KOCSIS et al., 2013).

Sendo assim, identificar se os padrões de atividade oscilatória alterados surgem precocemente, possivelmente antes do início dos sintomas da doença (GÜNTHER; HANGANU-OPATZ, 2022), além de entender as origens e características das oscilações, é crucial para melhorar o diagnóstico e tratamento da esquizofrenia.

2 OBJETIVOS

O objetivo do presente estudo foi caracterizar o comportamento e a atividade oscilatória do córtex pré-frontal e hipocampo de roedores usando o modelo glutamatérgico da esquizofrenia no campo aberto.

Objetivos específicos:

- Implementar o protocolo cirúrgico de implante crônico de eletrodos intracerebrais em modelo murino no Laboratório de Neurociências, Metabolismo e Comportamento da UnB;
- Implementar o protocolo de coleta de vídeo-EEG por meio do equipamento *wireless* do modelo farmacológico de esquizofrenia;
- Avaliar o comportamento locomotor no campo aberto sob administração sistêmica aguda de MK-801, QUET e salina; e
- Avaliar a atividade dos neurônios do córtex pré-frontal e hipocampo durante o teste em campo aberto, sob administração sistêmica aguda de MK-801, QUET e salina.

3 METODOLOGIA

3.1 Aspectos éticos

A manipulação dos animais experimentais seguiu os Princípios Éticos na Experimentação Animal, do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) e a Lei Arouca (Lei 11.794/2008). O projeto com roedores foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso Animal (CEUA) da Universidade de Brasília no processo SEI no 23106.050441/2022-93 (Anexo 1).

3.2 Sujeitos experimentais

Foram utilizados 10 ratos machos Wistar (250-400g, machos) acondicionados no Biotério do Instituto de Ciências Biológicas (IB) da Universidade de Brasília (UnB). Todos os procedimentos de cirurgia e testes foram realizados no Laboratório de Neurociências, Metabolismo e Comportamento do Departamento de Ciências Fisiológicas. Dentre os animais utilizados, quatro foram a óbito e um animal foi submetido ao ponto final humanitário após descolamento do capacete que protegia os implantes. Sendo assim, dados de cinco animais foram utilizados nesta pesquisa.

Durante todo o período de experimentos, os ratos foram mantidos em grupos de até cinco indivíduos em um ciclo claro/escuro de 12 horas, recebendo água e ração *ad libitum*. Como estratégia de enriquecimento ambiental, foram utilizadas tampas em arame de ferro com altura livre de 10 cm (Bonther Equipamentos e Tecnologia, Brasil) e tubos de PVC para que os animais pudessem se abrigar.

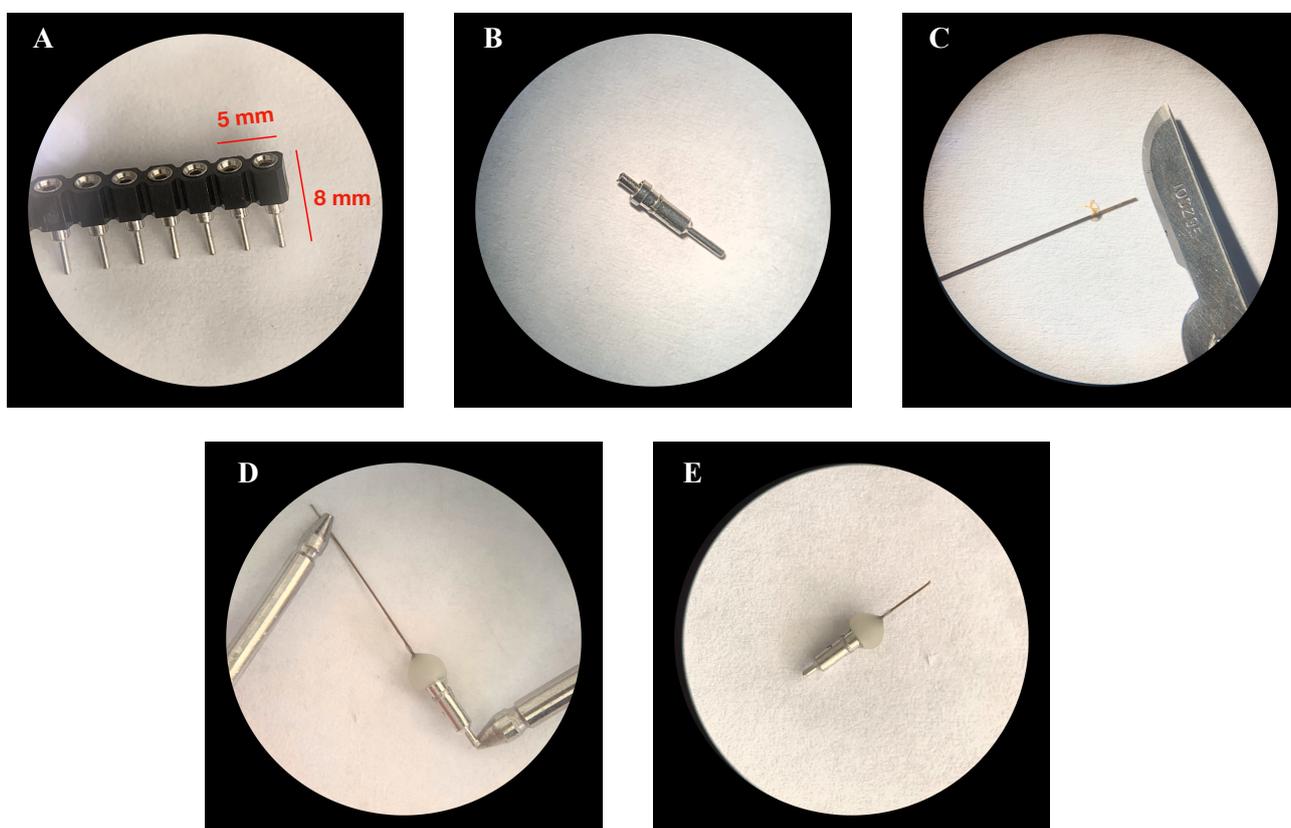
3.3 Procedimentos cirúrgicos

Os animais foram anestesiados por injeção intraperitoneal de acepromazina (2,0 mg/kg, Vetnil), cloridrato de QUET (90,0 mg/kg, Vetnil) e cloridrato de xilazina (9,0 mg/kg, Vetnil). Uma vez anestesiados, foram posicionados em um aparelho estereotáxico e, após assepsia com iodopovidona e anestesia local com cloridrato de lidocaína, o crânio foi exposto e tratado.

Os eletrodos foram feitos com uma barra de pinos torneada (Figura 4A), da qual cada pino foi separado e teve seu soquete exposto. Um fragmento de agulha hipodérmica (BD 0,55x20mm 24G) foi, então, inserido no soquete para acomodar um fio de tungstênio (P1 Technologies, EUA) de aproximadamente 127 μ m de diâmetro (Figura 4B). A porção do fio inserida na agulha foi desencapada (Figura 4C), e um alicate de pressão foi

utilizado sobre a agulha para garantir o contato elétrico entre os componentes metálicos. Finalmente, foi aplicada resina fotopolimerizável ao redor da agulha e fio para dar estabilidade ao eletrodo (Figura 4D). Entre cada etapa utilizou-se um multímetro para se certificar que todos os metais condutores estivessem corretamente conectados, de maneira a manter a condução de corrente elétrica.

Figura 4. Procedimento de montagem dos eletrodos de profundidade. (A) Barra de pinos torneada; (B) Fragmento de agulha encaixado no soquete e lixado com lima elétrica; (C) O fio de tungstênio foi desencapado nas duas extremidades: de um lado, para fazer contato com a agulha; do outro, para realizar o teste de continuidade com multímetro; (D) Eletrodo com o fio inserido no soquete e finalizado com resina; (E) Para finalizar a confecção do eletrodo, o fio foi cortado de acordo com o comprimento de interesse.



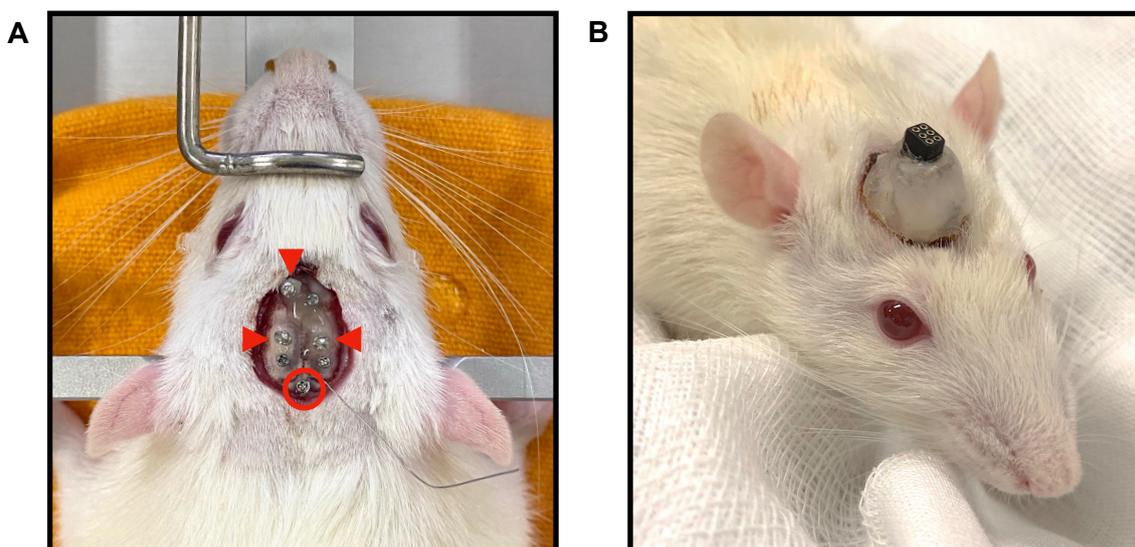
Durante a cirurgia, três eletrodos de profundidade foram implantados nas coordenadas descritas na Tabela 2 (PAXINOS; WATSON, 2006), e um parafuso implantado na epidural sobre o osso occipital foi utilizado como aterramento e referência (GRD+Ref) do eletroencefalograma (Figura 5A). Três outros parafusos foram posicionados no crânio com o objetivo de garantir uma boa sustentação do capacete

construído com resina fotopolimerizável e acrílico dental: dois parafusos bilateralmente na região parietal e, outro, na região frontal direita (Fig. 5A). Os implantes e parafuso GRD+Ref foram, então, soldados ao conector de seis pinos (PinnacleTechnologies, EUA, 8235-SM) para posteriormente serem conectados ao sistema *wireless* de monitoramento (Figura 5B).

Tabela 2. Coordenadas estereotáxicas do posicionamento dos eletrodos, com bregma de referência (AP = anteroposterior; ML = mediolateral; DV = dorsoventral; CPF = córtex pré-frontal) (PAXINOS; WATSON, 2006).

| Área | AP (mm) | ML (mm) | DV (mm) |
|---------------------|---------|---------|--------------------|
| CPF medial esquerdo | +3,0 | -1,0 | -2,3 |
| Hipocampo direito | -3,6 | +2,5 | -3,0 |
| Hipocampo esquerdo | -3,6 | -2,5 | -3,0 |
| Cerebelo | -10,5 | 0,0 | Rente à dura-mater |

Figura 5. Estrutura do capacete de implantes. (A) Animal, sob anestesia, durante a implantação dos eletrodos de profundidade (▼), parafuso de aterramento (○) e demais parafusos para sustentação; (B) animal após recuperação cirúrgica, durante manipulação para teste comportamental.

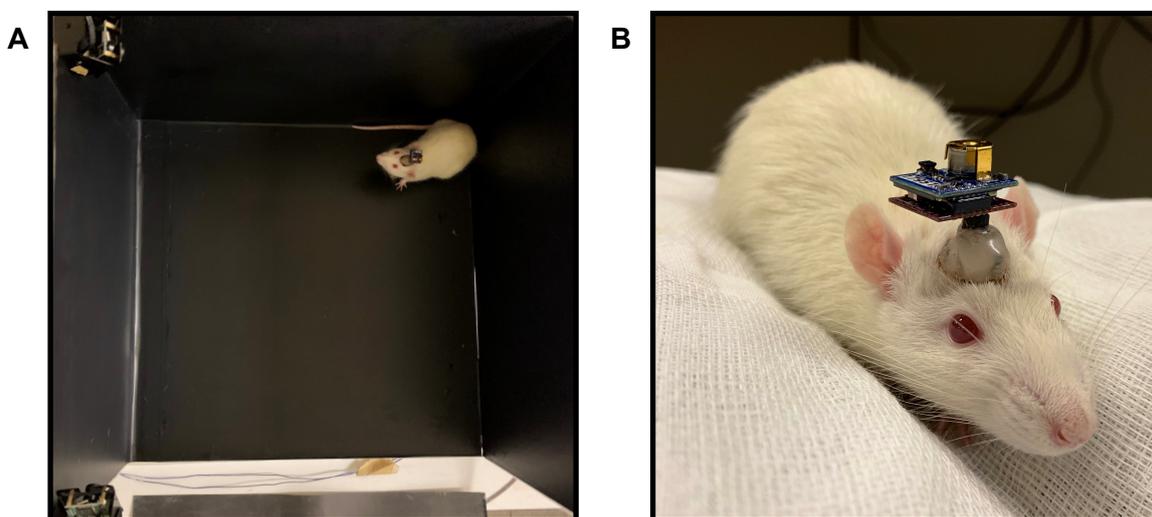


Ao final da cirurgia, os ratos receberam injeção subcutânea de 1 ml de salina e permaneceram sobre uma manta térmica para recuperação. Enfim, foram retornados ao biotério quando acordados e tratados com doses diárias de meloxicam (2 mg/kg, s.c.) nos primeiros três dias de recuperação cirúrgica para minimizar a sensação de dor.

3.4 Procedimentos experimentais

Após uma recuperação de 7 a 10 dias, os animais implantados deram início às sessões de monitoramento em uma arena retangular (50 cm x 50 cm x 30 cm) para o teste de Campo Aberto (CA; Figura 6A). Para a coleta de dados, foi utilizado um computador portátil (Dell, Brasil) com processador IntelCore i7 de 3,4 GHz e 16 GB de memória RAM. Os sinais eletrofisiológicos foram adquiridos por meio de um sistema *wireless* (PinnacleTechnologies, EUA, sistema 8200-K9-SE3, Figura 6B) e os comportamentos espontâneos dos ratos foram registrados por um gravador digital de vídeo (Intelbras VD 3008) para posterior correlação com a variação dos potenciais locais.

Figura 6. Setup experimental. (A) animal no CA, com câmeras laterais, frontal e superior; (B) transmissor do sinal eletrofisiológico encaixado no conector implantado.



Cada animal foi submetido a cinco sessões de QUET e cinco de MK-801. O delineamento experimental foi adaptado do protocolo utilizado em Caixeta et al. (2013) e, assim, cada sessão de teste (Figura 7) consistiu em duas horas de coleta, dividida em três momentos: 30 minutos de exploração na arena, pré-exposição (basal); 30 minutos

após injeção de salina, i.p. (controle); e uma hora de gravação após injeção única de QUET (20 mg/kg, i.p.) ou MK-801 (0,1 mg/kg, i.p., Sigma-Aldrich, EUA), ambas diluídas em salina. As administrações foram feitas em ordem pseudoaleatória, com 72h de intervalo para *washout* dos fármacos, uma vez que o tempo de meia vida da QUET é de 45 minutos e, de MK-801, 1,9 horas quando administrada a 2 mg/kg (VEZZANI et al., 1989; ROSENBAUM et al., 2022).

Figura 7. Desenho esquemático da sessão experimental.



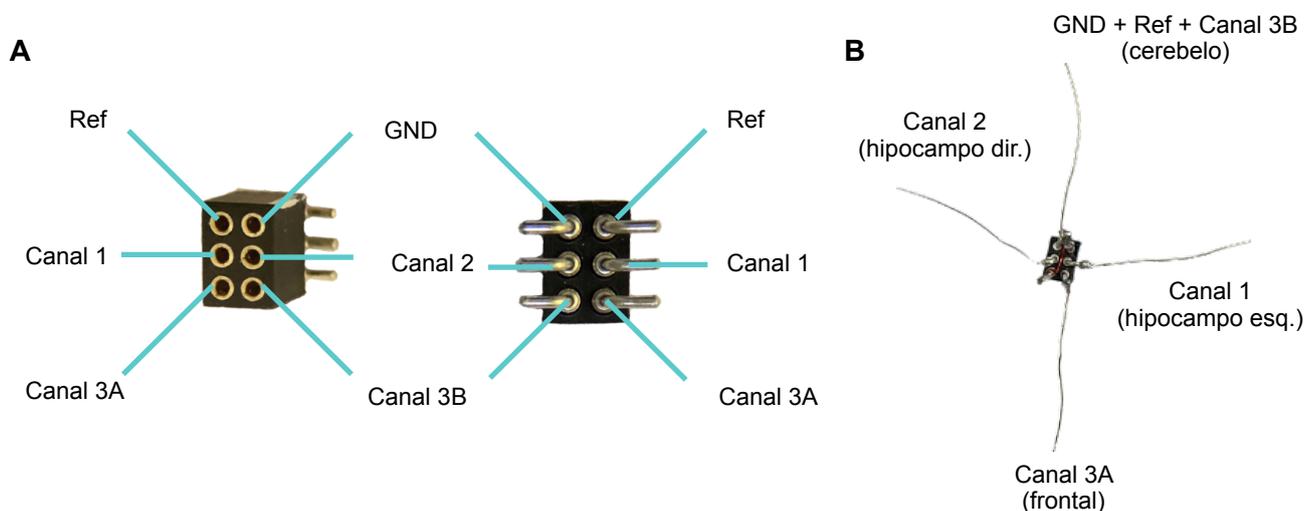
Ao final das coletas, foram desconsideradas as sessões interrompidas por queda de luz ou mau funcionamento do software. Assim, o número total de sessões viáveis para análise foram 24, com administração de QUET (animal 1 = 5 sessões; animal 2 = 5; animal 3 = 5; animal 4 = 4; animal 5 = 5) e 22 sessões de MK-801 (animal 1 = 5 sessões; animal 2 = 5; animal 3 = 5; animal 4 = 3; animal 5 = 4) — com suas respectivas etapas basal e salina.

A escolha das doses se baseou em estudos anteriores cujos achados geraram os efeitos esperados na menor dose possível, a fim de priorizar o bem estar dos sujeitos experimentais. Portanto, foram escolhidas as doses de 0,1mg/kg de MK-801 (JACKSON et al., 2004; CLEMENTS; GREENSHOW, 2005; SVOBODA et al., 2015; LIAN et al., 2018) e 25 mg/kg de QUET (RAZOUX; GARCIA; LÉNA, 2007; NICOLÁS et al., 2011; CAIXETA et al., 2013). Todavia, após duas sessões de teste, observamos que 25 mg/kg causaram ataxia severa nos indivíduos. Por essa razão, a dose utilizada no estudo foi de 20 mg/kg.

3.5 Registro eletrofisiológico

O sistema de aquisição utilizado (Figura 8) tinha seis canais que mensuram a diferença de potencial elétrico entre eletrodos: os canais 1 e 2 em relação ao canal de referência (referenciamento unipolar), e o canal 3A em relação ao canal 3B (referenciamento bipolar). Para evitar um esquema de referenciamento misto e independência do registro dos canais 3A-B, um dos canais 3 foi soldado ao canal GND+Ref (Figura 6B). O sinal eletrofisiológico foi amostrado a uma taxa fixa de 1024 Hz.

Figura 8. Canais do sistema de aquisição e esquema de montagem do conector para coleta. (A) Vista dorsal e frontal do conector e seus canais. (B) Soldas realizadas para a ligação entre os canais e os eletrodos. Note que há um fio vermelho encapsado soldado entre os canais 3B e GND+Ref, também em curto.



3.6 Análise dos dados

A análise dos dados eletrofisiológicos obtidos se deu por meio de rotinas programadas por colaboradores do projeto no *software* MATLAB 2022a (MathWorks Inc, EUA), nas quais foram extraídas informações sobre a variação do poder de diferentes bandas de frequência (gama, teta e HFO).

Conforme apresentado no Apêndice A, para a análise espectral, os dados foram normalizados entre 0 e 1; em seguida, foi realizada a transformada rápida de Fourier utilizando o método de periodograma de Welch (função *pwelch*, no MATLAB) em amostras de 30 minutos, com janelamento de quatro segundos, overlap padrão de 50% e ranking de frequência de 2^{12} . As amplitudes de teta foram normalizadas pelo sinal filtrado de 5-10 Hz e, de gama, de 30-100 Hz. Finalmente, a média entre os indivíduos foi feita e, então, os valores de poder de cada banda foram obtidos.

Os dados de posicionamento dos animais em função do tempo durante os testes comportamentais foram analisados utilizando o *software* Any-maze (Stoelting Co., EUA), e a distância percorrida durante o teste foi utilizada como índice de atividade motora.

3.7 Análise histológica

Após os procedimentos e realização dos testes, os animais foram eutanasiados com overdose de QUET (225 mg/kg) e xilazina (25 mg/kg) e perfundidos com punção cardíaca via ventrículo esquerdo. Tiveram seus cérebros extraídos e fixados em solução

de formaldeído 4% por 24 horas para posterior verificação histológica do posicionamento dos eletrodos no CPF e hipocampo.

Em seguida, os encéfalos foram transferidos para uma solução de sacarose 30% em tampão fosfato (PBS), foram congelados e, posteriormente, os cortes histológicos foram realizados no criostato. A coloração das lâminas foi realizada com cresil violeta.

3.8 Análise estatística

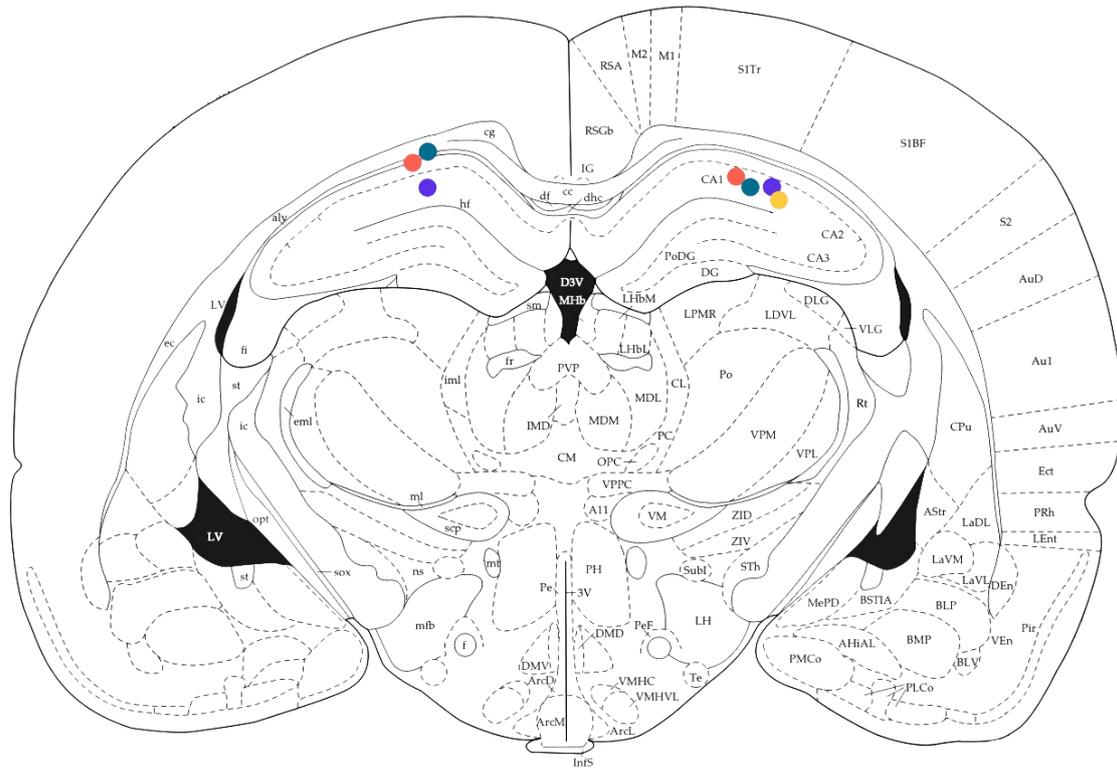
O processamento estatístico dos dados coletados foi feito pelo software *GraphPad Prism 9*. O teste Shapiro-Wilk foi empregado para avaliar a normalidade dos dados, e os valores obtidos para cada indivíduo foram analisados usando Análise de Variância unidirecional (*one-way ANOVA*) para medidas repetidas. Finalmente, foi aplicado o teste de Dunnett *post hoc* para avaliar as diferenças de desempenho em cada etapa do teste. Um nível de significância de 5% ($p < 0,05$) foi estabelecido para todos os testes.

4 RESULTADOS

4.1 Verificação dos alvos corticais

Após o corte dos encéfalos no criostato e posterior coloração, as lâminas foram avaliadas e 70% dos eletrodos foram confirmados em coordenadas similares da formação hipocampal (APÊNDICE B, Figura 9). Danos e problemas de processamento dos tecidos impossibilitaram a avaliação dos alvos na região frontal.

Figura 9. Mapa esquemático das coordenadas atingidas pelos eletrodos de profundidade no hipocampo. Cada cor representa um animal. Adaptado de Paxinos e Watson (2006).



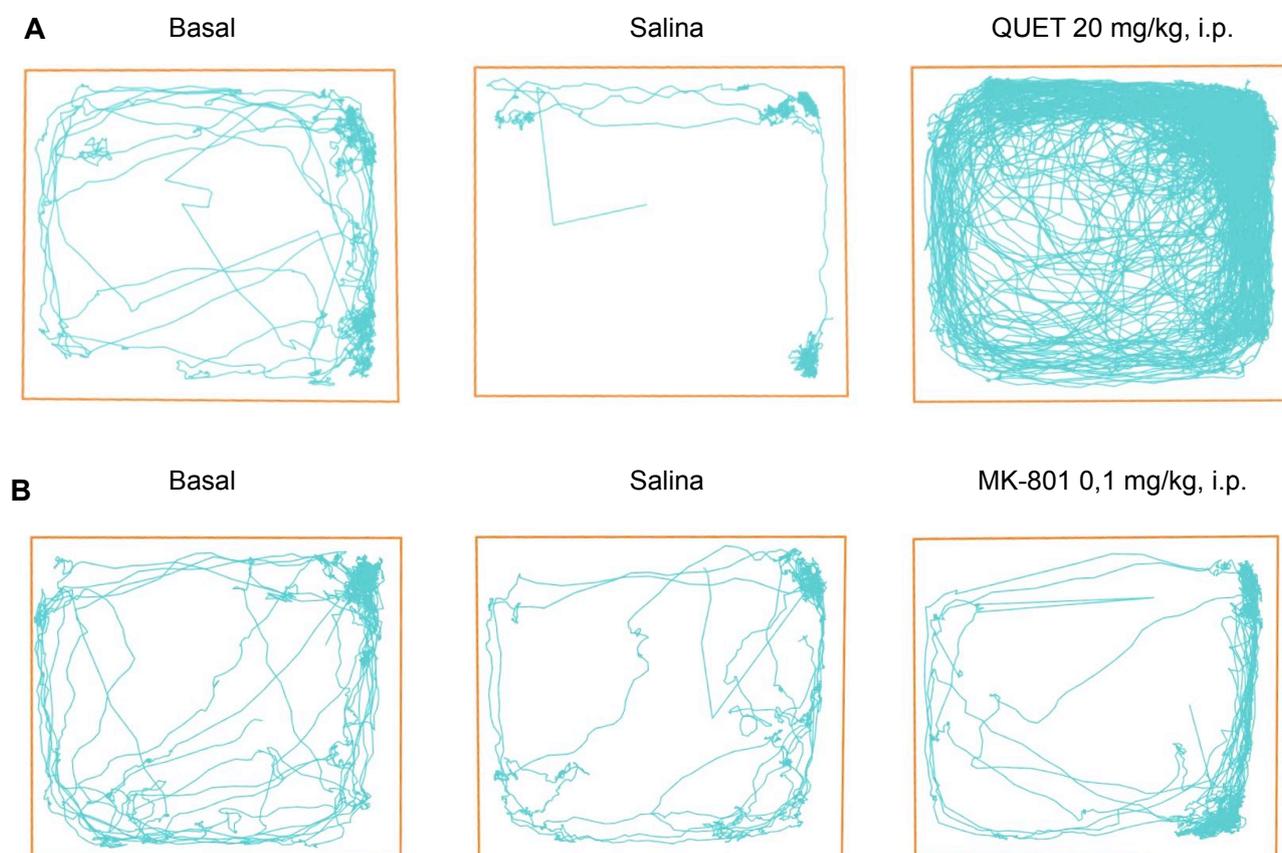
4.2 A administração de 20mg/kg de quetamina, mas não 0,1mg/kg de MK-801, induziu hiperlocomoção

Um aumento quase imediato na atividade locomotora foi observado após a administração sistêmica de QUET (Figura 10), dado consistente com estudos em modelos murinos que utilizaram doses similares à do presente estudo (IMRE et al., 2006; MATULEWICZ; KASICKI; HUNT, 2010; NUNES et al., 2012; CAIXETA et al., 2013;

OMEIZA et al., 2022). Após a injeção de 20 mg/kg i.p. de QUET observou-se, também, movimentos estereotipados em círculos, movimento da cabeça e sinais de ataxia.

Após observar que os efeitos do tratamento coincidiram com o pico de ação do fármaco, foram considerados apenas os primeiros 30 minutos após a injeção para as análises comportamentais e eletrofisiológicas. Não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas na locomoção nos minutos 30-60 após o tratamento e basal (QUET, $p = 0,0976$; MK-801, $p = 0,1671$).

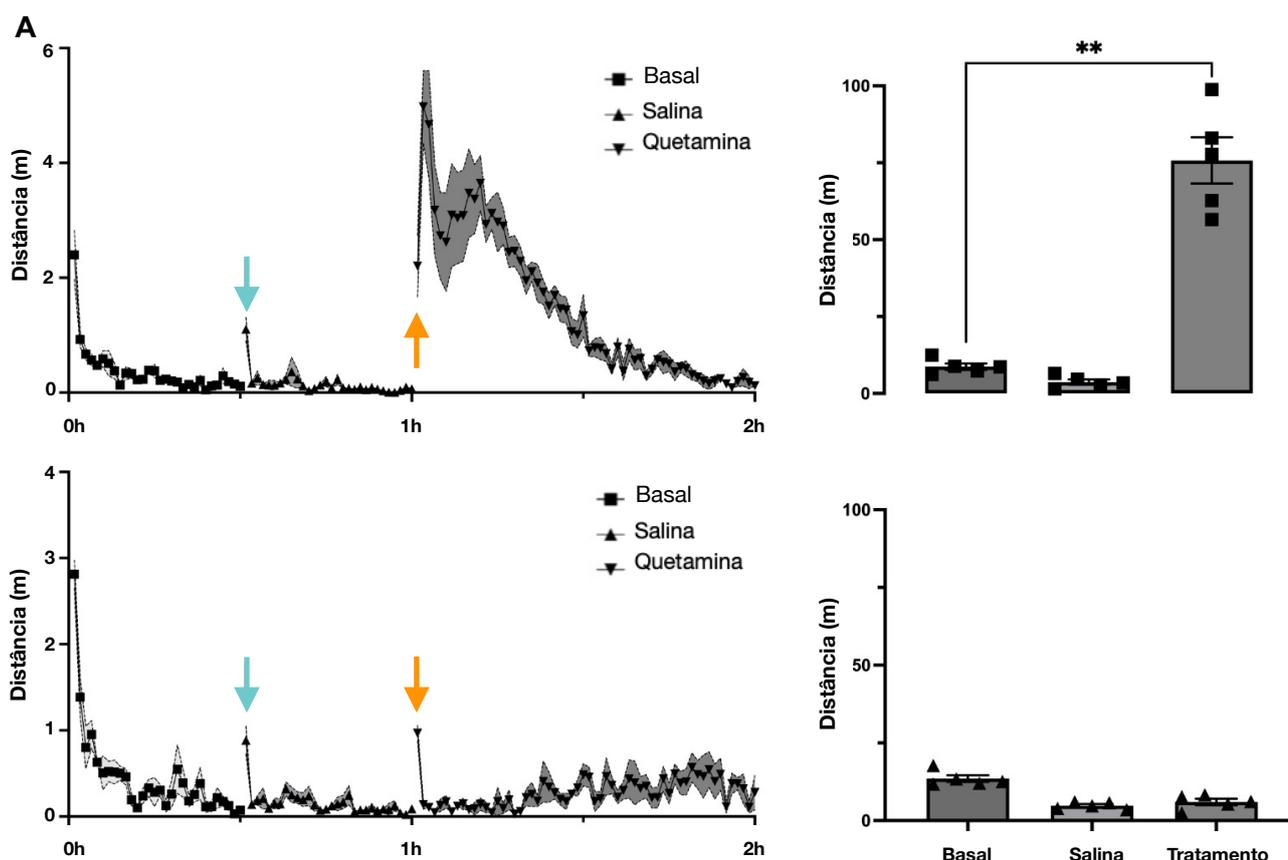
Figura 10. Exemplo de padrão de locomoção, de um mesmo sujeito, durante sessões experimentais de (A) QUET e (B) MK-801.



A Figura 11 apresenta a distância média percorrida em sessões sob o efeito de QUET e MK-801 (QUET, ASC = 87,59 (m x min); IC95% [78,55; 96,64]; MK-801, ASC = 16,04; IC95% [13,01; 19,06]), e a locomoção total para cada tratamento. Como esperado, foi observada uma diferença significativa entre a distância percorrida nas etapas basal e tratamento com QUET ($F_{1,015, 4,058} = 73,83$, $p = 0,0009$), com a administração de 20 mg/kg resultando em uma hiperlocomção nos indivíduos. Além disso, a locomoção após injeção

de salina foi significativamente menor que o período basal em ambos os tratamentos (QUET: $p = 0,0086$; MK-801: $p = 0,0010$), o que indica que a manipulação e injeção, por si só, não intensificaram o comportamento locomotor.

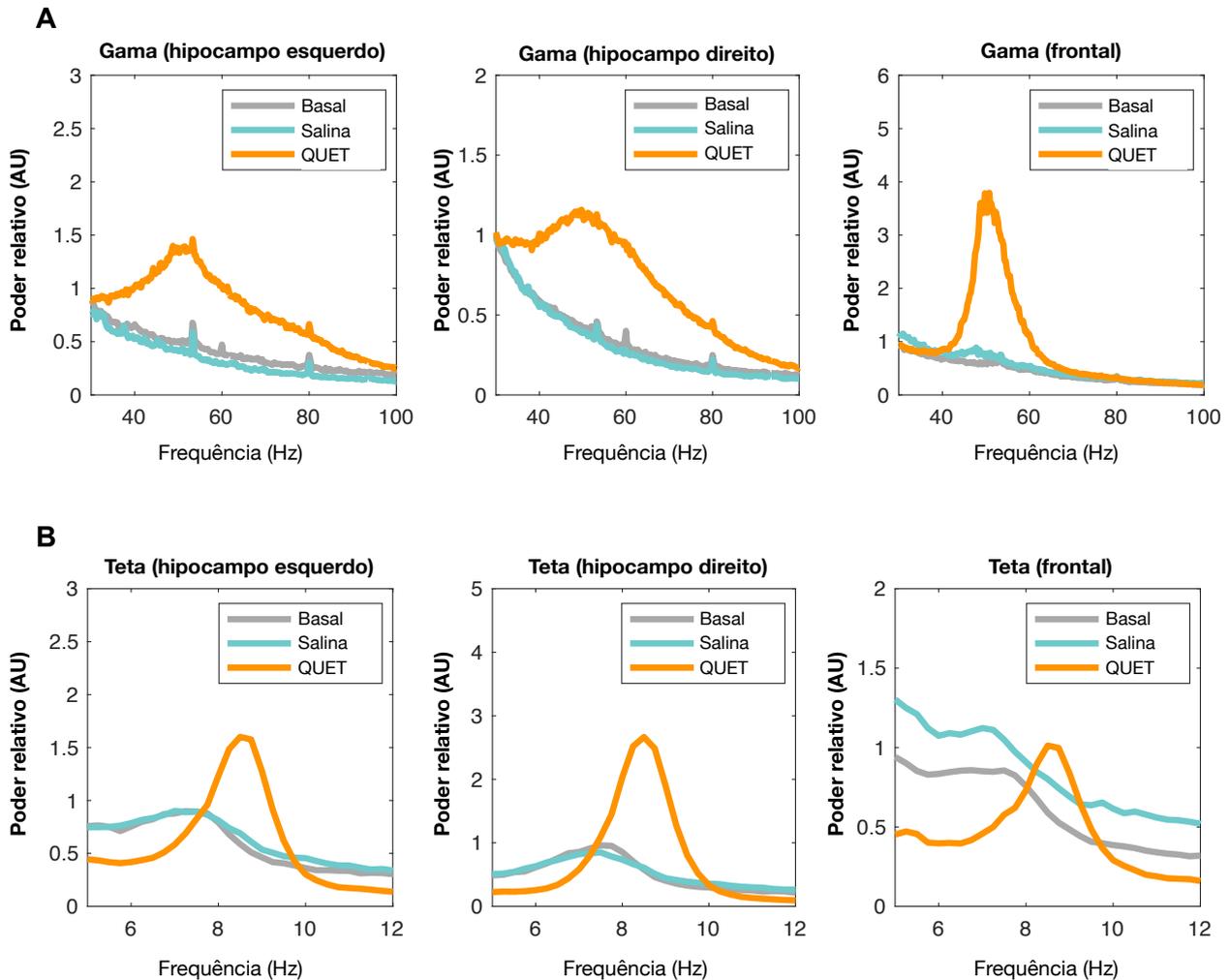
Figura 11. Gráficos das médias da distância percorrida durante as etapas basal, salina, QUET (A), MK-801 (B), e locomoção total em ambos tratamentos (C). As setas azuis representam o momento da injeção de salina e, as laranjas, de fármaco. ******($p < 0,05$; QUET, $n = 24$; MK-801, $n = 22$).



4.3 A administração de 20mg/kg de quetamina aumentou o poder de gama e teta

Os dados obtidos mostraram uma modulação em ondas de alta frequência sob efeitos de QUET. Nos primeiros 30 minutos após a injeção, um aumento do poder na faixa de gama (50-60 Hz) foi observado nos indivíduos (Figura 12A). Na literatura, oscilações teta em ratos estão associadas a movimentos voluntários e exploração ativa (LUBENOV; SIAPAS, 2009). De maneira congruente, nossos dados mostraram um aumento acentuado do poder relativo de teta após o tratamento com QUET (Figura 12B).

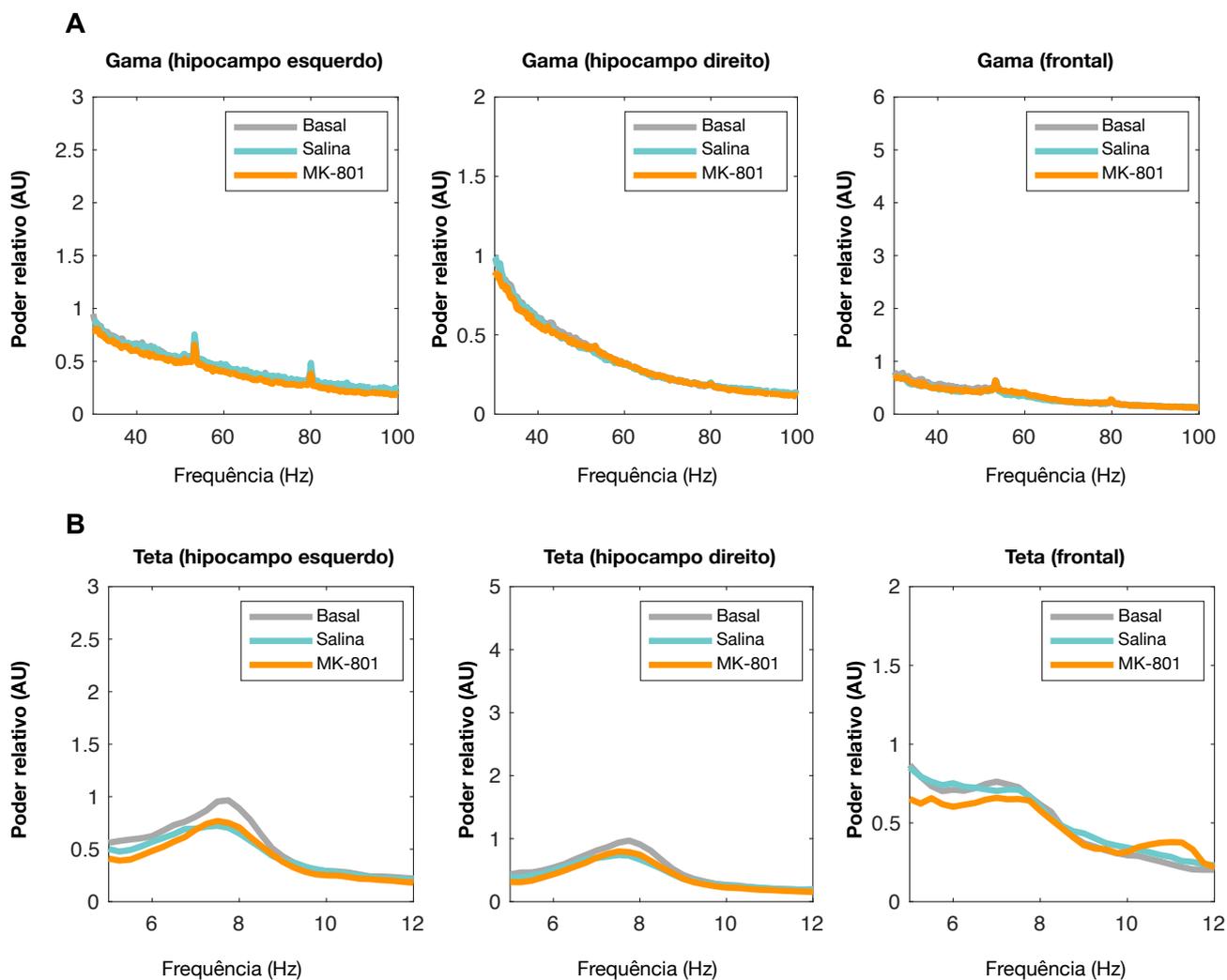
Figura 12. Aumento médio de poder relativo após injeção de 20 mg/kg de QUET. (A) Média entre indivíduos (A) da variação em ondas gama (aproximadamente 50-60 Hz) e (B) da variação em ondas teta (~8 Hz).



4.4 A administração de 0,1mg/kg MK-801 não teve efeito no poder de gama e teta

Devido ao fato da administração de MK-801 não ter resultado em um aumento na distância percorrida pelos animais, não foi possível detectar um aumento no poder teta sob esse tratamento, uma vez que está associada ao comportamento locomotor (LUBENOV; SIAPAS, 2009). Da mesma maneira, não foram encontradas alterações na amplitude das oscilações gama, correlacionadas à processamentos cognitivos superiores (SRIMAHARAJ et al., 2018). Os poderes relativos obtidos podem ser observados na Figura 13.

Figura 13. Média de poder relativo após injeção de 0,1 mg/kg de MK801. (A) Ondas gama; (B) Ondas teta.



4.5 Quetamina (20 mg/kg) e MK-801 (0,1 mg/kg) tiveram efeito pouco robusto no poder de HFO

Apesar do aumento de HFO ter sido demonstrado como possível consequência do bloqueio de NMDAr (GODA et al., 2015), este dado somente foi cumprido na análise individual de algumas sessões, tanto para QUET, quanto para MK-801 (Figura 15). Quando a análise de grupo foi realizada, não foi observada alteração no poder relativo de HFO em nenhum dos tratamentos. Na Figura 14, são apresentados os valores obtidos para HFO.

Figura 14. Exemplo da densidade de poder espectral encontrada sob efeito de MK-801 em um único indivíduo.

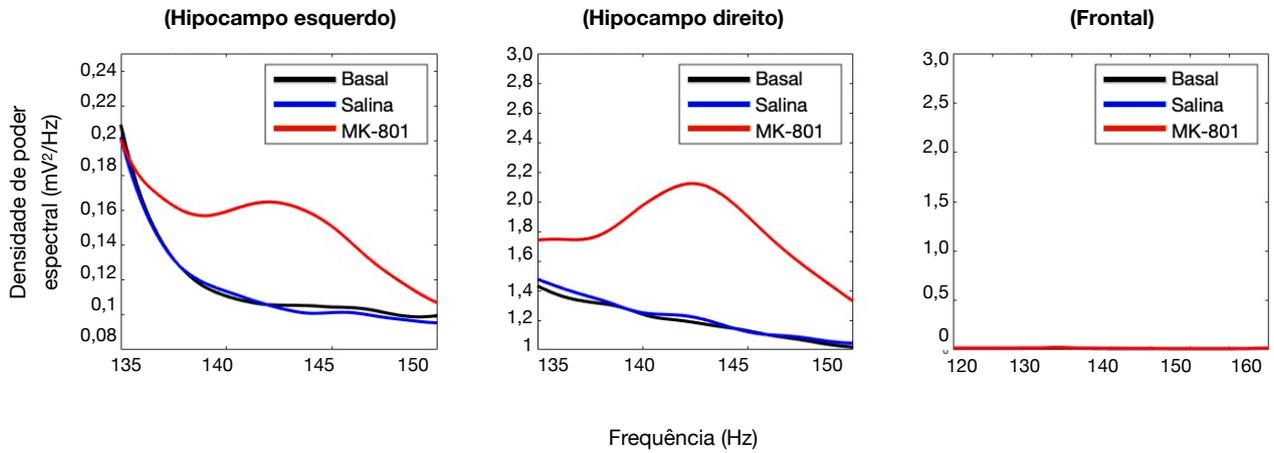
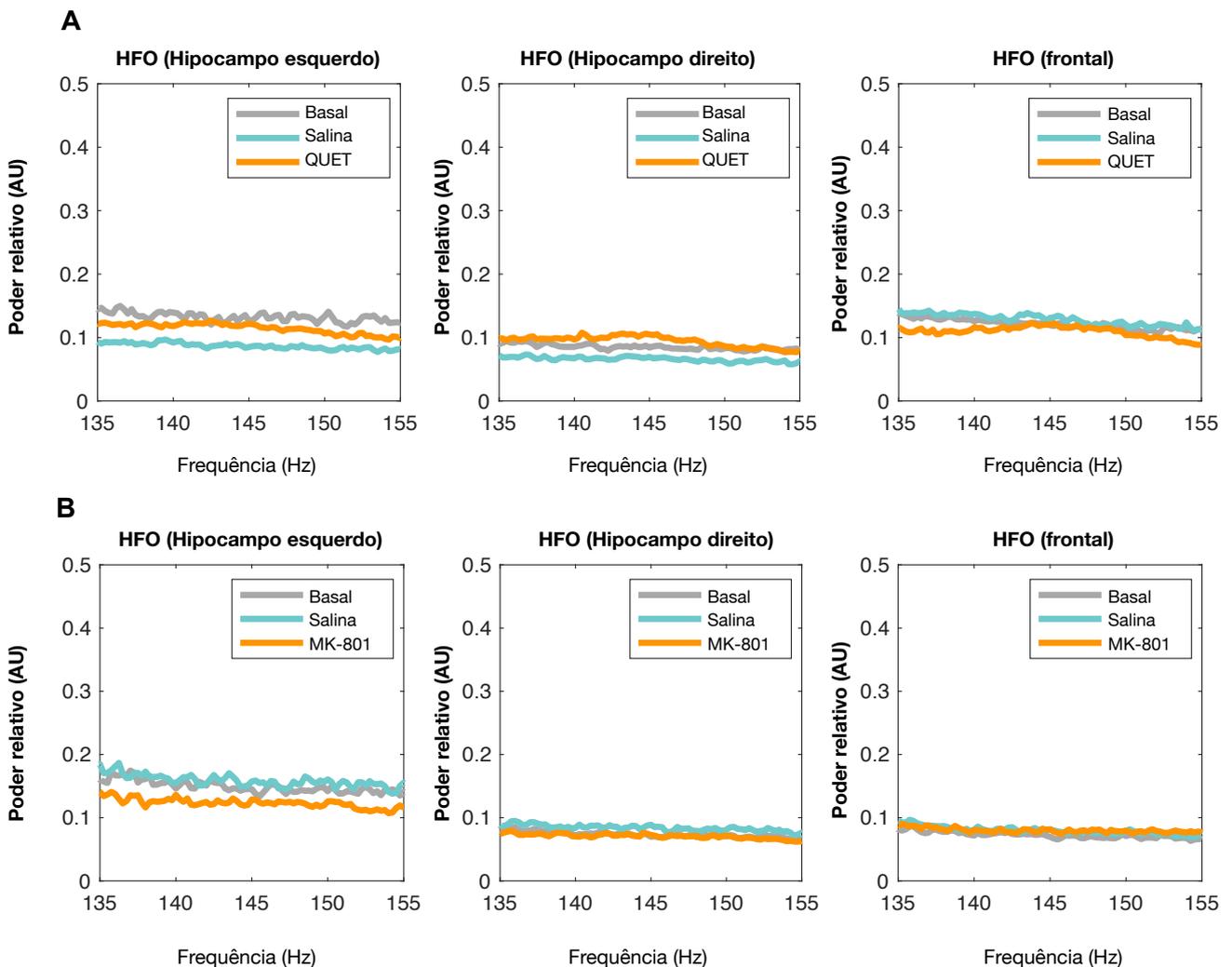


Figura 15. Média de poder relativo de HFO após injeção de (A) 20mg/kg de QUET ou (B) 0,1 mg/kg de MK-801.



5 DISCUSSÃO

Neste trabalho, foi estabelecida e apresentada a metodologia para cirurgia de implantação crônica de eletrodos para registro LFP, coleta e análise de dados em roedores para futuros experimentos do laboratório. Com base nos resultados da atividade elétrica apresentados neste estudo, concluímos que a metodologia empregada é adequada para realizar registros intracerebrais e avaliar suas correlações comportamentais.

Conforme mencionado anteriormente, a técnica de registro de LFP possibilita a coleta de dados eletrofisiológicos com maior precisão espacial. Se tratando de uma pesquisa sobre modelos farmacológicos da esquizofrenia, a possibilidade de avaliar a atividade em regiões cerebrais específicas é extremamente útil para melhor compreender a patologia.

Em relação à implantação do protocolo de coleta, os equipamentos utilizados cumpriram com os objetivos do delineamento experimental. Considerando que o estudo também se propôs a avaliar o padrão comportamental sob efeitos dos fármacos, o uso do equipamento sem fio foi essencial. O peso do *headset*, que não chega a 7g já com a bateria, reduz o impacto do equipamento na locomoção do animal e permite que análises de comportamento espontâneo sejam mais acuradas. Todavia, para a replicação deste protocolo no laboratório, é necessário um empenho para evitar a retirada forçada do transmissor pelos animais. É sugerido que, durante a cirurgia, seja anexado ao capacete de acrílico hastes que possam, durante os testes, servir de ancoragem para algum material elástico que firme o transmissor sobre a cabeça do animal, uma vez que comportamento de autolimpeza e movimentos sacádicos da cabeça, por vezes, desconectavam o equipamento.

Por fim, demonstramos que a dose aguda de QUET de 20 mg/kg é suficiente para gerar picos transientes nas oscilações teta e gama em registros realizados no hipocampo e CPF. Além disso, do ponto de vista comportamental, este tratamento também tem efeitos significativos sobre a locomoção dos sujeitos durante o pico de ação do fármaco.

5.1 Efeitos da quetamina

Os resultados obtidos vão ao encontro do trabalho de referência (CAIXETA et al., 2013) em relação ao aumento de ondas gama e teta e hiperlocomoção após a administração de QUET a 20 mg/kg. Os mesmos dados também são congruentes com demais estudos dos efeitos de QUET (RAZOUX; GARCIA; LÉNA, 2007; NICOLÁS et al., 2011; KITTELBERGER et al., 2012; QI et al., 2018). A heterogeneidade dos dados de HFO pode ter ocorrido pela variação no posicionamento dos eletrodos de profundidade, que divergiram levemente nas camadas atingidas da formação hipocampal (ver Figura 8).

Levando em consideração o envolvimento da hiperdopaminergia na sintomatologia da esquizofrenia, é possível avaliar os modelos animais com base em comportamentos influenciados pela atividade dopaminérgica, o que confere uma validade por constructo ao modelo, i.e. replica a teoria neurobiológica da patologia (VAN DEN BUUSE, 2010; JONES; WATSON; FONE, 2011). Desta maneira, embora o mecanismo subjacente aos modelos de bloqueio de NMDAr e na esquizofrenia serem o mesmo, os comportamentos apresentados são diferentes (VAN DEN BUUSE, 2010). Apesar do antagonismo farmacológico de NMDAr não induzir hiperlocomoção em humanos e primatas não humanos, o teste de locomoção em roedores se baseia na premissa de que a atividade dopaminérgica em roedores é diretamente proporcional à atividade motora (TAKAHATA; MOGHADDAM, 2003; VAN DEN BUUSE, 2010).

Mesmo que o aumento de gama e de distância percorrida na arena tenham sido simultâneos, não podemos estabelecer relações causais entre eles, uma vez que a atividade de gama é realçada em diferentes estados de sedação (HAKAMI et al., 2009) e foi comprovada por Caixeta et al. (2013), principalmente em doses mais altas de QUET. Apesar disso, o aumento da locomoção induzido pela administração de QUET é congruente com os sintomas positivos associados à hiperdopaminergia mesolímbica. De acordo com a síntese das hipóteses neuroquímicas da esquizofrenia (ver Figura 1), a hiperatividade dopaminérgica teria origem na disfunção dos NMDAr do hipocampo. Desta forma, os presentes resultados sugerem que as variações de poder espectral registradas são, de fato, indicativas da participação do hipocampo em sintomas positivos induzidos pelo bloqueio glutamatérgico da QUET.

Sobre a via mesocortical, o presente trabalho não incluiu testes de correlatos dos sintomas negativos ou cognitivos. Desta maneira, não é possível traçar uma correlação entre o aumento do poder espectral das ondas gama e teta encontradas no CPF

induzidas pela administração de QUET com possíveis alterações comportamentais. No entanto, a variação encontrada é comparável àquelas vista no hipocampo para ambas as bandas de frequência, o que sugere um papel semelhante da QUET neste modelo.

Embora a esquizofrenia apresente sintomas relacionados a diversas estruturas com alterações na conectividade que geram déficits cognitivos, o hipocampo tem sido estudado como um componente importante da fisiopatologia (KALWEIT et al., 2017). Evidências na literatura indicam que os ritmos teta gerados no hipocampo modulam a amplitude de HFO que, por sua vez, afeta o padrão de disparos na ATV e demais áreas do circuito mesolímbico (PITTMAN-POLLETTA; HU; KOCSIS, 2018). Essas alterações estão relacionadas aos sintomas esquizotípicos, conforme demonstrado na Figura 2.

Como apresentado anteriormente, oscilações teta ocorrem em períodos ativos de ratos, e são fortemente relacionadas, por exemplo, ao processamento visuoespacial, sensoriomotor, e à formação de memórias, pelo qual o hipocampo é responsável (KARAKAŞ, 2021). Por esse motivo, os dados obtidos que demonstram um aumento do poder relativo de teta no hipocampo são condizentes com a intensificação de processamento nesta região. Porém, ondas teta não são exclusivas do hipocampo, e atuam no encéfalo de maneira global, também por meio de modulação de ondas de alta frequência (TORT et al., 2008; KARAKAŞ, 2021).

O CPF medial interage com o hipocampo em funções relacionadas à memória de trabalho, tomada de decisão e atenção (MILLER; COHEN, 2001). Vários estudos confirmaram que ambas as regiões são ativadas de maneira coerente (BENCHENANE et al., 2010; ZIELINSKI; SHIN; JADHAV, 2019). Colgin (2011) explica em sua revisão que a amplitude das ondas gama no hipocampo é modulada não apenas temporalmente pelas ondas teta, mas também espacialmente por disparos no CPF medial. Os resultados aqui apresentados indicam a existência de ambas oscilações concomitantes no hipocampo e no CPF, porém, análises futuras dos dados coletados são necessárias para avaliar possíveis interações de fase e, também, acoplamento de frequências.

Em conjunto com ondas teta no hipocampo, as ondas gama não apenas têm papel na sincronização de oscilações de populações locais de neurônios, mas também participam de processos de integração cognitiva que são deficientes em pacientes com esquizofrenia (CURLEY; LEWIS, 2012; DU et al., 2023; HAAF et al., 2023). As alterações observadas nas ondas gama em pacientes são consequência do desbalanço E/I em

interneurônios PV⁺ via NMDAr, efeitos também encontrados no bloqueio farmacológico de NMDAr (HAAF et al., 2023).

Portanto, modelos farmacológicos em animais, tais como o utilizado nesse estudo, têm potencial translacional para identificar biomarcadores relacionados aos prejuízos no balanço E/I, bem como para testes pré-clínicos de tratamento para os sintomas apresentados no distúrbio.

5.2 Efeitos da dizocilpina

A dose utilizada de MK-801 não foi suficiente para induzir a hiperlocomoção observada após administração de antagonistas de NMDAr. Embora a dose de 0,1 mg/kg tenha sido escolhida com base em trabalhos anteriores que encontraram esse efeito (JACKSON et al., 2004; CLEMENTS; GREENSHOW, 2005; SVOBODA et al., 2015; LIAN et al., 2018), uma possível explicação é o efeito dependente da dose e da idade, que foi relatado por Pešić e colaboradores (2010): 0,1 mg/kg de MK-801 gerou hiperlocomoção e estereotipia em ratos em peripuberdade (35-37 dias) e em puberdade (47-49 dias), mas não ratos adultos (85-90 dias). Considerando que os testes comportamentais se iniciaram 119 dias após o nascimento dos ratos, todos já haviam atingido a idade adulta.

Em contrapartida, Zou e colaboradores (2019) constataram que a administração de 0,5 mg/kg, seja de forma aguda ou por seis dias consecutivos, não produziu alterações no metabolismo ou na liberação de glutamato no CPF medial de ratos adultos com cerca de 100 dias de idade, ao contrário do que foi observado em ratos com 30 dias. Nos ratos jovens, foram encontrados aumentos na liberação de glutamato e estresse oxidativo, bem como a ocorrência de astrocitose (ZOU et al., 2019). Portanto, esses dados sugerem que o MK-801 possui um efeito idade-dependente em ratos, o que pode ter interferido nos dados obtidos neste estudo.

Em relação aos efeitos de QUET em relação à idade, encontramos resultados que indicam hiperatividade após injeção de 10 mg/kg em ratos machos e fêmeas de 22 dias, fêmeas de 35 dias, mas não em machos e fêmeas de 50 dias (WILSON et al., 2007). Porém, os autores avaliaram comportamentos como elevação, giros, e não locomotor. Pode-se argumentar que a dose não foi suficiente para alterar o comportamento nos ratos adultos, mas faltam dados na literatura que enderecem efeitos da idade na administração de QUET.

É importante considerar que a literatura apresenta inconsistências nos protocolos de bloqueio do modelo de NMDAr pelo MK-801. Por exemplo, Kim et al. (2023) registraram hiperlocomoção em ratos com uma dose de 0,05 mg/kg, mas apenas após exposição aguda pré-natal (no dia 17 de gestação) de 30 mg/kg de QUET ou 15 mg/kg de metoxetamina. Por outro lado, doses agudas de 0,3 mg/kg (ŽMUDZKA et al., 2022) e até 0,15 mg/kg (MCELROY et al., 2021), tratamentos de 0,2 mg/kg por 14 dias (LIU et al., 2022), são amplamente replicados e produzem efeitos consistentes de locomoção, bem como aumento de gama (PINAULT, 2008; HIYOSHI et al., 2014; HUDSON et al., 2020) e redução de teta (KISS et al., 2013; ZEPEDA et al., 2022).

Ainda que já tenha sido relatado que uma dose de 0,1 mg/kg de MK-801 pode ser suficiente para produzir efeitos locomotores, pesquisadores sugerem que doses $\geq 0,2$ mg/kg produzem efeitos comportamentais mais pronunciados (HUNT; FALINSKA; KASICKI, 2010; HILLHOUSE et al., 2018). No entanto, Scorza et al. (2008) não encontraram hiperlocomoção, mas uma diminuição significativa de elevações — uma medida de comportamento exploratório — em animais tratados com 0,1 mg/kg de MK-801. Uma vez que demonstraram que são dois comportamentos independentes, é possível que a análise de comportamentos espontâneos no presente estudo revele novos resultados.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente trabalho apresenta os esforços de implementação de cirurgias estereotáxicas com implantes de profundidade e de registro LFP no Laboratório de Neurociência, Metabolismo e Comportamento (IB/UnB). Nesse sentido, a técnica cirúrgica e manufatura dos eletrodos foram exitosas na implantação e coleta de dados eletrofisiológicos.

O estudo apresentou algumas limitações, como uma amostra reduzida devido às perdas ocorridas após as intervenções cirúrgicas, possivelmente relacionadas ao protocolo anestésico utilizado. Portanto, para uma futura replicação do estudo, seria interessante que o protocolo anestésico fosse modificado, com o uso de fármacos que possuam reversores dos efeitos sedativos (como por exemplo, medetomidina e atipamezole). Além disso, o delineamento experimental crônico resultou em um tempo total de coleta excessivamente prolongado. Como discutido anteriormente, a idade avançada dos animais — submetidos aos testes a partir de 4 meses — pode ter influenciado os dados coletados. As análises histológicas também foram prejudicadas por intercorrências que ocorreram durante o uso do criostato, no qual dano tecidual foi causado e a verificação do alvo frontal não foi realizada plenamente. Por fim, a retirada do transmissor pelos animais durante os testes interferiu negativamente com os dados eletrofisiológicos registrados e dificultou a manipulação e automatização da análise dos dados.

Outras análises exploratórias ainda podem ser realizadas a partir dos registros de sinal LFP obtido, como a sincronia de fase e acoplamento de frequências. Há também a possibilidade de avaliar se há mudança na incidência de comportamentos espontâneos, e correlacioná-los aos padrões de onda encontrados ao longo do tempo.

Finalmente, os achados aqui discutidos dão suporte aos resultados de que o bloqueio do NMDAr causado por antagonistas farmacológicos causa perturbações na atividade eletrofisiológica do encéfalo de maneira semelhante às encontradas em pacientes com esquizofrenia. Levando em consideração o papel desempenhado por neurônios PV+ na geração de oscilações e seu envolvimento nas hipóteses farmacológicas do distúrbio, sua modulação por meio do modelo de hipofunção do NMDAr pode ajudar a esclarecer as redes subjacentes associadas à psicose e demais sintomas (HUNT et al., 2011; KOCSIS et al., 2013).

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMS, Rick A. et al. Impaired theta phase coupling underlies frontotemporal dysconnectivity in schizophrenia. **Brain**, v. 143, n. 4, p. 1261-1277, 2020.

ADELL, Albert et al. Is the acute NMDA receptor hypofunction a valid model of schizophrenia?. **Schizophrenia bulletin**, v. 38,1: 9-14, 2012.

ADLER, Caleb M. et al. Comparison of ketamine-induced thought disorder in healthy volunteers and thought disorder in schizophrenia. **American Journal of Psychiatry**, v. 156, n. 10, p. 1646-1649, 1999.

AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION et al. DSM-5: Manual diagnóstico e estatístico de transtornos mentais. Artmed Editora, 2014.

ANDERSON, Paul M. et al. Chronic administration of antipsychotics attenuates ongoing and ketamine-induced increases in cortical γ oscillations. **International Journal of Neuropsychopharmacology**, v. 17, n. 11, p. 1895-1904, 2014.

ANDREASEN, Nancy C.; OLSEN, Scott. Negative v positive schizophrenia: Definition and validation. **Archives of general psychiatry**, v. 39, n. 7, p. 789-794, 1982.

ANDREASEN, Nancy C. Symptoms, signs, and diagnosis of schizophrenia. **Lancet** 346: 477–481, 1995.

ANVER, Himashi et al. NMDA receptor hypofunction phase couples independent γ -oscillations in the rat visual cortex. **Neuropsychopharmacology**, v. 36, n. 2, p. 519-528, 2011.

BEAR, Mark F.; CONNORS, Barry W.; PARADISO, Michael A. **Neurociências: desvendando o sistema nervoso**. Artmed editora, 2017.

BENCHENANE, Karim et al. Coherent theta oscillations and reorganization of spike timing in the hippocampal-prefrontal network upon learning. **Neuron**, v. 66, n. 6, p. 921-936, 2010.

BERGER, Hans. Über das elektrenkephalogramm des menschen. **DMW-Deutsche Medizinische Wochenschrift**, v. 60, n. 51, p. 1947-1949, 1934.

BIRD, J. M. Computed tomographic brain studies and treatment response in schizophrenia. **The Canadian Journal of Psychiatry**, v. 30, n. 4, p. 251-254, 1985.

BOUTROS, Nash N. et al. The status of spectral EEG abnormality as a diagnostic test for schizophrenia. **Schizophrenia research**, v. 99, n. 1-3, p. 225-237, 2008.

BOZER, Amber L.H.; UHELSKI, Megan L.; LI, Ai-Ling. Extrapolating meaning from local field potential recordings. **Journal of Integrative Neuroscience**, v. 16, n. 1, p. 107-126, 2017.

- BREIER, Alan et al. Effects of NMDA antagonism on striatal dopamine release in healthy subjects: application of a novel PET approach. **Synapse**, v. 29, n. 2, p. 142-147, 1998.
- BRISCH, Ralf et al. The role of dopamine in schizophrenia from a neurobiological and evolutionary perspective: old fashioned, but still in vogue. **Frontiers in psychiatry**, v. 5, p. 47, 2014.
- BUZSÁKI, György et al. Hippocampal network patterns of activity in the mouse. **Neuroscience**, v. 116, n. 1, p. 201-211, 2003.
- BUZSÁKI, György; DRAGUHN, Andreas. Neuronal oscillations in cortical networks. **science**, v. 304, n. 5679, p. 1926-1929, 2004.
- BUZSÁKI, György. **Rhythms of the Brain**. Oxford university press, 2006.
- BUZSÁKI, György; WANG, Xiao-Jing. Mechanisms of gamma oscillations. **Annual review of neuroscience**, v. 35, p. 203-225, 2012.
- BUZSÁKI, György; WATSON, Brendon O. Brain rhythms and neural syntax: implications for efficient coding of cognitive content and neuropsychiatric disease. **Dialogues in clinical neuroscience**, 2012.
- BUZSÁKI, György; ANASTASSIOU, Costas A.; KOCH, Christof. The origin of extracellular fields and currents—EEG, ECoG, LFP and spikes. **Nature reviews neuroscience**, v. 13, n. 6, p. 407-420, 2012.
- BUZSÁKI, György; LOGOTHETIS, Nikos; SINGER, Wolf. Scaling brain size, keeping timing: evolutionary preservation of brain rhythms. **Neuron**, v. 80, n. 3, p. 751-764, 2013.
- CAGNI, Priscila et al. Diazepam-induced decrease in anxiety-like behaviors of marmoset monkeys exposed to a novel open-field. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 100, n. 3, p. 518-521, 2012.
- CAIXETA, Fábio V. et al. Ketamine alters oscillatory coupling in the hippocampus. **Scientific reports**, v. 3, n. 1, p. 1-10, 2013.
- CANOLTY, Ryan T. et al. High gamma power is phase-locked to theta oscillations in human neocortex. **Science**, v. 313, n. 5793, p. 1626-1628, 2006.
- CANOLTY, Ryan T.; KNIGHT, Robert T. The functional role of cross-frequency coupling. **Trends in cognitive sciences**, v. 14, n. 11, p. 506-515, 2010.
- CATENA-DELL'OSSO, Mario et al. Glutamate system as target for development of novel antidepressants. **CNS spectrums**, v. 18, n. 4, p. 188-198, 2013.
- CHO, R. Y.; KONECKY, R. O.; CARTER, Cameron S. Impairments in frontal cortical γ synchrony and cognitive control in schizophrenia. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 103, n. 52, p. 19878-19883, 2006.

CLEMENTS, Robert LH; GREENSHAW, Andrew J. Differential effects of 7-OH-DPAT and apomorphine on hyperactivity induced by MK-801 (dizocilpine) in rats. **Neuropharmacology**, v. 49, n. 7, p. 1007-1016, 2005.

COHEN, Mike X. Cycles in mind: How brain rhythms control perception and action. **Sinc(x) press**. Edição do Kindle, 2015.

COLGIN, Laura Lee. Oscillations and hippocampal–prefrontal synchrony. **Current opinion in neurobiology**, v. 21, n. 3, p. 467-474, 2011.

CURLEY, Allison A.; LEWIS, David A. Cortical basket cell dysfunction in schizophrenia. **The Journal of physiology**, v. 590, n. 4, p. 715-724, 2012.

DAVIES, Stephen N. et al. Differences in results from in vivo and in vitro studies on the use-dependency of N-methylaspartate antagonism by MK-801 and other phencyclidine receptor ligands. **European journal of pharmacology**, v. 145, n. 2, p. 141-151, 1988.

DAVIS, Kenneth L. et al. Dopamine in schizophrenia: a review and reconceptualization. **The American journal of psychiatry**, 1991.

DE JONGE, Jeroen C. et al. GABAergic mechanisms in schizophrenia: linking postmortem and in vivo studies. **Frontiers in Psychiatry**, v. 8, p. 118, 2017.

DE LA FUENTE-SANDOVAL, Camilo et al. Higher levels of glutamate in the associative-striatum of subjects with prodromal symptoms of schizophrenia and patients with first-episode psychosis. **Neuropsychopharmacology**, v. 36, n. 9, p. 1781, 2011.

DOMINO, Edward F. Taming The Ketamine Tiger. **Anesthesiology: The Journal Of The American Society Of Anesthesiologists**, V. 113, N. 3, P. 678-684, 2010.

DU, Xiaoming et al. Cortical connectomic mediations on gamma band synchronization in schizophrenia. **Translational Psychiatry**, v. 13, n. 1, p. 13, 2023.

ENOMOTO, Takeshi; MARIC, T. Tse; FLORESCO, Stan B. Reducing prefrontal gamma-aminobutyric acid activity induces cognitive, behavioral, and dopaminergic abnormalities that resemble schizophrenia. **Biological psychiatry**, v. 69, n. 5, p. 432-441, 2011.

FERRARELLI, Fabio. Endophenotypes And Biological Markers Of Schizophrenia: From Biological Signs Of Illness To Novel Treatment Targets. **Current Pharmaceutical Design**, V. 19, N. 36, P. 6462-6479, 2013.

FIELD, Julie R.; WALKER, Adam G.; CONN, P. Jeffrey. Targeting glutamate synapses in schizophrenia. **Trends in molecular medicine**, v. 17, n. 12, p. 689-698, 2011.

FUJIKAWA, Risako; YAMADA, Jun; JINNO, Shozo. Subclass imbalance of parvalbumin-expressing GABAergic neurons in the hippocampus of a mouse ketamine model for schizophrenia, with reference to perineuronal nets. **Schizophrenia research**, v. 229, p. 80-93, 2021.

- GODA, Sailaja A. et al. Aberrant high frequency oscillations recorded in the rat nucleus accumbens in the methylazoxymethanol acetate neurodevelopmental model of schizophrenia. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, v. 61, p. 44-51, 2015.
- GONZALEZ-BURGOS, Guillermo; LEWIS, David A. GABA neurons and the mechanisms of network oscillations: implications for understanding cortical dysfunction in schizophrenia. **Schizophrenia bulletin**, v. 34, n. 5, p. 944-961, 2008.
- GONZALEZ-BURGOS, Guillermo; LEWIS, David A. NMDA receptor hypofunction, parvalbumin-positive neurons, and cortical gamma oscillations in schizophrenia. **Schizophrenia bulletin**, v. 38, n. 5, p. 950-957, 2012.
- GRENT-'T-JONG, Tineke et al. Acute ketamine dysregulates task-related gamma-band oscillations in thalamo-cortical circuits in schizophrenia. **Brain**, v. 141, n. 8, p. 2511-2526, 2018.
- GRÜTZNER, Christine et al. Deficits in high-(> 60 Hz) gamma-band oscillations during visual processing in schizophrenia. **Frontiers in human neuroscience**, v. 7, p. 88, 2013.
- GUERRIN, Cyprien GJ et al. The dual hit hypothesis of schizophrenia: Evidence from animal models. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 131, p. 1150-1168, 2021.
- GÜNTHER, Anne; HANGANU-OPATZ, Ileana L. Neuronal oscillations: early biomarkers of psychiatric disease?. **Frontiers in Behavioral Neuroscience**, 2022.
- GURURAJAN, Anand; TAYLOR, David Alan; MALONE, Daniel Thomas. Effect of cannabidiol in a MK-801-rodent model of aspects of schizophrenia. **Behavioural brain research**, v. 222, n. 2, p. 299-308, 2011.
- HAAF, Moritz et al. Opposite Modulation of the NMDA Receptor by Glycine and S-Ketamine and the Effects on Resting State EEG Gamma Activity: New Insights into the Glutamate Hypothesis of Schizophrenia. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 24, n. 3, p. 1913, 2023.
- HAKAMI, Tahir et al. NMDA receptor hypofunction leads to generalized and persistent aberrant γ oscillations independent of hyperlocomotion and the state of consciousness. **PloS one**, v. 4, n. 8, p. 6755, 2009.
- HARDER, J. A. et al. Learning impairments induced by glutamate blockade using dizocilpine (MK-801) in monkeys. **British journal of pharmacology**, v. 125, n. 5, p. 1013-1018, 1998.
- HASSEL, Bjørnar; DINGLELINE, Raymond. Glutamate and glutamate receptors. In: **Basic Neurochemistry**. Academic Press, 2012. p. 342-366.
- HERRERAS, Oscar. Local field potentials: myths and misunderstandings. **Frontiers in neural circuits**, v. 10, p. 101, 2016.

HILLHOUSE, Todd M. et al. Vortioxetine differentially modulates MK-801-induced changes in visual signal detection task performance and locomotor activity. **Frontiers in Pharmacology**, v. 9, p. 1024, 2018.

HIYOSHI, T. et al. Involvement of glutamatergic and GABAergic transmission in MK-801-increased gamma band oscillation power in rat cortical electroencephalograms. **Neuroscience**, v. 280, p. 262-274, 2014.

HONG, L. Elliot et al. Gamma and delta neural oscillations and association with clinical symptoms under subanesthetic ketamine. **Neuropsychopharmacology**, v. 35, n. 3, p. 632-640, 2010.

HOWES, Oliver D. et al. Pathways to schizophrenia: the impact of environmental factors. **International Journal of Neuropsychopharmacology**, v. 7, n. Supplement_1, p. S7-S13, 2004.

HOWES, Oliver D. et al. Pathways to schizophrenia: the impact of environmental factors. **International Journal of Neuropsychopharmacology**, v. 7, n. Supplement_1, p. S7-S13, 2004.

HOWES, Oliver D.; KAPUR, Shitij. The dopamine hypothesis of schizophrenia: version III—the final common pathway. **Schizophrenia bulletin**, v. 35, n. 3, p. 549-562, 2009.

HUDSON, Matthew R. et al. NMDA receptors on parvalbumin-positive interneurons and pyramidal neurons both contribute to MK-801 induced gamma oscillatory disturbances: Complex relationships with behaviour. **Neurobiology of disease**, v. 134, p. 104625, 2020.

HUNT, M. J.; FALINSKA, M.; KASICKI, S. Local injection of MK801 modifies oscillatory activity in the nucleus accumbens in awake rats. **Journal of psychopharmacology**, v. 24, n. 6, p. 931-941, 2010.

HUNT, Mark J. et al. Differential effects produced by ketamine on oscillatory activity recorded in the rat hippocampus, dorsal striatum and nucleus accumbens. **Journal of Psychopharmacology**, v. 25, n. 6, p. 808-821, 2011.

IMRE, Gabor et al. Dose–response characteristics of ketamine effect on locomotion, cognitive function and central neuronal activity. **Brain research bulletin**, v. 69, n. 3, p. 338-345, 2006.

ITIL, T. M.; SALETU, B.; DAVIS, S. EEG findings in chronic schizophrenics based on digital computer period analysis and analog power spectra. **Biological Psychiatry**, 1972.

JABLENSKY, Assen. The diagnostic concept of schizophrenia: its history, evolution, and future prospects. **Dialogues in clinical neuroscience**, 2010.

JACOBSEN, M. E. et al. MK-801 reduces sensitivity to Müller-Lyer's illusion in capuchin monkeys. **Behavioural brain research**, v. 316, p. 54-58, 2017.

JACKSON, Mark E et al. NMDA receptor hypofunction produces concomitant firing rate potentiation and burst activity reduction in the prefrontal cortex. **Proceedings of the**

National Academy of Sciences of the United States of America v. 101, 22: 8467-72, 2004.

JAVITT, Daniel C.; ZUKIN, Stephen R. Recent advances in the phencyclidine model of schizophrenia. **The American journal of psychiatry**, 1991.

JENSEN, Kimmo et al. GABA transporter-1 (GAT1)-deficient mice: differential tonic activation of GABAA versus GABAB receptors in the hippocampus. **Journal of Neurophysiology**, v. 90, n. 4, p. 2690-2701, 2003.

JENTSCH, J. David; ROTH, Robert H. The neuropsychopharmacology of phencyclidine: from NMDA receptor hypofunction to the dopamine hypothesis of schizophrenia. **Neuropsychopharmacology**, v. 20, n. 3, p. 201-225, 1999.

JONES, Ca A.; WATSON, D. J. G.; FONE, KCF3229756. Animal models of schizophrenia. **British journal of pharmacology**, v. 164, n. 4, p. 1162-1194, 2011.

KAAR, Stephen J. et al. Pre-frontal parvalbumin interneurons in schizophrenia: a meta-analysis of post-mortem studies. **Journal of Neural Transmission**, v. 126, n. 12, p. 1637-1651, 2019.

KALWEIT, Alexander N. et al. Changes in neuronal oscillations accompany the loss of hippocampal LTP that occurs in an animal model of psychosis. **Frontiers in Behavioral Neuroscience**, v. 11, p. 36, 2017.

KANTROWITZ, Joshua T.; JAVITT, Daniel C. N-methyl-d-aspartate (NMDA) receptor dysfunction or dysregulation: the final common pathway on the road to schizophrenia?. **Brain research bulletin**, v. 83, n. 3-4, p. 108-121, 2010.

KARAKAŞ, Sirel. A review of theta oscillation and its functional correlates. **International Journal of Psychophysiology**, v. 157, p. 82-99, 2020.

KEGELES, Lawrence S. et al. Modulation of amphetamine-induced striatal dopamine release by ketamine in humans: implications for schizophrenia. **Biological psychiatry**, v. 48, n. 7, p. 627-640, 2000.

KILTS, Clinton D. The changing roles and targets for animal models of schizophrenia. **Biological psychiatry**, v. 50, n. 11, p. 845-855, 2001

KIM, J. S. et al. Low cerebrospinal fluid glutamate in schizophrenic patients and a new hypothesis on schizophrenia. **Neuroscience letters**, v. 20, n. 3, p. 379-382, 1980.

KIM, Aeseul et al. Prenatal ketamine exposure impairs prepulse inhibition via arginine vasopressin receptor 1A-mediated GABAergic neuronal dysfunction in the striatum. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 160, p. 114318, 2023.

KIRIHARA, Kenji et al. Hierarchical organization of gamma and theta oscillatory dynamics in schizophrenia. **Biological psychiatry**, v. 71, n. 10, p. 873-880, 2012.

KISS, T. et al. Rhythmic theta and delta activity of cortical and hippocampal neuronal networks in genetically or pharmacologically induced N-methyl-D-aspartate receptor hypofunction under urethane anesthesia. **Neuroscience**, v. 237, p. 255-267, 2013.

KITTELBERGER, Kara et al. Comparison of the effects of acute and chronic administration of ketamine on hippocampal oscillations: relevance for the NMDA receptor hypofunction model of schizophrenia. **Brain Structure and Function**, v. 217, p. 395-409, 2012.

KOCSIS, Bernat et al. Impact of ketamine on neuronal network dynamics: translational modeling of schizophrenia-relevant deficits. **CNS neuroscience & therapeutics**, v. 19, n. 6, p. 437-447, 2013.

KOZELA, Ewa et al. Cannabidiol improves cognitive impairment and reverses cortical transcriptional changes induced by ketamine, in schizophrenia-like model in rats. **Molecular Neurobiology**, v. 57, p. 1733-1747, 2020.

KRUSE, Andreas O.; BUSTILLO, Juan R. Glutamatergic dysfunction in Schizophrenia. **Translational Psychiatry**, v. 12, n. 1, p. 500, 2022.

KRYSTAL, John H. et al. Subanesthetic effects of the noncompetitive NMDA antagonist, ketamine, in humans: psychotomimetic, perceptual, cognitive, and neuroendocrine responses. **Archives of general psychiatry**, v. 51, n. 3, p. 199-214, 1994.

LAHTI, Adrienne C. et al. Subanesthetic doses of ketamine stimulate psychosis in schizophrenia. **Neuropsychopharmacology**, v. 13, n. 1, p. 9-19, 1995.

LAHTI, Adrienne C.; REID, Meredith A. Is there evidence for neurotoxicity in the prodromal and early stages of schizophrenia?. **Neuropsychopharmacology**, v. 36, n. 9, p. 1779, 2011.

LARSON, Molly K.; WALKER, Elaine F.; COMPTON, Michael T. Early signs, diagnosis and therapeutics of the prodromal phase of schizophrenia and related psychotic disorders. **Expert review of neurotherapeutics**, v. 10, n. 8, p. 1347-1359, 2010.

LAZARUS, Matthew S.; KRISHNAN, Keerthi; HUANG, Z. Josh. GAD67 deficiency in parvalbumin interneurons produces deficits in inhibitory transmission and network disinhibition in mouse prefrontal cortex. **Cerebral cortex**, v. 25, n. 5, p. 1290-1296, 2015.

LEWIS, David A.; LIEBERMAN, Jeffrey A. Catching up on schizophrenia: natural history and neurobiology. **Neuron**, v. 28, n. 2, p. 325-334, 2000.

LEWIS, David A.; HASHIMOTO, Takanori; VOLK, David W. Cortical inhibitory neurons and schizophrenia. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 6, n. 4, p. 312-324, 2005.

LEWIS, David A. et al. Cortical parvalbumin interneurons and cognitive dysfunction in schizophrenia. **Trends in neurosciences**, v. 35, n. 1, p. 57-67, 2012.

LIAN, Bin et al. Object, spatial and social recognition testing in a single test paradigm. **Neurobiology of Learning and Memory**, v. 152, p. 39-49, 2018.

LINKENKAER-HANSEN, Klaus et al. Genetic contributions to long-range temporal correlations in ongoing oscillations. **Journal of Neuroscience**, v. 27, n. 50, p. 13882-13889, 2007.

LISMAN, John; BUZSÁKI, György. A neural coding scheme formed by the combined function of gamma and theta oscillations. **Schizophrenia bulletin**, v. 34, n. 5, p. 974-980, 2008.

LIU, Xinyao et al. Protective Effects of Shi-Zhen-An-Shen Decoction on the Cognitive Impairment in MK801-Induced Schizophrenia Model. **Journal of Integrative Neuroscience**, v. 21, n. 6, p. 164, 2022.

LÓPEZ-GIL, Xavier et al. Clozapine and haloperidol differently suppress the MK-801-increased glutamatergic and serotonergic transmission in the medial prefrontal cortex of the rat. **Neuropsychopharmacology**, v. 32, n. 10, p. 2087, 2007.

LUBY, Elliot D. et al. Study of a new schizophrenomimetic drug—Sernyl. **AMA Archives of Neurology & Psychiatry**, v. 81, n. 3, p. 363-369, 1959.

LUTKENHOFF, E. S. et al. Proton MRS in twin pairs discordant for schizophrenia. **Molecular psychiatry**, v. 15, n. 3, p. 308, 2010.

MARTIN, Peter; CARLSSON, Maria L.; HJORTH, Stephan. Systemic PCP treatment elevates brain extracellular 5-HT: a microdialysis study in awake rats. **Neuroreport**, v. 9, n. 13, p. 2985-2988, 1998

MAO, C. V. et al. A primate model of schizophrenia using chronic PCP treatment. **Reviews in the Neurosciences**, v. 19, n. 2-3, p. 83-90, 2008.

MATULEWICZ, Pawel; KASICKI, Stefan; HUNT, Mark Jeremy. The effect of dopamine receptor blockade in the rodent nucleus accumbens on local field potential oscillations and motor activity in response to ketamine. **Brain Research**, v. 1366, p. 226-232, 2010.

MCCUTCHEON, Robert A.; ABI-DARGHAM, Anissa; HOWES, Oliver D. Schizophrenia, dopamine and the striatum: from biology to symptoms. **Trends in neurosciences**, v. 42, n. 3, p. 205-220, 2019.

MCELROY, Dan L. et al. Antipsychotic potential of the type 1 cannabinoid receptor positive allosteric modulator GAT211: Preclinical in vitro and in vivo studies. **Psychopharmacology**, v. 238, p. 1087-1098, 2021.

MCNALLY, James M. et al. Complex receptor mediation of acute ketamine application on in vitro gamma oscillations in mouse prefrontal cortex: modeling gamma band oscillation abnormalities in schizophrenia. **Neuroscience**, v. 199, p. 51-63, 2011.

MESSIAS, Erick L.; CHEN, Chuan-Yu; EATON, William W. Epidemiology of schizophrenia: review of findings and myths. **Psychiatric Clinics of North America**, v. 30, n. 3, p. 323-338, 2007.

MEYER-LINDENBERG, Andreas S. et al. Regionally specific disturbance of dorsolateral prefrontal–hippocampal functional connectivity in schizophrenia. **Archives of general psychiatry**, v. 62, n. 4, p. 379-386, 2005.

MILLAN, Mark J. et al. Cognitive dysfunction in psychiatric disorders: characteristics, causes and the quest for improved therapy. **Nature reviews Drug discovery**, v. 11, n. 2, p. 141-168, 2012.

MILLER, Earl K.; COHEN, Jonathan D. An integrative theory of prefrontal cortex function. **Annual review of neuroscience**, v. 24, n. 1, p. 167-202, 2001.

MONTE, Aline Santos et al. Prevention and reversal of ketamine-induced schizophrenia related behavior by minocycline in mice: possible involvement of antioxidant and nitergic pathways. **Journal of Psychopharmacology**, v. 27, n. 11, p. 1032-1043, 2013.

NAHAR, Lailun; DELACROIX, Blake M.; NAM, Hyung W. The role of parvalbumin interneurons in neurotransmitter balance and neurological disease. **Frontiers in Psychiatry**, v. 12, p. 679960, 2021.

NAKAKO, Tomokazu et al. Effects of a dopamine D1 agonist on ketamine-induced spatial working memory dysfunction in common marmosets. **Behavioural brain research**, v. 249, p. 109-115, 2013.

NAKAZAWA, Kazu et al. GABAergic interneuron origin of schizophrenia pathophysiology. **Neuropharmacology**, v. 62, n. 3, p. 1574-1583, 2012.

NICOLÁS, María Jesús et al. Ketamine-induced oscillations in the motor circuit of the rat basal ganglia. **PloS one**, v. 6, n. 7, p. e21814, 2011.

NOTTAGE, J. F. et al. The effect of ketamine and D-cycloserine on the high frequency resting EEG spectrum in humans. **Psychopharmacology**, v. 240, n. 1, p. 59-75, 2023.

NUNES, Emerson Arcoverde et al. Effects of pregabalin on behavioral alterations induced by ketamine in rats. **Brazilian Journal of Psychiatry**, v. 34, p. 329-333, 2012.

OBIEN, Marie Engeline J. et al. Revealing neuronal function through microelectrode array recordings. **Frontiers in neuroscience**, v. 8, p. 423, 2015.

OLNEY, John W.; LABRUYERE, Joann; PRICE, Madelon T. Pathological changes induced in cerebrocortical neurons by phencyclidine and related drugs. **Science**, v. 244, n. 4910, p. 1360-1362, 1989.

OMEIZA, Noah A. et al. Pretreatment with *Carpolobia lutea* ethanol extract prevents schizophrenia-like behavior in mice models of psychosis. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 295, p. 115432, 2022.

ONAOLAPO, Adejoke Y.; AINA, Olufemi A.; ONAOLAPO, Olakunle James. Melatonin attenuates behavioural deficits and reduces brain oxidative stress in a rodent model of schizophrenia. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 92, p. 373-383, 2017.

OWEN, M. J.; SAWA, A.; MORTENSEN, P. B. Schizophrenia. *Lancet Lond. Engl.* 388, 86–97. 2016.

PALAZZI, Xavier; BORDIER, Nicole. The marmoset brain in stereotaxic coordinates. In: **The Marmoset Brain in Stereotaxic Coordinates**. Springer, New York, NY, 2008. p. 1-59.

PAXINOS, George; WATSON, Charles. The rat brain in stereotaxic coordinates: hard cover edition. Elsevier, 2006.

PERÄLÄ, Jonna et al. Lifetime prevalence of psychotic and bipolar I disorders in a general population. **Archives of general psychiatry**, v. 64, n. 1, p. 19-28, 2007.

PERRY, ThomasL et al. γ -Aminobutyric-acid deficiency in brain of schizophrenic patients. **The Lancet**, v. 313, n. 8110, p. 237-239, 1979.

PESARAN, Bijan et al. Investigating large-scale brain dynamics using field potential recordings: analysis and interpretation. **Nature neuroscience**, v. 21, n. 7, p. 903-919, 2018.

PEŠIĆ, Vesna et al. The effect of MK-801 on motor activity and c-Fos protein expression in the brain of adolescent Wistar rats. **Brain research**, v. 1321, p. 96-104, 2010.

PILOWSKY, L. S. et al. First in vivo evidence of an NMDA receptor deficit in medication-free schizophrenic patients. **Molecular psychiatry**, v. 11, n. 2, p. 118, 2006.

PINAULT, Didier. N-methyl d-aspartate receptor antagonists ketamine and MK-801 induce wake-related aberrant γ oscillations in the rat neocortex. **Biological psychiatry**, v. 63, n. 8, p. 730-735, 2008.

PITTMAN-POLLETTA, Benjamin; HU, Kun; KOCSIS, Bernat. Subunit-specific NMDAR antagonism dissociates schizophrenia subtype-relevant oscillopathies associated with frontal hypofunction and hippocampal hyperfunction. **Scientific reports**, v. 8, n. 1, p. 11588, 2018.

POLIMENI, Joseph; REISS, Jeffrey P. Evolutionary perspectives on schizophrenia. **The Canadian Journal of Psychiatry**, v. 48, n. 1, p. 34-39, 2003.

QI, Renli et al. Effects of ketamine on basal gamma band oscillation and sensory gating in prefrontal cortex of awake rats. **Neuroscience Bulletin**, v. 34, p. 457-464, 2018.

RAMSAY, Ian S. et al. Limited consistency and strength of neural oscillations during sustained visual attention in schizophrenia. **Biological Psychiatry: Cognitive Neuroscience and Neuroimaging**, 2023.

RANGANATHAN, M. et al. Attenuation of ketamine-induced impairment in verbal learning and memory in healthy volunteers by the AMPA receptor potentiator PF-04958242. **Molecular psychiatry**, v. 22, n. 11, p. 1633-1640, 2017.

RAZOUX, Florence; GARCIA, René; LÉNA, Isabelle. Ketamine, at a dose that disrupts motor behavior and latent inhibition, enhances prefrontal cortex synaptic efficacy and glutamate release in the nucleus accumbens. **Neuropsychopharmacology**, v. 32, n. 3, p. 719-727, 2007.

REYNOLDS, Gavin P. Increased concentrations and lateral asymmetry of amygdala dopamine in schizophrenia. **Nature**, v. 305, n. 5934, p. 527-529, 1983.

REYNOLDS, Gavin P.; CZUDEK, Carole; ANDREWS, Harry B. Deficit and hemispheric asymmetry of GABA uptake sites in the hippocampus in schizophrenia. **Biological psychiatry**, v. 27, n. 9, p. 1038-1044, 1990.

REYNOLDS, Gavin P.; NEILL, Joanna C. Modelling the cognitive and neuropathological features of schizophrenia with phencyclidine. **Journal of psychopharmacology**, v. 30, n. 11, p. 1141-1144, 2016.

REYNOLDS, Gavin P. The neurochemical pathology of schizophrenia: post-mortem studies from dopamine to parvalbumin. **Journal of Neural Transmission**, v. 129, n. 5-6, p. 643-647, 2022

RIPKE, S. et al. Schizophrenia Working Group of the Psychiatric Genomics C (2014) Biological insights from 108 schizophrenia--associated genetic loci. **Nature**, v. 511, p. 421.

ROMPALA, Gregory R. et al. Contribution of NMDA receptor hypofunction in prefrontal and cortical excitatory neurons to schizophrenia-like phenotypes. **PloS one**, v. 8, n. 4, p. e61278, 2013.

ROPOHL, Axel et al. Cortical activity associated with auditory hallucinations. **Neuroreport**, v. 15, n. 3, p. 523-526, 2004.

ROSENBAUM, Steven B. et al. Ketamine. [Updated 2022 Nov 24]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK470357/>

ROUSSY, Megan et al. Ketamine disrupts naturalistic coding of working memory in primate lateral prefrontal cortex networks. **Molecular Psychiatry**, v. 26, n. 11, p. 6688-6703, 2021.

SALETTI, Patricia G. et al. Cannabidiol Affects MK-801-Induced Changes in the PPI Learned Response of Capuchin Monkeys (*Sapajus* spp.). **Frontiers in pharmacology**, v. 8, p. 93, 2017.

SCHEFFER-TEIXEIRA, Robson et al. Theta phase modulates multiple layer-specific oscillations in the CA1 region. **Cerebral cortex**, v. 22, n. 10, p. 2404-2414, 2012.

SCHMIEDT, C. et al. Event-related theta oscillations during working memory tasks in patients with schizophrenia and healthy controls. **Cognitive Brain Research**, v. 25, n. 3, p. 936-947, 2005.

SCORZA, María Cecilia et al. Prefrontal cortex lesions cause only minor effects on the hyperlocomotion induced by MK-801 and its reversal by clozapine. **International Journal of Neuropsychopharmacology**, v. 11, n. 4, p. 519-532, 2008.

SENKOWSKI, Daniel; GALLINAT, Jürgen. Dysfunctional prefrontal gamma-band oscillations reflect working memory and other cognitive deficits in schizophrenia. **Biological psychiatry**, v. 77, n. 12, p. 1010-1019, 2015.

SHAW, Alexander D. et al. Oscillatory, computational, and behavioral evidence for impaired GABAergic inhibition in schizophrenia. **Schizophrenia bulletin**, v. 46, n. 2, p. 345-353, 2020.

SIEKMEIER, Peter J.; STUFFLEBEAM, Steven M. Patterns of spontaneous magnetoencephalographic activity in schizophrenic patients. **Journal of clinical neurophysiology: official publication of the American Electroencephalographic Society**, v. 27, n. 3, p. 179, 2010.

SNYDER, Melissa A.; GAO, Wen-Jun. NMDA receptor hypofunction for schizophrenia revisited: Perspectives from epigenetic mechanisms. **Schizophrenia research**, v. 217, p. 60-70, 2020.

SRIMAHARAJ, Wanus et al. Classification of human brain attention focused on meditation, effected by L-theanine acid in Oolong tea. In: **2018 International Conference on Digital Arts, Media and Technology (ICDAMT)**. IEEE, 2018. p. 262-266.

SRINIVASAN, Saurabh et al. Genetic markers of human evolution are enriched in schizophrenia. **Biological psychiatry**, v. 80, n. 4, p. 284-292, 2016.

STAHL, Stephen M. **Stahl's essential psychopharmacology: neuroscientific basis and practical applications**. Cambridge university press, 2021.

STEINPREIS, Rhea E. The behavioral and neurochemical effects of phencyclidine in humans and animals: some implications for modeling psychosis. **Behavioural brain research**, v. 74, n. 1-2, p. 45-55, 1996.

SUN, Limin et al. Evidence for dysregulated high-frequency oscillations during sensory processing in medication-naïve, first episode schizophrenia. **Schizophrenia research**, v. 150, n. 2-3, p. 519-525, 2013.

SVOBODA, Jan et al. Acute administration of MK-801 in an animal model of psychosis in rats interferes with cognitively demanding forms of behavioral flexibility on a rotating arena. **Frontiers in behavioral neuroscience**, v. 9, p. 75, 2015.

TAKAHATA, Ryuichi; MOGHADDAM, Bitá. Activation of glutamate neurotransmission in the prefrontal cortex sustains the motoric and dopaminergic effects of phencyclidine. **Neuropsychopharmacology**, v. 28, n. 6, p. 1117-1124, 2003.

THÉBERGE, Jean et al. Glutamate and glutamine in the anterior cingulate and thalamus of medicated patients with chronic schizophrenia and healthy comparison subjects measured with 4.0-T proton MRS. **American Journal of Psychiatry**, v. 160, n. 12, p. 2231-2233, 2003.

THÖRN, Carolina Wilnerzon; KAFETZOPOULOS, Vasilios; KOCSIS, Bernat. Differential Effect of Dopamine D4 Receptor Activation on Low-Frequency Oscillations in the Prefrontal Cortex and Hippocampus May Bias the Bidirectional Prefrontal–Hippocampal Coupling. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 19, p. 11705, 2022.

TORT, Adriano BL et al. Dynamic cross-frequency couplings of local field potential oscillations in rat striatum and hippocampus during performance of a T-maze task. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 105, n. 51, p. 20517-20522, 2008.

TORT, Adriano BL et al. Theta-associated high-frequency oscillations (110–160 Hz) in the hippocampus and neocortex. **Progress in neurobiology**, v. 100, p. 1-14, 2013.

TSUANG, Ming. Schizophrenia: genes and environment. **Biological psychiatry**, v. 47, n. 3, p. 210-220, 2000.

UHLHAAS, Peter J.; SINGER, Wolf. Neural synchrony in brain disorders: relevance for cognitive dysfunctions and pathophysiology. **neuron**, v. 52, n. 1, p. 155-168, 2006.

UHLHAAS, Peter J.; SINGER, Wolf. Abnormal neural oscillations and synchrony in schizophrenia. **Nature reviews neuroscience**, v. 11, n. 2, p. 100-113, 2010.

UHLHAAS, Peter J.; SINGER, Wolf. High-frequency oscillations and the neurobiology of schizophrenia. **Dialogues in clinical neuroscience**, v. 15, n. 3, p. 301-313, 2013.

VAN DEN BUUSE, Maarten. Modeling the positive symptoms of schizophrenia in genetically modified mice: pharmacology and methodology aspects. **Schizophrenia bulletin**, v. 36, n. 2, p. 246-270, 2010.

VEZZANI, A. et al. Kinetics of MK-801 and its effect on quinolinic acid-induced seizures and neurotoxicity in rats. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 249, n. 1, p. 278-283, 1989.

VOLK, David W. et al. Reciprocal alterations in pre-and postsynaptic inhibitory markers at chandelier cell inputs to pyramidal neurons in schizophrenia. **Cerebral cortex**, v. 12, n. 10, p. 1063-1070, 2002.

WHITTINGTON, Miles A. et al. Inhibition-based rhythms: experimental and mathematical observations on network dynamics. **International journal of psychophysiology**, v. 38, n. 3, p. 315-336, 2000.

WILSON, Christopher et al. Effects of age and sex on ketamine-induced hyperactivity in rats. **Physiology & behavior**, v. 91, n. 2-3, p. 202-207, 2007.

XU, Yue et al. Applying vinpocetine to reverse synaptic ultrastructure by regulating BDNF-related PSD-95 in alleviating schizophrenia-like deficits in rat. **Comprehensive Psychiatry**, v. 94, p. 152122, 2019.

YAN, Tianfang et al. Electrocorticographic effects of acute ketamine on non-human primate brains. **Journal of Neural Engineering**, v. 19, n. 2, p. 026034, 2022.

YOUNG, Calvin K.; MCNAUGHTON, Neil. Coupling of theta oscillations between anterior and posterior midline cortex and with the hippocampus in freely behaving rats. **Cerebral Cortex**, v. 19, n. 1, p. 24-40, 2009

ZEPEDA, Nancy C. et al. Frequency-specific medial septal nucleus deep brain stimulation improves spatial memory in MK-801-treated male rats. **Neurobiology of disease**, v. 170, p. 105756, 2022.

ZIELINSKI, Mark C.; SHIN, Justin D.; JADHAV, Shantanu P. Coherent coding of spatial position mediated by theta oscillations in the hippocampus and prefrontal cortex. **Journal of Neuroscience**, v. 39, n. 23, p. 4550-4565, 2019.

ŻMUDZKA, Elżbieta et al. Antipsychotic-and anxiolytic-like properties of a multimodal compound JJGW08 in rodents. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 24, p. 15929, 2022.

ZOU, Yijuan et al. Age-dependent effects of (+)-MK801 treatment on glutamate release and metabolism in the rat medial prefrontal cortex. **Neurochemistry International**, v. 129, p. 104503, 2019.

ANEXO 1 — Certificado de Aprovação pela Comissão de Ética no Uso Animal

Brasília, 15 de junho de 2022.

CERTIFICADO

Certificamos que o projeto de ensino intitulado “**CARACTERIZAÇÃO ELETROFISIOLÓGICA DE NEURÔNIOS DO CÓRTEX PRÉFRONTAL E HIPOCAMPO EM MODELO FARMACOLÓGICO DA ESQUIZOFRENIA**”, SEI n.º 23106.050441/2022-93, sob responsabilidade do Professor Rafael Plakoudi Souto Maior, encontra-se de acordo com os preceitos da Lei n.º 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto n.º 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal - CONCEA, e foi avaliado e aprovado pela Comissão de Ética no Uso Animal (CEUA) da Universidade de Brasília, na 175ª reunião ordinária, realizada em 10/6/2022. Este projeto foi aprovado para utilização de *Rattus norvegicus* – Wistar (10 machos), provenientes do Biotério do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade de Brasília.

O presente certificado é válido pelo período de 15/6/2022 a 31/12/2023.



Carina Kreuer

Dra. Carina da Costa Kreuer

Coordenadora da CEUA – UnB



APÊNDICE A — Script de análise dos dados eletrofisiológicos (MATLAB)

```
%% Dados LFP
```

```
% Em tese temos dados de 5 animais tratados com cetamina e MK-801, sendo:
```

```
% 30' de aquisicao basal (apenas exploracao do campo aberto pelo animal
```

```
% 30' de aquisição salina
```

```
% 60' de aquisição com farmaco (MK-801 e Ketamine)
```

```
% o nome dos animais sao A3, A4, A5, A8, A10 - mas na frente no nome de
```

```
% cada um coloquei 1,2,3,4,5. Que ai pego eles na ordem
```

```
% dentro da pasta de cada animal tem a pasta do farmaco (KET ou MK), nao
```

```
% sao todos os animais que possuem 5 sessoes de coleta
```

```
% As marcacoes da tarefa foram feitas dentro do software Sirenia, e aqui
```

```
% no Matlab aparecem como edfinfo. Vou abrir essas anotacoes de maneira
```

```
% semi-automatizada, e vou guardar aqui embaixo as informacoes relevantes.
```

```
% %%%%%%%%%%%%%%%Dados de Ketamina, 30mg/kg IP.%%%%%%%%%
```

```
% Rato 3: (tudo em segundos)
```

```
% Ket 1: Inicia em 33 segundos. Salina IP em 1833. Keta IP em 3733.
```

```
% Ket 2: Inicia em 1, vai ate 1008. transmissor caiu. voltou em 1139. Salina IP em 1837. Keta IP em 3724. ****
```

```
% Ket 3: Inicia em 9. Salina em 1879. *** Keta em outro arquivo. Keta em 1
```

```
% Ket 4: Inicia em 1. Salina IP em 1832. Keta IP em 3642.
```

```
% Ket 5: Inicia em 26. Salina IP em 1750. Keta IP em 3508.
```

```
% Rato 4
```

```
% Ket 1: Inicia em 1. Salina IP em 1879. Keta IP em 3677.
```

```
% Ket 2: Inicia em 13. Salina IP em 1763. Keta IP em 3586.
```

```
% Ket 3: Inicia em 5. Salina IP em 1683. Keta IP em 3615.
```

```
% Ket 4: Inicia em 1. Salina IP em 1802. Keta IP em 3641.
```

```
% Ket 5: Inicia em 1. Salina IP em 1816. Keta IP em 3616.
```

```
% Rato 5
```

```
% Ket 1: Inicia em 11. Salina IP em 1960. Keta IP em 3759.
```

```
% Ket 2: Inicia em 6. Salina IP em 1816. Keta IP em 3718.
```

% Ket 3: Inicia em 6. Salina IP em 1704. Keta IP em 3528.

% Ket 4: Inicia em 1. Salina IP em 1708. Keta IP em 3506.

% Ket 5: Inicia em 7. Salina IP em 1791. Keta IP em 3589.

% Rato 8

% Ket 1: Inicia em 1. Salina IP em 1733. Keta IP em 3497.

% Ket 2: Inicia em 11. Salina IP em 1851. Keta IP em 3666.

% Ket 3: Inicia em 13. Salina IP em 1727. Keta IP em 3564.

% Ket 4: Inicia em 61. Salina IP em 1837. Keta IP em 3683.

% Rato 10

% Ket 1: *** Basal em arquivo separado *** Salina IP em 49. Keta IP em

% 1584. *** tem um terceiro com o resto da Keta ***

% Ket 2: Inicia em 1. Salina IP em 1807. Keta IP em 3584.

% Ket 3: Inicia em 1. Salina IP em 1718. Keta IP em 3577.

% Ket 4: Inicia em 9. Salina IP em 1736. Keta IP em 3551.

% Ket 5: Inicia em 15. Salina IP em 1851. Keta IP em 3767.

%%%%%%%%%%%%Dados de MK-801, 0,1mg/kg IP %%%%%%%%%%

% Rato 3

% MK 1: Inicia em 72. Salina IP em 1872. MK-801 IP em 3800.

% MK 2: Inicia em 44. Salina IP em 1909. MK-801 IP em 3791.

% MK 3: Inicia em 1. Salina IP em 1917. MK-801 IP em 3803.

% MK 4: Inicia em 12. Salina IP em 1698. MK-801 IP em 3524. *** sinal cai.

% Keta no arquivo seguinte.

% MK 5: Inicia em 1. Salina IP em 1808. MK-801 IP em 3660.

% Rato 4

% MK 1: Inicia em 116. Salina IP em 2181. MK-801 IP em 4163.

% MK 2: Inicia em 9. Salina IP em 1939. MK-801 IP em 3845.

% MK 3: *** Basal em arquivo separado, inicia em 30 *** Salina IP em 141.

% MK-801 IP em 1967.

% MK 4: Inicia em 46. Salina IP em 2122. MK-801 IP em 3974.

% MK 5: Inicia em 1 (dura 20'). Salina IP em 1229. MK-801 IP em 3043.

% Rato 5

% MK 1: Inicia em 72. Salina IP em 1897. MK-801 IP em 4153.

% MK 2: Inicia em 1. Salina IP em 1904. MK-801 IP em 3763.

% MK 3: Inicia em 1 (3.1) *** 3.2 *** Salina IP em 65 . MK-801 IP em 1951.

```

% MK 4: Inicia em 1. Salina IP em 1914 . MK-801 IP em 3661.
% MK 5: Inicia em 1. Salina IP em 1914. MK-801 IP em 3661.

% Rato 8
% MK 1: Inicia em 13. Salina IP em 1941 (dura 20'). : *** MK-801 em 115 no 2o arquivo ***
% MK 2: Inicia em 5. Salina IP em 1842. MK-801 IP em 3677.
% MK 3: Inicia em 1. Salina IP em 1810. MK-801 IP em 3655.

% Rato 10
% MK 1: Inicia em 11. Salina IP em 1773. MK-801 IP em 3558.
% MK 2: Inicia em 1. Salina IP em 1492. MK-801 IP em 3267.
% MK 3: Inicia em 1. Salina IP em 1795. MK-801 IP em 3525.
% MK 4: Inicia em 28. Salina IP em 1569. MK-801 IP em 3359.
%%

clear
clc

% dir_dados = 'C:\Users\User\LabNeuro-UnB Dropbox\Mariana\Dados por animal';
dir_dados = '/Users/fabiovcaxeta/LabNeuro-UnB Dropbox/Mariana/Dados por animal';

ratos = {'Animal 3', 'Animal 4', 'Animal 5', 'Animal 8', 'Animal 10',};
drogas = {'KET', 'MK'};
arquivos_escolhidos = [...
    4, 5;... %Animal 03
    1, 1;... %Animal 04
    5, 5;... %Animal 05
    1, 2;... %Animal 08
    5, 1]; %Animal 10 % registros sem intercorrencias

tempos_eventos_ket = {...
    {}, {}, {}, {1, 1832, 3642}, {}; ... % tempos do Animal 03
    {1, 1879, 3677}, {}, {}, {}, {}; ... % tempos do Animal 04
    {11, 1960, 3759}, {6, 1816, 3718}, {6, 1704, 3528}, {1, 1708, 3506}, {1, 1914, 3661}; ... % tempos do Animal 05
    {1, 1733, 3497}, {}, {}, {}, {}; ... % tempos do Animal 08
    {}, {1, 1807, 3584}, {1, 1718, 3577}, {9, 1736, 3551}, {15, 1851, 3767}}; % tempos do Animal 10

tempos_eventos_MK = {...
    {72, 1872, 3800}, {44, 1909, 3791}, {1, 1917, 3803}, {}, {1, 1808, 3660}; ... % tempos do Animal 03
    {116, 2181, 4163}, {}, {}, {}, {}; ... % tempos do Animal 04

```

```
{72, 1897, 4153}, {1, 1904, 3763}, {}, {}, {1, 1914, 3661}; ... % tempos do Animal 05
{}, {5, 1842, 3677}, {1, 1810, 3655}, {}, {}; ... % tempos do Animal 08
{11, 1773, 3558}, {1, 1492, 3267}, {}, {28, 1569, 3359}, {}; % tempos do Animal 10
```

```
count = 0;
```

```
for rato = 1:5
```

```
for droga = 1:2
```

```
clear LFP*
```

```
clear ax*
```

```
clear linha*
```

```
directory = [dir_dados filesep ratos{rato} filesep drogas{droga}];
```

```
temp_list = struct2cell(dir([directory filesep '*.edf'])); % gather all ye .edf.
```

```
file_list = temp_list(1,:);
```

```
file_escolhido = arquivos_escolhidos(rato,droga);
```

```
if droga == 1
```

```
    tempos = tempos_eventos_ket{rato,file_escolhido};
```

```
elseif droga == 2
```

```
    tempos = tempos_eventos_MK{rato,file_escolhido};
```

```
end
```

```
for files = file_escolhido %1:length(file_list)
```

```
clear LFP*
```

```
clear ax*
```

```
clear linha*
```

```
filename = file_list{strncmp(file_list, num2str(file_escolhido),1)}
```

```
[header, LFP] = edfread([directory filesep filename]);
```

```
LFP_info = edfinfo([directory filesep filename]);
```

```
notas = LFP_info.Annotations;
```

```
filtros = LFP_info.Prefilter; % nenhum filtro foi usado pela Mari
```

```
srate = header.frequency(1); % nem todos arquivos tem o mesmo srate
```

```
timevector = (1:length(LFP))/srate;
```

```
window_size = 1*60*srate; % Para o timecourse
```

```

% normalizando os dados para valores entre 0 e 1
for ch = 1:3
    LFP_normal(ch,:) = (LFP(ch,:)-min(LFP(ch,:)))/(max(LFP(ch,:)-min(LFP(ch,:))));
end

% Fazendo a transformada rapida de Fourier pelo metodo de
% Welch, e com isso levamos os dados do dominio do tempo para o
% dominio da frequencia. Ai analisamos a potencia de cada banda
% oscilatoria, o que chamamos de Power Spectral Density
% Analysis, ou PSD, para os intimos.
clear Pxx*
LFP_basal = LFP_normal(:,tempos{1}*srate:tempos{1}*srate+1800*srate);
LFP_salina = LFP_normal(:,tempos{2}*srate:tempos{2}*srate+1800*srate);
LFP_farmaco = LFP_normal(:,tempos{3}*srate:tempos{3}*srate+1800*srate);

for ch = 1:3
    [Pxx_basal(ch,:) F] = pwelch(LFP_basal(ch,:),2^12,[],2^12,srate);
    [Pxx_salina(ch,:) F] = pwelch(LFP_salina(ch,:),2^12,[],2^12,srate);
    [Pxx_farmaco(ch,:) F] = pwelch(LFP_farmaco(ch,:),2^12,[],2^12,srate);
    %normalizando os dados pelo poder de teta em diante
    Pxx_basal_normal(ch,:) = (Pxx_basal(ch,:)-min(Pxx_basal(ch,21:end)))/(max(Pxx_basal(ch,21:end)-
min(Pxx_basal(ch,21:end))));
    Pxx_salina_normal(ch,:) = (Pxx_salina(ch,:)-min(Pxx_basal(ch,21:end)))/(max(Pxx_basal(ch,21:end)-
min(Pxx_basal(ch,21:end))));
    Pxx_farmaco_normal(ch,:) = (Pxx_farmaco(ch,:)-min(Pxx_basal(ch,21:end)))/(max(Pxx_basal(ch,21:end)-
min(Pxx_basal(ch,21:end))));
    %normalizando os dados pelo poder de gamma em diante
    Pxx_basal_normal2(ch,:) = (Pxx_basal(ch,:)-min(Pxx_basal(ch,121:end)))/(max(Pxx_basal(ch,121:end)-
min(Pxx_basal(ch,121:end))));
    Pxx_salina_normal2(ch,:) = (Pxx_salina(ch,:)-min(Pxx_basal(ch,121:end)))/(max(Pxx_basal(ch,121:end)-
min(Pxx_basal(ch,121:end))));
    Pxx_farmaco_normal2(ch,:) = (Pxx_farmaco(ch,:)-min(Pxx_basal(ch,121:end)))/(max(Pxx_basal(ch,121:end)-
min(Pxx_basal(ch,121:end))));

% a mesma coisa que acima, mas agora calculando a potencia espectral
% minuto a minuto
for timeblock = 1:round(size(LFP_basal,2)/(window_size)) % apenas definindo o timeblock, ch 1 e 2 tem o mesmo
tempo

window = (1:window_size) + (window_size)*(timeblock-1); %quantas janelas podemos ter com o tempo do dado
[Pxx_basal_timecourse(ch,timeblock,:) F] = pwelch(LFP_basal(ch>window,window),2^12,[],2^12,srate);

```

```
[Pxx_salina_timecourse(ch,timeblock,:) F] = pwelch(LFP_salina(ch>window),2^12,[],2^12,srate);
[Pxx_farmaco_timecourse(ch,timeblock,:) F] = pwelch(LFP_farmaco(ch>window),2^12,[],2^12,srate);
```

```
Pxx_basal_timecourse_normal(ch,timeblock,:) = (Pxx_basal_timecourse(ch,timeblock,:)-
min(Pxx_basal_timecourse(ch,timeblock,121:end)))/(max(Pxx_basal_timecourse(ch,timeblock,1:121)-
min(Pxx_basal_timecourse(ch,timeblock,1:121))));
```

```
Pxx_salina_timecourse_normal(ch,timeblock,:) = (Pxx_salina_timecourse(ch,timeblock,:)-
min(Pxx_salina_timecourse(ch,timeblock,121:end)))/(max(Pxx_salina_timecourse(ch,timeblock,1:121)-
min(Pxx_salina_timecourse(ch,timeblock,1:121))));
```

```
Pxx_farmaco_timecourse_normal(ch,timeblock,:) = (Pxx_farmaco_timecourse(ch,timeblock,:)-
min(Pxx_farmaco_timecourse(ch,timeblock,121:end)))/(max(Pxx_farmaco_timecourse(ch,timeblock,1:121)-
min(Pxx_farmaco_timecourse(ch,timeblock,1:121))));
```

```
end
```

```
end
```

```
theta = find(F > 5 & F < 10);
```

```
gamma = find(F > 30 & F < 100);
```

```
% juntando os dados de todos animais e tratados com os dois
```

```
% farmacos
```

```
theta_basal_normal_grupo(rato,droga,,:) = Pxx_basal_normal;
```

```
theta_salina_normal_grupo(rato,droga,,:) = Pxx_salina_normal;
```

```
theta_farmaco_normal_grupo(rato,droga,,:) = Pxx_farmaco_normal;
```

```
gamma_basal_normal_grupo(rato,droga,,:) = Pxx_basal_normal2;
```

```
gamma_salina_normal_grupo(rato,droga,,:) = Pxx_salina_normal2;
```

```
gamma_farmaco_normal_grupo(rato,droga,,:) = Pxx_farmaco_normal2;
```

```
Pxx_basal_timecourse_normal_grupo(rato,droga,,:) = Pxx_basal_timecourse_normal;
```

```
Pxx_salina_timecourse_normal_grupo(rato,droga,,:) = Pxx_salina_timecourse_normal;
```

```
Pxx_farmaco_timecourse_normal_grupo(rato,droga,,:) = Pxx_farmaco_timecourse_normal;
```

```
%Figuras dos resultados individuais
```

```
% count = count +1;
```

```
% figure(count)
```

```
% % clf
```

```
% subplot(1,3,1)
```

```
% color = {'k', 'b' 'r'};
```

```
%
```

```
% for ch = 1:3
```

```
% subplot(2,3,ch)
```

```

%           plot(F(21:end),Pxx_basal_normal(ch,21:end),'linewidth',3, 'color', color{1})
%
%           hold on
%           plot(F(21:end),Pxx_salina_normal(ch,21:end),'linewidth',3, 'color', color{2})
%           plot(F(21:end),Pxx_farmaco_normal(ch,21:end),'linewidth',3, 'color', color{3})
%           title(['PSD do canal ' num2str(ch) ' do Animal ' ratos{rato} ' com ' drogas{droga}'])
%           xlim([1 100])
%           %           ylim([-10 40])
%           legend('Basal', 'Salina', 'Farmaco')

%
%           subplot(2,3,ch+3)
%           plot(F,smoothdata(mean(Pxx_basal_normal2(ch,:),1),'gaussian',20),'linewidth',3, 'color', color{1})
%           hold on
%           plot(F,smoothdata(mean(Pxx_salina_normal2(ch,:),1),'gaussian', 20),'linewidth',3, 'color', color{2})
%           plot(F,smoothdata(mean(Pxx_farmaco_normal2(ch,:),1),'gaussian', 20),'linewidth',3, 'color', color{3})
%           title(['PSD do canal ' num2str(ch) ' do Animal ' ratos{rato} ' com ' drogas{droga}'])
%           xlim([30 101])
%           ylim([0 2])
%           %           if rato == 1
%           %           if droga ==1
%           %           ylim([0 15])
%           %           end
%           %           elseif rato ==2
%           %           if droga == 1
%           %           if ch == 1
%           %           xlim([25 150])
%           %           ylim([0 20])
%           %           elseif ch == 2
%           %           xlim([25 150])
%           %           ylim([0 130])
%           %           elseif ch == 3
%           %           xlim([30 100])
%           %           ylim([0.08 0.35])
%           %           end
%           %           end
%           %           if droga == 2
%           %           xlim([120 160])
%           %           ylim([0 3])
%           %           if ch == 1
%           %           xlim([135 150])
%           %           ylim([0.08 0.25])

```

```
%         elseif ch == 2
%             xlim([135 150])
%             ylim([1 3])
%         end
%     end
% elseif rato ==3
%     if droga == 1
%         if ch == 1
%             xlim([25 100])
%             ylim([0 8])
%         elseif ch == 2
%             xlim([15 100])
%             ylim([0 20])
%         elseif ch == 3 % tem HFO
%             xlim([30 170])
%             ylim([0 200])
%         end
%     end
% elseif rato ==4
%     if droga == 1
%         if ch == 1
%             xlim([0 100])
%             ylim([0 600])
%         elseif ch == 2
%             xlim([15 100])
%             ylim([0 400])
%         elseif ch == 3 % muito estranho
%             xlim([30 170])
%             ylim([0 200])
%         end
%     end
% elseif rato ==5
%     if droga == 1
%         if ch == 1
%             xlim([0 100])
%             ylim([0 10])
%         elseif ch == 2
%             xlim([15 100])
%             ylim([0 6])
%         elseif ch == 3
```

```

%             xlim([30 170])
%             ylim([0 40])
%             end
%             end
%             end
%             legend('Basal', 'Salina', 'Farmaco')
%
%             end %canal

        end %arquivo
    end %droga
end %rato

%% Figuras de PSD para as bandas tetha, gamma e HFO dos grupos

clf
color = {'k', 'b' 'r'};
rato = 1:5;
farmaco = 1; % 1 para ketamina e 2 para MK-801

for ch = 1:3
    subplot(3,3,ch)
        plot(F(21:end),squeeze(mean(theta_basal_normal_grupo(rato,farmaco,ch,21:end),1)), 'linewidth',3, 'color', [169 169 169]/255)
        hold on
        plot(F(21:end),squeeze(mean(theta_salina_normal_grupo(rato,farmaco,ch,21:end),1)), 'linewidth',3, 'color', [110 201 203]/255)
        plot(F(21:end),squeeze(mean(theta_farmaco_normal_grupo(rato,farmaco,ch,21:end),1)), 'linewidth',3, 'color', [255 147 0]/255)
        title(['Teta no canal ' num2str(ch) ' - ' drogas{farmaco}])
        xlim([5 12])

        legend('Basal', 'Salina', 'Farmaco')

    if ch == 1
        ylim([0 3])
    elseif ch == 2
        ylim([0 5])
    elseif ch == 3
        ylim([0 2])
    end
end

```

```

subplot(3,3,ch+3)

plot(F(121:end),squeeze(mean(gamma_basal_normal_grupo(rato,farmaco,ch,121:end),1)), 'linewidth',3, 'color', [169
169 169]/255)

hold on

plot(F(121:end),squeeze(mean(gamma_salina_normal_grupo(rato,farmaco,ch,121:end),1)), 'linewidth',3, 'color', [110
201 203]/255)

plot(F(121:end),squeeze(mean(gamma_farmaco_normal_grupo(rato,farmaco,ch,121:end),1)), 'linewidth',3, 'color', [255
147 0]/255)

title(['Gama no canal ' num2str(ch) ' - ' drogas{farmaco}])

xlim([30 100])

legend('Basal', 'Salina', 'Farmaco')

if ch == 1
    ylim([0 3])
elseif ch == 2
    ylim([0 2])
elseif ch == 3
    ylim([0 6])
end

subplot(3,3,ch+6)

plot(F(121:end),squeeze(mean(gamma_basal_normal_grupo(rato,farmaco,ch,121:end),1)), 'linewidth',3, 'color', [169
169 169]/255)

hold on

plot(F(121:end),squeeze(mean(gamma_salina_normal_grupo(rato,farmaco,ch,121:end),1)), 'linewidth',3, 'color', [110
201 203]/255)

plot(F(121:end),squeeze(mean(gamma_farmaco_normal_grupo(rato,farmaco,ch,121:end),1)), 'linewidth',3, 'color', [255
147 0]/255)

title(['HFO no canal ' num2str(ch) ' - ' drogas{farmaco}])

xlim([135 155])

ylim([0 0.5])

legend('Basal', 'Salina', 'Farmaco')

end

% Em ket e em MK tem HFO no animal 2 nos eletrodos 1 e 2, e no animal 3 no eletrodo 3

% Em MK tem HFO nos animais eletrodos 1 e 2, e no animal 3 no eletrodo 3

```

```

%% E agora as medias de movimento que a Mariana extraiu no AnyMaze

% Primeiro vamos carregas os dados de movimento planilhados no Excel

clc

cd('/Users/fabiovcaixeta/LabNeuro-UnB Dropbox/Mariana/Analises_novas')
animais = {'Animal 3', 'Animal 4','Animal 5','Animal 8','Animal 10'};

for k = 1:length(animais)

    ket_basal(k,:) = readmatrix('Movimento.xlsx','Sheet', animais{k},'Range','AG4:AG33');
    ket_salina(k,:) = readmatrix('Movimento.xlsx','Sheet', animais{k},'Range','AJ4:AJ33');
    ket_treatment(k,:) = readmatrix('Movimento.xlsx','Sheet', animais{k},'Range','AM4:AM63');

    MK_basal(k,:) = readmatrix('Movimento.xlsx','Sheet', animais{k},'Range','AQ4:AQ33');
    MK_salina(k,:) = readmatrix('Movimento.xlsx','Sheet', animais{k},'Range','AT4:AT33');
    MK_treatment(k,:) = readmatrix('Movimento.xlsx','Sheet', animais{k},'Range','AW4:AW63');

end

farmacos = {'ket', 'MK'};
bin_size = 2;
subplot(211)
movimento = [ket_basal,ket_salina,ket_treatment];
clear movimento_temp

if bin_size>1
    for n = 1:size(movimento,1)
        movimento_temp(n,:) = mean(reshape(movimento(n,:), bin_size, []));
    end

    movimento = movimento_temp;
end

plot(1:30/bin_size, nanmean(movimento(:,1:30/bin_size)), 'ksq-', 'linewidth', 2)

```

```

hold on
plot(30/bin_size+1:60/bin_size, nanmean(movimento(:,30/bin_size+1:60/bin_size)), 'ksq-', 'linewidth', 2)
plot(60/bin_size+1:120/bin_size, nanmean(movimento(:,60/bin_size+1:120/bin_size)), 'ksq-', 'linewidth', 2)
errorbar(nanmean(movimento), nanstd(movimento)/sqrt(size(movimento, 1)), 'ksq', ...
    'markersize', 7, 'linewidth', 1, 'markerfacecolor', [92 201 203]/255)

xlabel(['Tempo (blocos de ' num2str(bin_size) '-min)'], 'fontsize', 15)
ylabel('Distancia percorrida (metros)', 'fontsize', 15)

xlim([0 120/bin_size+1])
ylim([0 6])
label{1}='0';
label{2}='30';
label{3}='60';
label{4}='900';
label{5}='120';
label{6}='300';
set(gca, 'xtick', [1 30 60 90 120], 'xticklabel', label, 'fontsize', 14)

subplot(212)
movimento = [MK_basal, MK_salina, MK_treatment];

if bin_size > 1
    for n = 1:size(movimento, 1)
        movimento_temp(n,:) = mean(reshape(movimento(n,:), bin_size, []));
    end

    movimento = movimento_temp;
end

plot(1:30/bin_size, nanmean(movimento(:, 1:30/bin_size)), 'ksq-', 'linewidth', 2)
hold on
plot(30/bin_size+1:60/bin_size, nanmean(movimento(:, 30/bin_size+1:60/bin_size)), 'ksq-', 'linewidth', 2)
plot(60/bin_size+1:120/bin_size, nanmean(movimento(:, 60/bin_size+1:120/bin_size)), 'ksq-', 'linewidth', 2)
errorbar(nanmean(movimento), nanstd(movimento)/sqrt(size(movimento, 1)), 'ksq', ...
    'markersize', 7, 'linewidth', 1, 'markerfacecolor', [92 201 203]/255)

xlabel(['Tempo (blocos de ' num2str(bin_size) '-min)'], 'fontsize', 15)
ylabel('Distancia percorrida (metros)', 'fontsize', 15)

```

```
xlim([0 120/bin_size+1])  
ylim([0 6])  
label{1}='0';  
label{2}='30';  
label{3}='60';  
label{4}='900';  
label{5}='120';  
label{6}='300';  
set(gca, 'xtick',[1 30 60 90 120], 'xticklabel',label, 'fontsize',14)
```

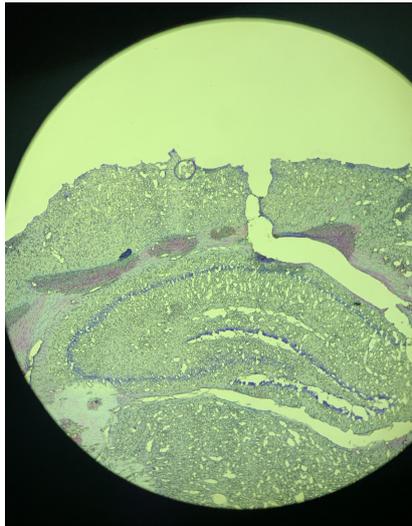
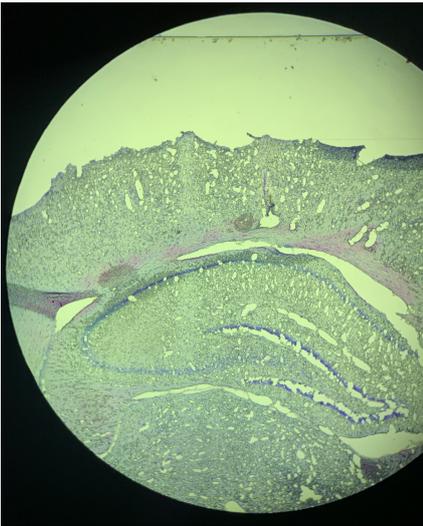
APÊNDICE B — Verificação histológica dos alvos corticais

Animal 1: tecido perdido

Animal 2

Hipocampo esquerdo

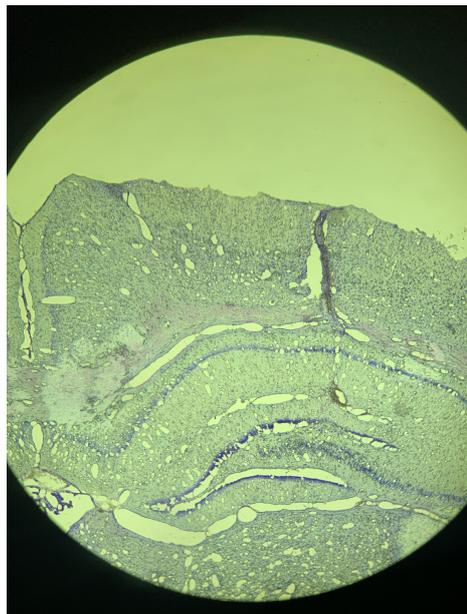
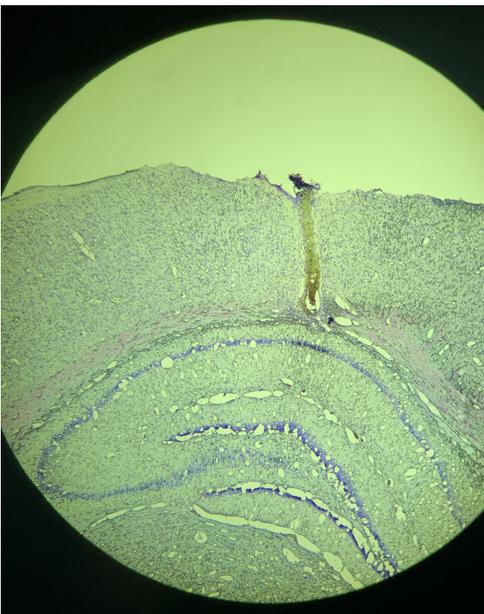
Hipocampo direito



Animal 3

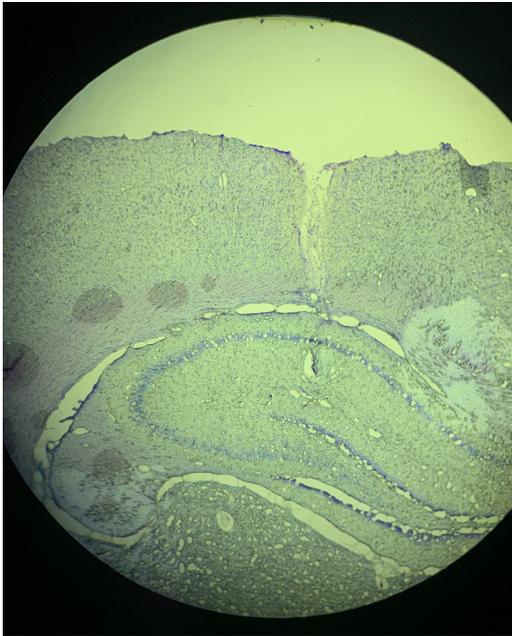
Hipocampo esquerdo

Hipocampo direito

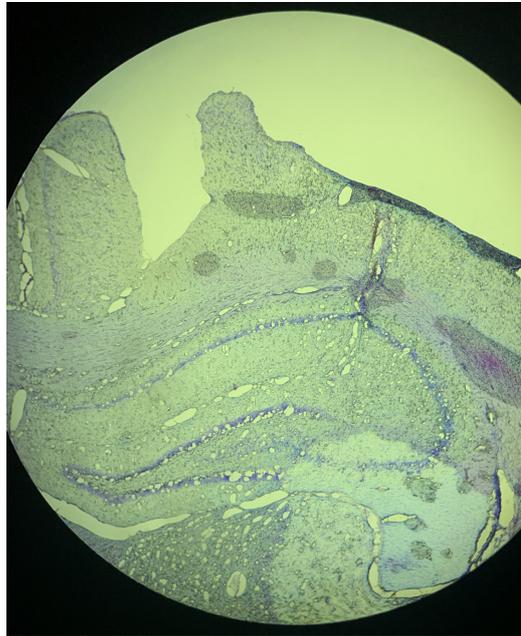


Animal 4

Hipocampo esquerdo

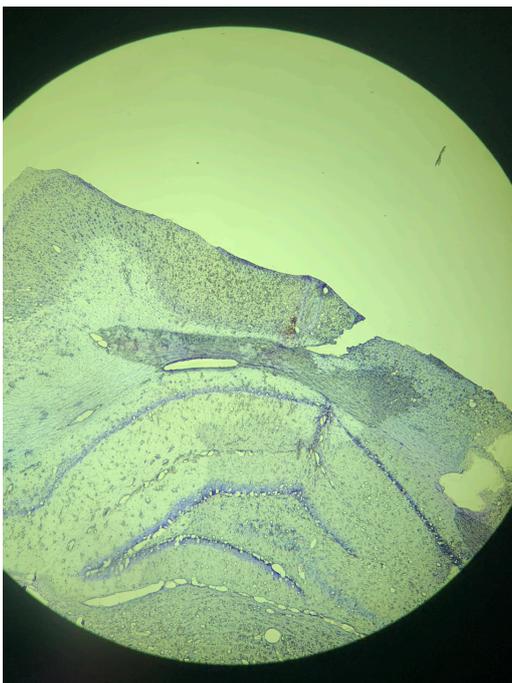


Hipocampo direito



Animal 5

Hipocampo direito



CPF medial

