

UNIVERSIDADE PAULISTA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PATOLOGIA AMBIENTAL E
EXPERIMENTAL

HIPERATIVIDADE DO SISTEMA DOPAMINÉRGICO
CENTRAL EM CAMUNDONGO MUTANTE *BAPA*: UM
MODELO EXPERIMENTAL DA SÍNDROME DE KABUKI

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Patologia Ambiental e Experimental da Universidade Paulista – UNIP, para a obtenção do título de Mestre em Patologia Ambiental e Experimental.

MARISA ALVES DE OLIVEIRA

SÃO PAULO

2017

UNIVERSIDADE PAULISTA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PATOLOGIA AMBIENTAL E
EXPERIMENTAL

HIPERATIVIDADE DO SISTEMA DOPAMINÉRGICO
CENTRAL EM CAMUNDONGO MUTANTE *BAPA*: UM
MODELO EXPERIMENTAL DA SÍNDROME DE KABUKI

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Patologia Ambiental e Experimental da Universidade Paulista – UNIP, para a obtenção do título de Mestre em Patologia Ambiental e Experimental.

Área de Contracção: Patologia Ambiental e Experimental.

Orientadora: Profa. Dra. Maria Martha Bernardi.

MARISA ALVES DE OLIVEIRA

SÃO PAULO
2017

Oliveira, Marisa Alves de.

Hiperatividade do sistema dopaminérgico central em camundongo mutante bapa : um modelo experimental da síndrome de Kabuki / Marisa Alves de Oliveira. - 2017.

80 f. : il. + CD-ROM.

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Patologia Ambiental e Experimental, São Paulo, 2017.

Área de concentração: Toxicologia do Sistema Nervoso Central.
Orientadora: Prof.^a Dr.^a Maria Martha Bernardi.

1. Campo aberto. 2. Trave elevada. 3. Estereotipia. 4. Apomorfina.
5. Clozapina. I. Bernardi, Maria Martha (orientadora). II. Título.

MARISA ALVES DE OLIVEIRA

**HIPERATIVIDADE DO SISTEMA DOPAMINÉRGICO CENTRAL EM
CAMUNDONGO MUTANTE *BAPA*: UM MODELO EXPERIMENTAL DA
SÍNDROME DE KABUK**

Dissertação apresentada ao Programa de
Mestrado em Patologia Ambiental e
Experimental da Universidade Paulista –
UNIP, como requisito parcial para a obtenção
do título de Mestre em Patologia Ambiental e
Experimental.

Aprovado em: ____/____/____.

BANCA EXAMINADORA

_____/____/____

Prof. Dr. Thiago Berti Kirsten

Titular: Universidade Paulista – UNIP

_____/____/____

Prof. Dr. Eduardo Fernandes Bondan

Suplente: Universidade Paulista – UNIP

_____/____/____

Profa. Dra. Cideli de Paula Coelho

Titular: Universidade Santo Amaro – UNISA

_____/____/____

Profa. Dra. Cláudia Madalena Cabrera Mori

Suplente: Universidade do Estado de São Paulo – FMVZ / USP

_____/____/____

Profa. Dra. Maria Martha Bernardi (Orientadora)

Universidade Paulista – UNIP

Agradecimentos

A **Universidade Paulista UNIP**, pela concessão a bolsa de estudos para o Mestrado em Patologia Ambiental e Experimental e pela qualidade do corpo docente. Agradeço a secretária do Programa de Pós-Graduação em Patologia Ambiental e Experimental **Sra. Christina Rodrigues**, por sua atenção, ao técnico do biotério **Sr. Wilton Pereira dos Santos**, pela sua atenção e colaboração durante os experimentos.

A minha professora orientadora **Dra. Maria Martha Bernardi**, pela orientação e compreensão, por todo apoio, incentivo e conhecimento que, brilhantemente, realizado durante todo curso e, especialmente, pela confiança em mim depositada ao assumir a orientação, por ter sido tão presente num momento muito especial na construção deste trabalho, por meio de suas críticas e sugestões, tendo participado de forma determinante para que ele acontecesse.

A minha querida filha, amiga e companheira **Rafaela Oliveira Silva**, por toda compreensão e ajuda, ao meu querido **Nico Rodrigues** por todo carinho, paciência e incentivo.

Ao meu grande amigo, parceiro de trabalho e estudos **Professor Msc. Felipe Artur Viera Santos**, e a todos os amigos que tive a honra de conhecer no decorrer do curso. As mestrandas **Paula da Silva Rodrigues** e **Ericka Patrícia da Silva** que colaboraram durante os experimentos deste trabalho.

A **todos os professores** do Programa de Pós-Graduação em Patologia Ambiental e Experimental da Universidade Paulista UNIP, pelos ensinamentos que me foram repassados.

PREFÁCIO

Este volume refere-se à dissertação de mestrado apresentada como requisito para a defesa de mestrado perante a Banca Examinadora no Programa de Pós-Graduação em Patologia Ambiental e Experimental, Universidade Paulista.

Segundo as normas do Programa, este trabalho é apresentado na forma de artigo científico de autoria do aluno e organizado de acordo com as exigências do veículo de publicação científica escolhido.

O periódico escolhido para a submissão foi o *European Journal Pharmacology*, sendo o título do manuscrito: **Hyperactivity of the dopaminergic central system in *bapa* mutant mice: an experimental model of the Kabuki syndrome.**

Lista de Figuras

Figura 01. Divisão do Sistema Nervoso (adaptado)	12
Figura 02. Sistema Nervoso Central (SNC) (adaptado)	13
Figura 03. Sistema Nervoso Periférico	16
Figura 04. Estrutura do Neurônio (adaptado)	18
Figura 05. Fórmula química da dopamina	20
Figura 06. Esquema da síntese da dopamina	21
Figura 07. Degradação da dopamina	22
Figura 08. Sinalização intracelular dos receptores Da D1-Like	24
Figura 09. Vias dopaminérgicas	25
Figura 10. Distribuição dos receptores de dopamina nas áreas sistema nervoso central, agonistas e antagonistas dopaminérgicos e a intensidade de interação com os receptores. Com relação aos antagonistas e agonistas + baixa ligação. ++ ligação mediana. +++ alta ligação aos receptores. Nas áreas do sistema nervoso central os sinais indicam a densidade dos receptores das vias dopaminérgicas	27

Lista de Quadros

Quadro 01. Receptores de neurotransmissores do Sistema Nervoso Central e suas funções	70
--	----

Lista de Gráficos

Figura 01. General activity of <i>bapa</i> and wt mice observed in the open field for 4 days. A- locomotion frequency; B- rearing frequency; C- grooming time; D- immobility time. Two way ANOVA followed by Bonferroni's multiple comparisons test. * $p < 0.05$; *** $p < 0.001$ relative to wt mice.	65
Figura 02. Interaction of a new object (A,B,C and D), aversive wooden beam (F) and elevated plus maze behaviors (E,F and H) of <i>bapa</i> and wt mice. Two way ANOVA followed by Bonferroni's multiple comparisons test. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ *** $p < 0.001$ relative to wt group	66
Figura 03. Stereotyped behavior induced by 0.6 mg/kg of apomorphine in <i>bapa</i> and wt mice. A- sniff time (s) in 10 and 20 min; B- total sniff time(s); C- rearing frequency in 10 and 20 min; D- total rearing frequency; E- immobility time(s) in 10 and 20 min; F- total immobility time(s). Two way ANOVA followed by Bonferroni's multiple comparisons test. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ *** $p < 0.001$ relative to wt group	67
Figura 04. Stereotyped behavior of in <i>bapa</i> and wt mice pretreated with SCH-23,390 (0.4 mg/kg) or clozapine (2.0 mg/kg) antagonists 15 min before 0.6 mg/kg of apomorphine and observed for 20 min. A- sniff time (s) in 10 min; B- sniff time (s) in 20 min; C- total sniff time(s); D- rearing behavior in 10 min; E- rearing frequency in 10 min; F- rearing frequency in 20 min; G- total rearing frequency; H- immobility time(s) in 10 min; immobility time(s) in 20 min; I- total immobility time(s). Two way ANOVA followed by Bonferroni's multiple comparisons test. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ *** $p < 0.001$ relative to wt group	68

SUMÁRIO

Lista de Figuras

Lista de Quadros

Lista de Gráficos

1	REVISÃO DE LITERATURA	09
1.1	Introdução	09
1.2	Sistema Nervoso	11
1.2.1	Divisão anatômica e funcional do Sistema Nervoso	11
1.2.2	Sistema Nervoso Central (SNC)	13
1.2.3	Sistema Nervoso Periférico	14
1.2.4	Células e tecidos do Sistema Nervoso	17
1.3	Dopamina	20
1.3.1	Vias Dopaminérgicas	25
1.3.2	Drogas que agem no Sistema Dopaminérgico Central: agonistas e antagonistas	26
1.4	Síndrome de Kabuki	28
2	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	31
3	ARTIGO	36
	Resumo	36
	Abstract	38
3.1	INTRODUCTION	40
3.2	MATERIAL AND METHODS	42
3.2.1	<i>Ethics statement</i>	42

3.2.2	<i>Animals</i>	42
3.2.3	<i>Drugs</i>	42
3.2.4	<i>Open field behavior</i>	43
3.2.5	<i>Interaction with a new object in the open field</i>	43
3.2.6	<i>Aversive Wooden Beam</i>	43
3.2.7	<i>Elevated-plus maze (EPM)</i>	44
3.2.8	<i>Stereotyped behavior induced by apomorphine</i>	45
3.2.9	<i>Experimental design</i>	45
3.2.10	<i>Statistical analysis</i>	46
3.3	RESULTS	47
3.3.1	<i>Open field behavior</i>	47
3.3.2	<i>Interaction with a new object in the open field</i>	47
3.3.3	<i>Aversive Wooden Beam</i>	48
3.3.4	<i>Elevated-plus maze</i>	48
3.3.5	<i>Stereotyped behavior induced by apomorphine</i>	49
3.3.6	<i>Effects of D1 and D4 receptor antagonists on stereotyped behavior inducrd by apomorphine</i>	49
3.4	DISCUSSIONS	51
3.5	CONCLUSIONS	57
3.6	REFERENCES	59
3.7	FIGURE CAPTIONS	64
	ANEXO A	69
	ANEXO B	70

1 REVISÃO DE LITERATURA

1.1 Introdução

O sistema nervoso é um complexo conjunto de nervos que integra e coordena os processos biológicos que ocorrem concomitantemente no organismo. Também atua como canal de comunicação interno do organismo, além de ser o responsável, pela percepção, processamento, resposta e transmissão das interações e variações do meio externo em relação ao indivíduo (DANGELO; FATTINI, 2004). Segundo, Grabowski (2008), o sistema nervoso executa três funções básicas: sensorial, função integrativa e função motora. Suas estruturas são compostas por: encéfalo, nervos cranianos, medula espinhal, nervos espinhais, gânglios, plexos entéricos e receptores sensoriais.

O Sistema Nervoso é subdividido em Sistema Nervoso Central (SNC) e Sistema Nervoso Periférico (SNP). No SNC o neurônio é a célula mais importante, sendo o SNC constituído também de células não neuronais, como vasos sanguíneos, meninges e as células gliais. A comunicação entre os neurônios do SNC ocorre inicialmente por geração de impulsos elétricos da membrana do neurônio devido a diferenças de cargas negativas predominantes na face interna da membrana denominado de impulso nervoso. Este impulso nervoso gera um potencial de ação o qual é transmitido por toda fibra nervosa neuronal até chegar na terminação sináptica. As sinapses podem ser de dois tipos: elétricas e químicas. As sinapses elétricas promovem à transferência direta da corrente iônica de uma célula nervosa a outra, enquanto que nas sinapses químicas esta comunicação é feita por meio da liberação de neurotransmissores, que, em geral, são sintetizados na fibra pré-sináptica. Estes neurotransmissores interagem com receptores que são proteínas de membranas excitando-o ou inibindo-o, bem como atuam em receptores pré-sinápticos que controlam a atividade do neurônio e a liberação do neurotransmissor e do neurônio. No quadro 01 em anexo B tem-se os principais neurotransmissores e seus receptores do SNC, localização sináptica dos receptores, agonistas e antagonistas destes neurotransmissores, localização predominantes no SNC e função (SPINOSA *et al.*, 2011).

A dopamina é um neurotransmissor catecolaminérgico muito importante do SNC e participa da regulação de diversas funções como a atividade motora, a emotividade e a afetividade assim como a comunicação neuroendócrina. Sua síntetização se dá a partir do aminoácido tirosina (FELDMAN; MEYER; QUENZER, 1997).

Os receptores dopaminérgicos se encontram distribuídos de forma abundante em diversas áreas do SNC, e são responsáveis por muitas ações da dopamina. São compostos por cinco diferentes tipos, sendo todos acoplados a proteínas G e divididos em duas famílias farmacológicas denominadas D1 e D2. Os receptores da família D1 (subtipos D1 e D5) estão acoplados às proteínas Gs e estimulam a formação de AMPc como principal mecanismo de transdução de sinais. Os subtipos pertencentes à família D2 (D2, D3 e D4) inibem a formação de AMPc, ativam canais de K⁺ e reduzem a entrada de íons de Ca⁺⁺ através de canais dependentes da voltagem (TRUJILLO; FLORES; MONTAÑO, 2000).

A administração de fármacos agonistas e antagonistas de receptores dopaminérgicos modulam a liberação de dopamina estriatal e induzem e modificam a função motora. A apomorfina é um agonista não específico dos receptores da dopamina. Embora o mecanismo preciso da ação da apomorfina seja desconhecido, prevê-se que atue através da estimulação dos receptores D1 e D2 pós-sinápticos no estriado (núcleo caudado e putâmen). Quando administrada por via subcutânea, mostra um rápido início da sua ação (VOLKMANN *et al.*, 2013).

A Síndrome de Kabuki, é uma desordem genética rara, que se caracteriza por anomalias congênitas e por deficiência cognitiva. Descrita pela primeira vez no Japão por Nikawa e Koruki em 1981, com etiologia ainda desconhecida. Seus portadores apresentam o que é conhecido como Pêntade de Nikawa: dimorfismo facial, anomalias esqueléticas, alterações dermatoglíficas, retardo mental de leve a moderado e deficiência no crescimento pós-natal (NIKAWA *et al.*, 1988; SCHOEN-FERREIRA *et al.*, 2010).

Na literatura existem poucas as informações disponíveis sobre o papel dos neurotransmissores dopaminérgicos na mediação das ações biológicas induzidas pelos agonistas e antagonistas dopaminérgicos na síndrome de Kabuki. O objetivo deste estudo é de efetuar uma abordagem descritiva a respeito 1) do sistema

nervoso e do sistema dopaminérgico; 2) verificar a participação do sistema dopaminérgico central na disfunção motora de camundongos mutantes bapa, um modelo animal da Síndrome de Kabuki, utilizando agonistas e antagonistas dopaminérgicos..

1.2 Sistema Nervoso

O Sistema Nervoso (SN) é responsável pelo ajuste do organismo ao ambiente. Sua função é captar e identificar as condições ambientais externas, bem como as condições presentes dentro do próprio corpo e elaborar respostas que se adaptem a essas condições (MACHADO, 2006).

As funções do sistema nervoso incluem: orientação do corpo em relação aos ambientes, interno e externo; coordenação e controle das atividades do corpo; assimilação de experiências necessárias para a memória, aprendizado e inteligência e a programação do comportamento instintivo (GRAFF, 2003).

Os diferentes sistemas do corpo são integrados ao sistema nervoso, e suas funções, dependem da sua capacidade em monitorar mudanças ou estímulos do interior e do exterior do corpo; em interpretar as mudanças em um processo chamado integração; e em efetuar respostas ativando músculos ou glândulas. Assim sendo, o sistema nervoso tem funções sensitivas, de integração e motoras, todas as quais trabalham em conjunto para manter a homeostasia do corpo (APPLEGATE, 2012).

1.2.1 Divisão anatômica e funcional do Sistema Nervoso

O Sistema Nervoso é dividido anatomicamente em: SNC: formado pelo encéfalo e medula espinal e SNP: formado pelos nervos (espinais [31] e craniais [12]), gânglios, terminações nervosas (figura 01) (SILVA; SILVA, 2014).

O SNC está localizado dentro do esqueleto axial (cavidade craniana e canal vertebral); já o SNP é aquele que se localiza fora do esqueleto (MACHADO, 2006).

Segundo Neto e Flavigna (2003), funcionalmente o sistema nervoso pode ser dividido em duas partes: O sistema nervoso somático e o sistema nervoso visceral. O sistema nervoso somático (aferente ou eferente): têm a função de atuar de forma

voluntária, e é responsável em integrar o homem ao meio ambiente. Já o sistema nervoso visceral tem a função de atuar involuntariamente, e está relacionado ao funcionamento de todos os órgãos. O Sistema Nervoso Visceral é subdividido em duas outras partes: **Sistema Nervoso Visceral Aferente** que é responsável por conduzir informações sensoriais de fora do corpo para o SNC e o **Sistema Nervoso Visceral Eferente (autônomo)**: atua de modo involuntário e inconsciente, controlando e mantendo as funções vitais em ordem.

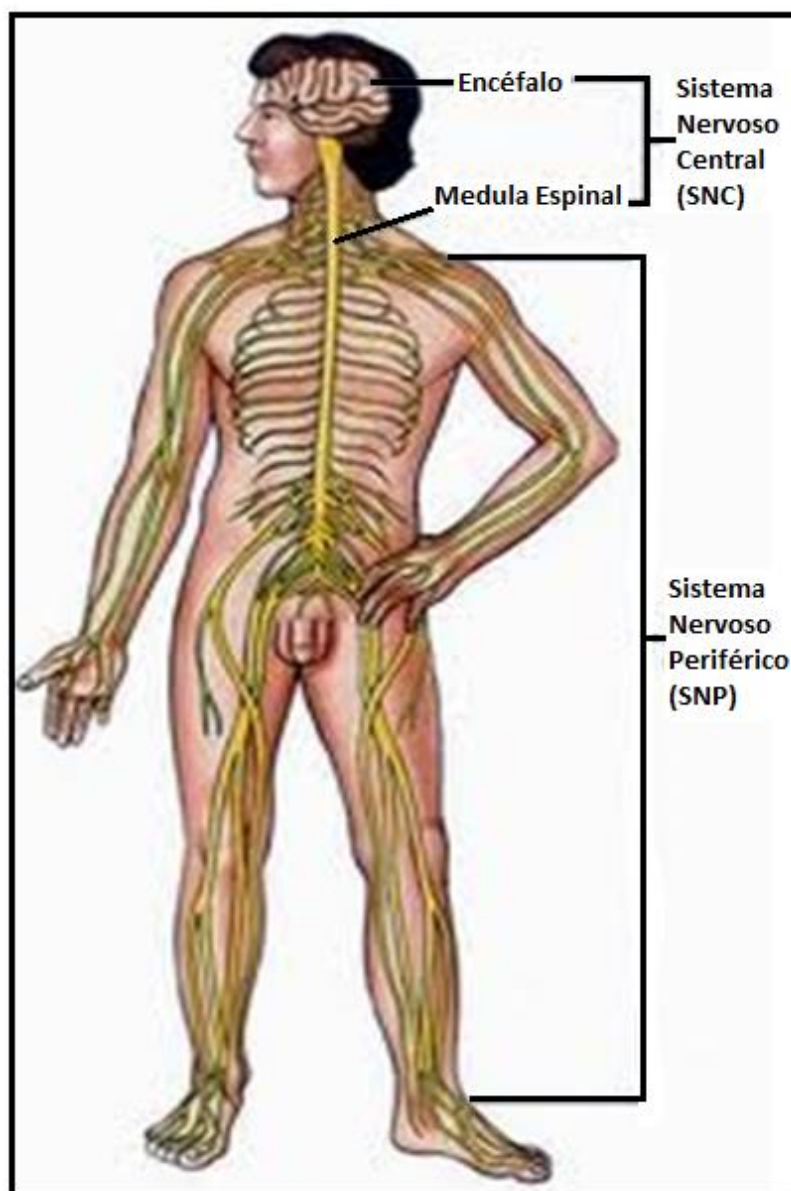


Figura 01. Divisão do Sistema Nervoso (adaptado).

Fonte: SILVA; SILVA, 2014.

1.2.2 Sistema Nervoso Central

O SNC divide-se em encéfalo e medula. O encéfalo corresponde ao telencéfalo (hemisférios cerebrais), diencefalo (tálamo, metatálamo, epitálamo, hipotálamo e subtálamo), cerebelo, e tronco encefálico, que se divide em: bulbo, situado na porção caudal; mesencéfalo, situado cranialmente; e ponte, situada entre ambos (figura 02) (HICKMAN; ROBERTS; LARSON, 2009).

No SNC, existem as chamadas substâncias cinzenta e branca. A substância cinzenta é formada pelos corpos dos neurônios e a branca, por seus prolongamentos. Com exceção do bulbo e da medula espinal, a substância cinzenta ocorre mais externamente e a substância branca, mais internamente. Além disto, as células gliais, promovem a nutrição, defesa e suporte ao funcionamento do SNC (VAN DE GRAAFF, 2003).

Os órgãos do SNC são protegidos por estruturas esqueléticas (caixa craniana, protegendo o encéfalo; e coluna vertebral, protegendo a medula espinal) e por membranas denominadas meninges, situadas sob a proteção esquelética: dura-máter (a externa), aracnóide-máter (a do meio) e pia-máter (a interna). Entre as meninges aracnóide-máter e pia-máter há um espaço preenchido por um líquido denominado líquido cefalorraquidiano ou líquor (BEAR; CONNORS; PARADISO, 2002).

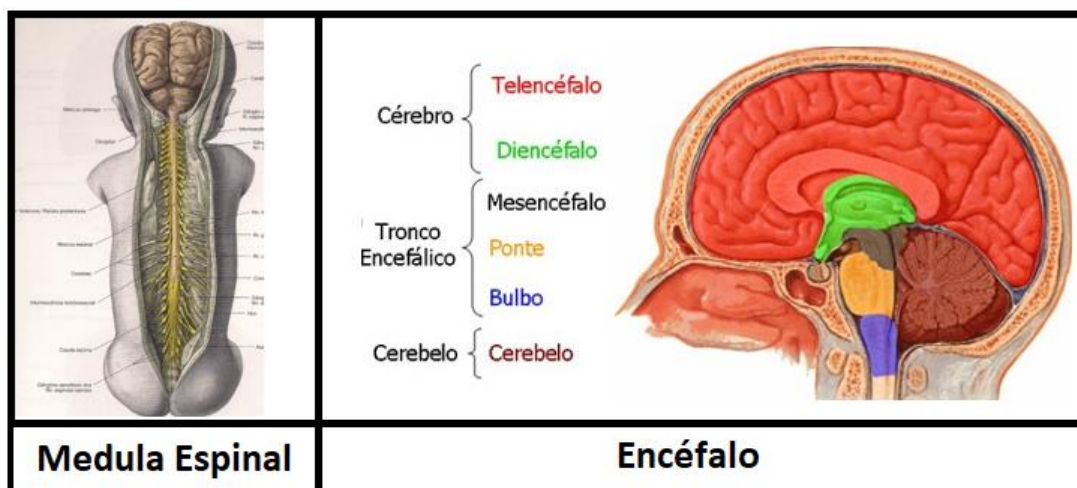


Figura 02. Sistema Nervoso Central (SNC) (adaptado).

Fonte: VAN DE GRAAFF, 2003.

1.2.3 Sistema Nervoso Periférico (SNP)

O sistema nervoso periférico é formado por fibras nervosas e corpos celulares fora do SNC que conduzem impulsos que chegam ou saem do sistema nervoso central. O SNP é organizado em nervos que unem a parte central às estruturas periféricas (MOORE; DALLEY; AGUR, 2013).

É constituído por todos os órgãos nervosos exteriores ao eixo cerebrospinal: receptores sensoriais, nervos e gânglios nervosos. São os nervos que fazem a ligação entre o sistema nervoso central e todas as outras regiões do organismo e partem tanto do encéfalo, como da medula espinal. Do encéfalo partem 12 pares de nervos – os nervos cranianos – que se dirigem, prioritariamente, para as diferentes partes da cabeça, principalmente para os receptores sensoriais dos órgãos dos sentidos; da medula saem 31 pares de nervos – os nervos espinais – que se ramificam por todo o organismo: órgãos, músculos, pele, etc. Qualquer parte de um neurónio que esteja fora do encéfalo ou da medula espinal já faz parte do SNP (figura 03) (DRAKE; VOGL; MITCHELL, 2010).

A divisão funcional do Sistema Nervoso Periférico tem ações voluntárias resultam da contração de músculos estriados esqueléticos, que estão sob o controle do sistema nervoso periférico voluntário ou somático. Já as ações involuntárias resultam da contração das musculaturas lisa e cardíaca, controladas pelo sistema nervoso periférico autónomo, também chamado involuntário ou visceral (MOORE; DALLEY; AGUR, 2013).

O SNP autónomo (SNPA) é dividido em dois ramos: simpático e parassimpático, que se distinguem tanto pela estrutura quanto pela função. Enquanto os gânglios da via simpática localizam-se ao lado da medula espinal, distantes do órgão efetuator, os gânglios das vias parassimpáticas estão longe do sistema nervoso central e próximos, ou mesmo dentro do órgão efetuator (MACHADO, 2006).

As fibras nervosas simpáticas e parassimpáticas inervam os mesmos órgãos, mas trabalham em oposição. Enquanto um dos ramos estimula determinado órgão, o outro o inibe. Essa ação antagônica mantém o funcionamento equilibrado dos órgãos internos (MACHADO, 2006).

O SNPA simpático, de modo geral, estimula ações que mobilizam energia, permitindo ao organismo responder a situações de estresse. Por exemplo, o SNPA simpático é responsável pela aceleração dos batimentos cardíacos, pelo aumento da pressão sanguínea, pelo aumento da concentração de açúcar no sangue e pela ativação do metabolismo geral do corpo (MOORE; DALLEY; AGUR, 2013).

Já o SNPA parassimpático estimula principalmente atividades relaxantes, como a redução do ritmo cardíaco e da pressão sanguínea, entre outras. Tanto nos gânglios do SNPA simpático como nos do parassimpático ocorrem sinapses químicas entre os neurônios pré-ganglionares e os pós-ganglionares. Nos dois casos, a substância neurotransmissora da sinapse é a acetilcolina. No SNPA parassimpático, o neurotransmissor é a acetilcolina, como nas sinapses ganglionares. Já no simpático, o neurotransmissor é, com poucas exceções, a noradrenalina (MACHADO, 2006).

Para a percepção da sensibilidade, na extremidade de cada fibra sensitiva há um dispositivo captador que é denominado receptor e uma expansão que a coloca em relação com o elemento que reage ao impulso motor, este elemento na grande maioria dos casos é uma fibra muscular podendo ser também uma célula glandular (MOORE; DALLEY; AGUR, 2013).

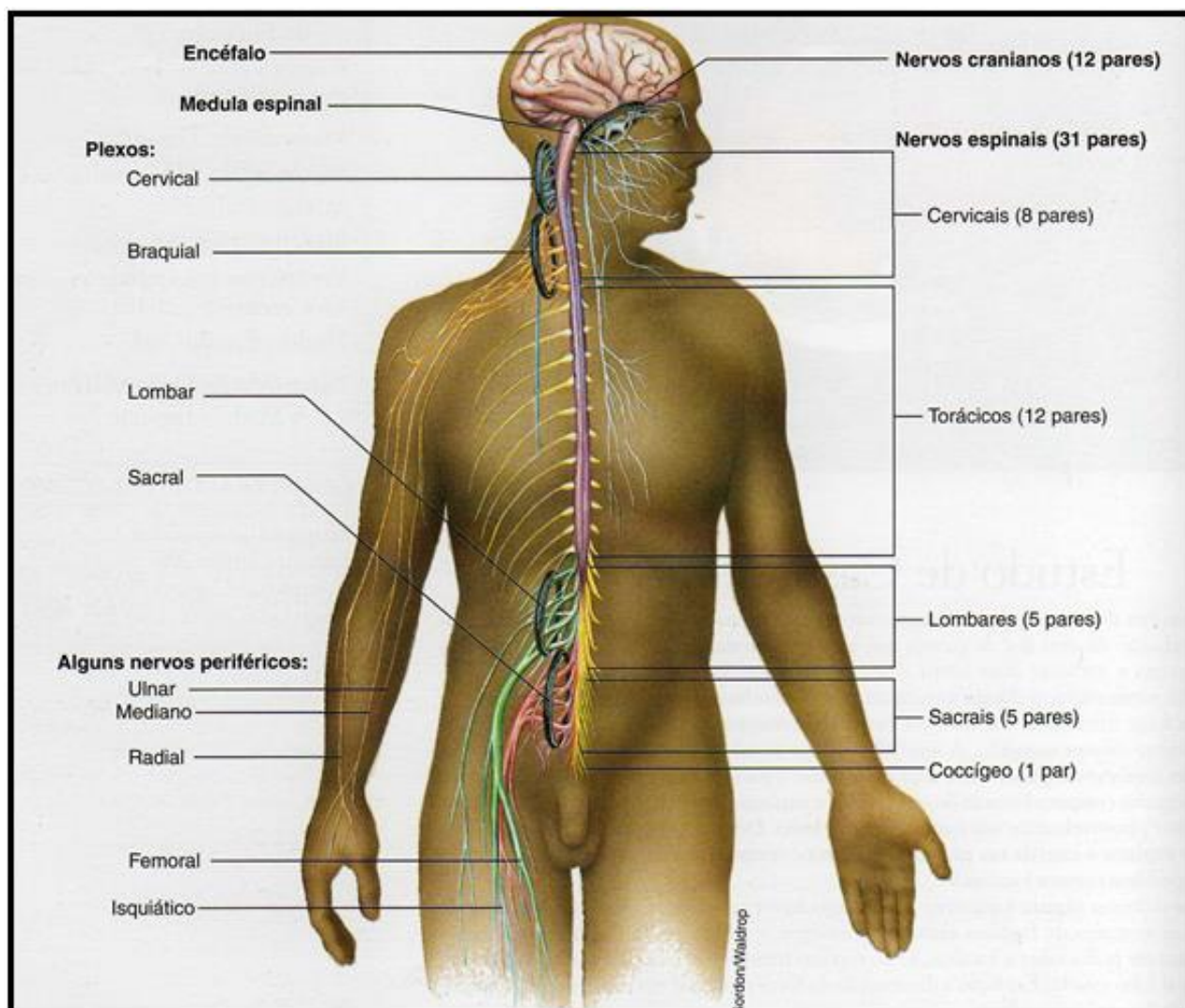


Figura 03. Sistema Nervoso Periférico (SNP) (adaptado).

Fonte: VAN DE GRAAFF, 2003.

1.2.4 Células e tecidos do Sistema Nervoso

Apesar da elevada complexidade do sistema nervoso, o tecido nervoso apresenta apenas dois tipos principais de células. A verdadeira célula nervosa é o neurônio. É a célula condutora que transmite impulsos, e é a unidade estrutural do sistema nervoso. O outro tipo celular é a neurógliia ou células da glia. Essas não são condutoras e proporcionam o sistema de suporte para os neurônios. Elas consistem em um tipo especial de tecido conjuntivo para o sistema nervoso (APPLEGATE, 2012).

- **Neurônios:** Presente em bilhões de quantidade, os neurônios também chamados de células nervosas, são unidades estruturais do sistema nervoso. São células altamente especializadas que conduzem mensagens por impulsos nervosos de uma parte do corpo para outra, além de possuírem algumas outras características como: extrema longevidade se bem nutridos, funcionam perfeitamente por um longo período; não possuem a capacidade de divisão mitótica, quando os neurônios assumem seus papéis como elo comunicante do sistema nervoso, eles perdem sua capacidade sua de divisão celular. Quando destruídos, não podem ser substituídos. Com exceção do epitélio olfatório e algumas regiões do hipocampo, que possuem células tronco com capacidade de se diferenciarem em nervos neuronais ao longo da vida; possuem altas taxas metabólicas e necessitam de um contínuo e suprimento em abundância de oxigênio e glicose. Os neurônios não sobrevivem por mais que alguns minutos sem oxigênio (MARIEB; HOEHN, 2009).

Segundo Ekman (2008), descreve as partes dos neurônios da seguinte maneira (figura 04):

- ✓ **Dendritos:** São prolongamentos numerosos e curtos do corpo celular, sendo eles que recebem estímulos de outros neurônios (terminal de recepção) 1 neurônio – 10 mil dendritos.
- ✓ **Corpo Celular:** Encontrados em maior parte do citoplasma com ribossomos, RER, mitocôndrias, complexo de Golgi, citoesqueleto e o núcleo da célula, local onde ocorre muito gasto de energia e oxigênio.

- ✓ **Axônio:** É um prolongamento que transmite o impulso nervoso proveniente do corpo celular, mede de centímetros até 1 metro.
- ✓ **Bainha de Mielina:** Capa isolante (gordura), que envolve o axônio, protege e permite uma condução mais rápida dos impulsos elétricos.
- ✓ **Neurônios Mielínicos:** 400km/h (neurônio motor) (motoneurônio).
- ✓ **Neurônios Amielínicos:** 4 a 30km/h (poucos neurônios).
- ✓ **Terminal do Axônio ou Botão Sináptico:** Parte final do axônio onde ficam os neurotransmissores (terminal de transmissão).

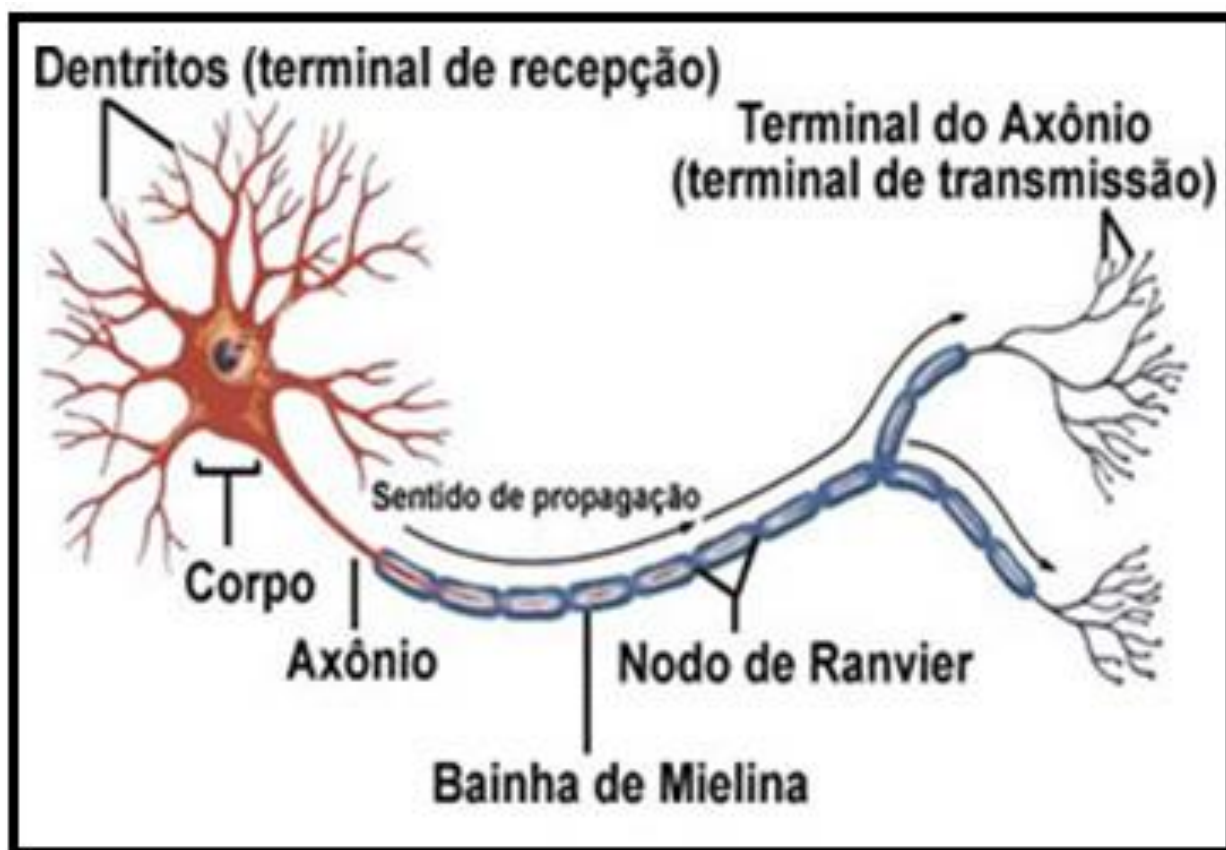


Figura 04. Estrutura do neurônio (adaptado).

Fonte: Machado, 2006.

- **Células Gliais ou Neuróglia:** São as células mais frequentes no sistema nervoso, podendo ter a proporção entre neurônios e células gliais variada de 1:10 a 1:50, e que exercem diversas funções. Alguns tipos de células gliais SNC:
 - **Astrócitos:** abundantes (1 neurônio : 10 astrócitos) se caracteriza por inúmeros prolongamentos, sendo de dois tipos: Astrócitos Protoplasmáticos (na substância cinzenta) e Astrócitos Fibrosos (na substância branca), é responsável por algumas funções tais como: suporte e proteção neuronal; suporte aos oligodendrócitos durante a mielinização; formação da membrana limitante glial (*glia limitans*); auxília no controle do microambiente neural; orientação a migração neuronal durante o desenvolvimento; forma cicatriz glial após agressões do tecido nervoso; funções imunes (apresentação antigênica, secreção de citocinas etc.); indução das características da barreira hematoencefálica.
 - **Oligodendrócitos:** responsável pela produção da bainha de mielina no SNC.
 - **Células de Schwann** (macroglia): produção da bainha de mielina no SNP.
 - **Micróglia:** são células pequenas e alongadas que apresentam a função de defesa (fagocitária) sendo considerado equivalente no SNC a um tipo de macrófago, originadas a partir de monócitos derivados da medula óssea vermelha que migram durante o desenvolvimento neonatal. Sua função é fagocitose, de células mortas, detritos e microrganismo invasores.
 - **Ependimócitos** ou **Células do Epêndima:** são células cuboides ou prismáticas que revestem as paredes dos ventrículos cerebrais, do aqueduto do mesencéfalo e do canal central da medula espinal. Apresentam microvilosidades na sua face luminal e são geralmente ciliadas. Nos ventrículos encefálicos, essa célula se modifica recobrando-o por tecidos conjuntivos, rico em capilares sanguíneos, que protegem a pia-máter, constituindo os plexos coriáceos (LCR).

1.3 Dopamina

A Dopamina (DA) é um neurotransmissor que pertence ao grupo das catecolaminas, predominante no SNC, sendo distribuída de forma abundante, e também em algumas áreas periféricas específicas como o sistema renal e sistema cardiovascular. Possui função estimulante e está relacionada com o controle dos movimentos, sensação de prazer, ao movimento corporal, memória e aprendizado, recompensa, comportamento e cognição bem como da regulação da produção do hormônio prolactina, atenção, humor e sono (BARAJAS; CORONEL; FLORÁN, 2015).

As alterações nos níveis de DA estão correlacionadas com a expressão de diversas doenças tais como a doença de Parkinson (WARREN *et al.*, 2017), esquizofrenia (EDDY, 2017), distúrbios bipolares (KWIATKOWSKI *et al.*, 2017), discinesia tardia (VASAN; PADHY, 2017), Síndrome de Tourette (EDDY, 2017), autismo (BISSONETTEET; ROESCH, 2016), distúrbios alimentares (VOLKOW; WISE; BALER, 2017) e toxicodependência (VOLKOW; WISE; BALER, 2017). A toxicodependência e a doença de Parkinson são exemplos dos problemas associados com os níveis anormais da dopamina (figura 05) (LANG; LOZANO, 1998).

A dopamina é um composto orgânico de função mista álcool, fenol e amina que apresenta fórmula molecular $C_8H_{11}NO_2$.

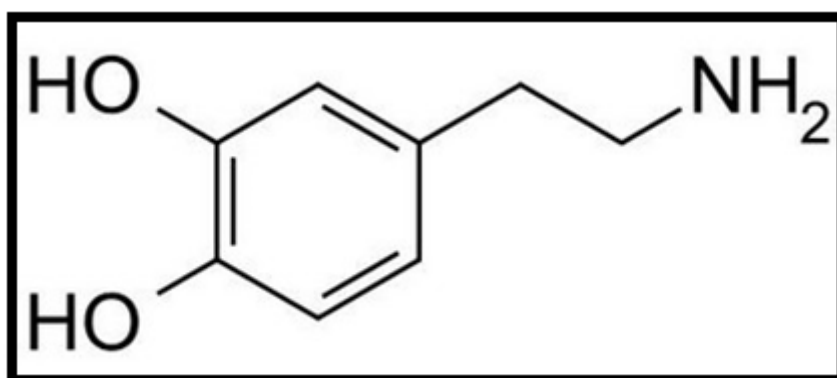
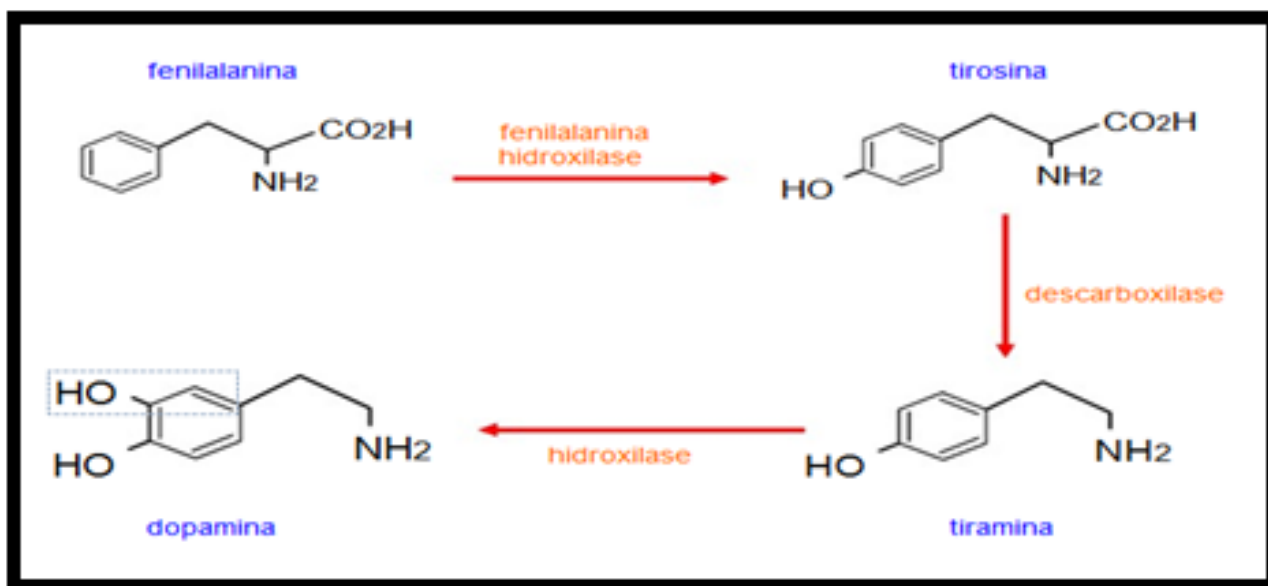


Figura 05. Fórmula química da dopamina.

Fonte: WIKIMEDIA COMMONS, 2001.

A DA é sintetizada a partir da fenilalanina que sofre a ação da fenilalanina-hidroxilase, formando a tirosina, que, uma vez na circulação, por ser ativada por carregadores inespecíficos para o interior da célula nervosa. A tirosina é posteriormente convertida em DOPA (hidroxilada diidroxifenilalanina), em DA pela enzima aminoácido-aromático descarboxilase (figura 06) (LADER; GENTIL FILHO,



1977).

Figura 06. Esquema da síntese da dopamina.

Fonte: LADER; GENTIL FILHO, 1977.

A degradação da DA ocorre através das enzimas monoamina oxidase (MAO) e o catecol-O-metil-transferase (COMT), sendo o produto final da degradação da DA, por qualquer uma das enzimas (MAO ou COMT) é o ácido homovalínico (HVA). Dentro da célula, a MAO é encontrada na membrana externa da mitocôndria, a responsável pela produção de energia para os órgãos da célula. Existem dois tipos diferentes de MAO, o MAOA e MAOB. Os genes para ambos estão localizados no cromossomo X. As duas formas diferem ligeiramente na sua localização e na capacidade de metabolizar os neurotransmissores de dopamina e afins. Como o MAO é responsável pela degradação da dopamina, sua deficiência resulta em aumento da atividade da dopamina. A catecolamina-O-metiltransferase desempenha

um papel relativamente pequeno no metabolismo da dopamina e parece ser mais importante na dopamina degradante da área do córtex pré-frontal do cérebro. A COMT existe, tanto como proteína solúvel, como proteína de ligação de membrana (figura 07) (GOLAN *et al.*, 2009).

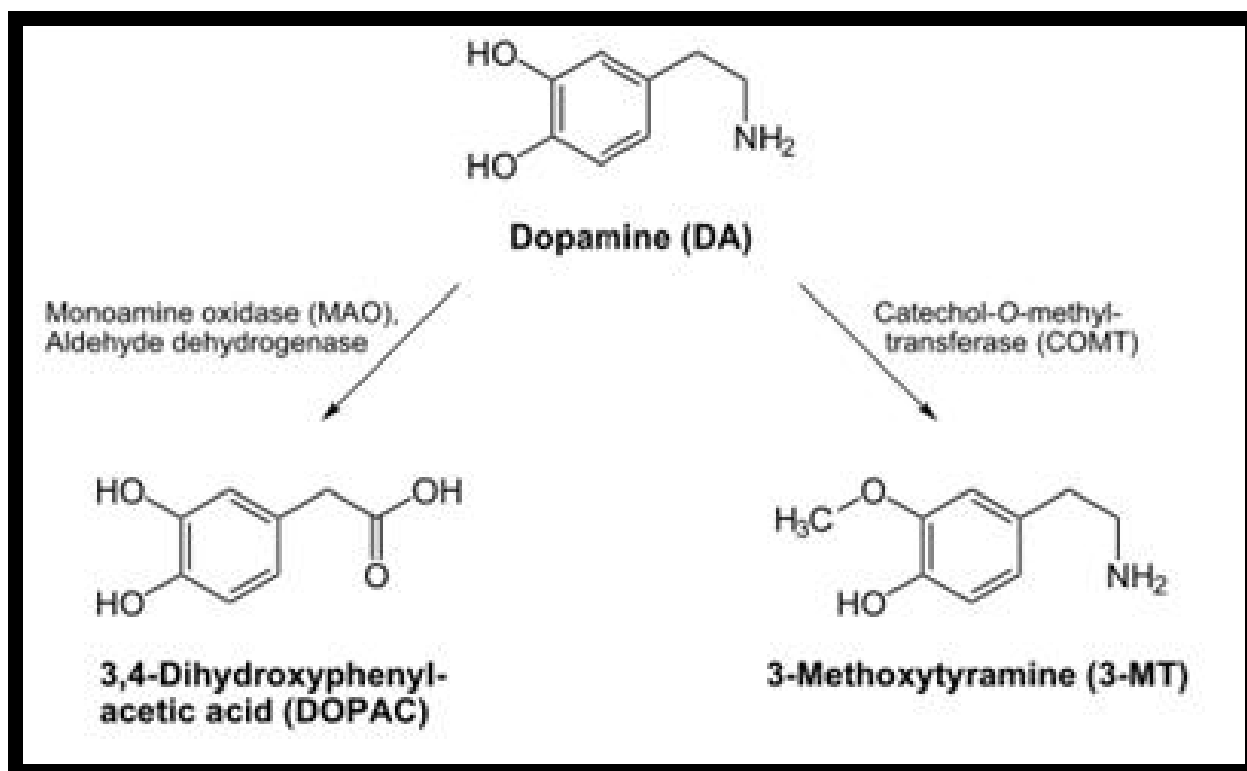


Figura 07. Degradação da dopamina.

Fonte: GOLAN *et al.*, 2009.

Os receptores dopaminérgicos são pertencentes à família de receptores acoplados a proteína G (GPCRs). Existem cinco subtipos de receptores: D1, D2, D3, D4 e D5, que são divididos em dois grupos de acordo com a sua estrutura e resposta biológica. O grupo D1-like é composto pelos receptores D1 e D5, e no grupo D2-like é composto por receptores D2, D3 e D4 (KEBABIAN, 1978).

Os receptores de DA, são alvos de estabelecidos na farmacologia clínica de vários distúrbios e condições patológicas como a esquizofrenia, doença de Parkinson, transtorno bipolar, depressão, hiperatividade, hiperprolactinemia, tumores

pituitários, hipertensão, gastroparesia, náuseas e disfunção erétil (NIZNIK e VAN TOL, 1992).

Os receptores da família D1 são aqueles associados a uma proteína G estimulante (G_3) a abertura dos canais de iônicos de cálcio e por consequência ocorre a despolarização da célula, o que leva a excitação dos neurônios que propaga o impulso elétrico. A família do D2 tem seus receptores inibitórios, pois hiperpolarizam o neurônio através de proteínas G inibitórias (G_i), e impedem consequentemente a propagação do impulso (CALLIER *et al.*, 2003).

Os receptores também podem ser, pré e pós-sinápticos. Os receptores pré-sinápticos, são do grupo D2 e atuam na regulação da liberação de DA para células pós-sinápticas. Encontrado na grande maioria nos corpos celulares e dendritos da substância negra e da área tegumentar ventral. Os receptores pós-sinápticos podem ser dos tipos D1 e D2 (WEINER *et al.*, 1991).

Os receptores D1 e D2 se encontram distribuídos em quantidades diferentes e em diferentes regiões anatômicas do SNC. O estriado apresenta altos níveis de expressão de ambos os grupos de receptores. Na maior parte das regiões neocorticais o receptor D1 tem sua expressão elevada, com menor expressão do receptor D2 (HURD; SUZUKI; SEDVALL, 2001).

Anatomicamente, os receptores estão localizados da seguinte maneira: D1 e D2, no caudado, putâmen, nucleus accumbens e trato olfativo; D3 áreas límbicas, trato olfativo, nucleus accumbens, ilhotas de Calleja do hipotálamo; D4 no córtex frontal, hipocampo e nucleus accumbens e D5 no hipocampo e hipotálamo (MATTOS; MATTOS, 1999).

A família de receptores de DA do tipo D1 está acoplada de forma positiva à adenil ciclase (AC) que é responsável pelo acúmulo intracelular de adenina-monofosfato (AMPC) e também ativa a proteína quinase (PK) dependente de AMPC

(figura 08) (BARAJAS; CORONEL; FLORÁN, 2015).

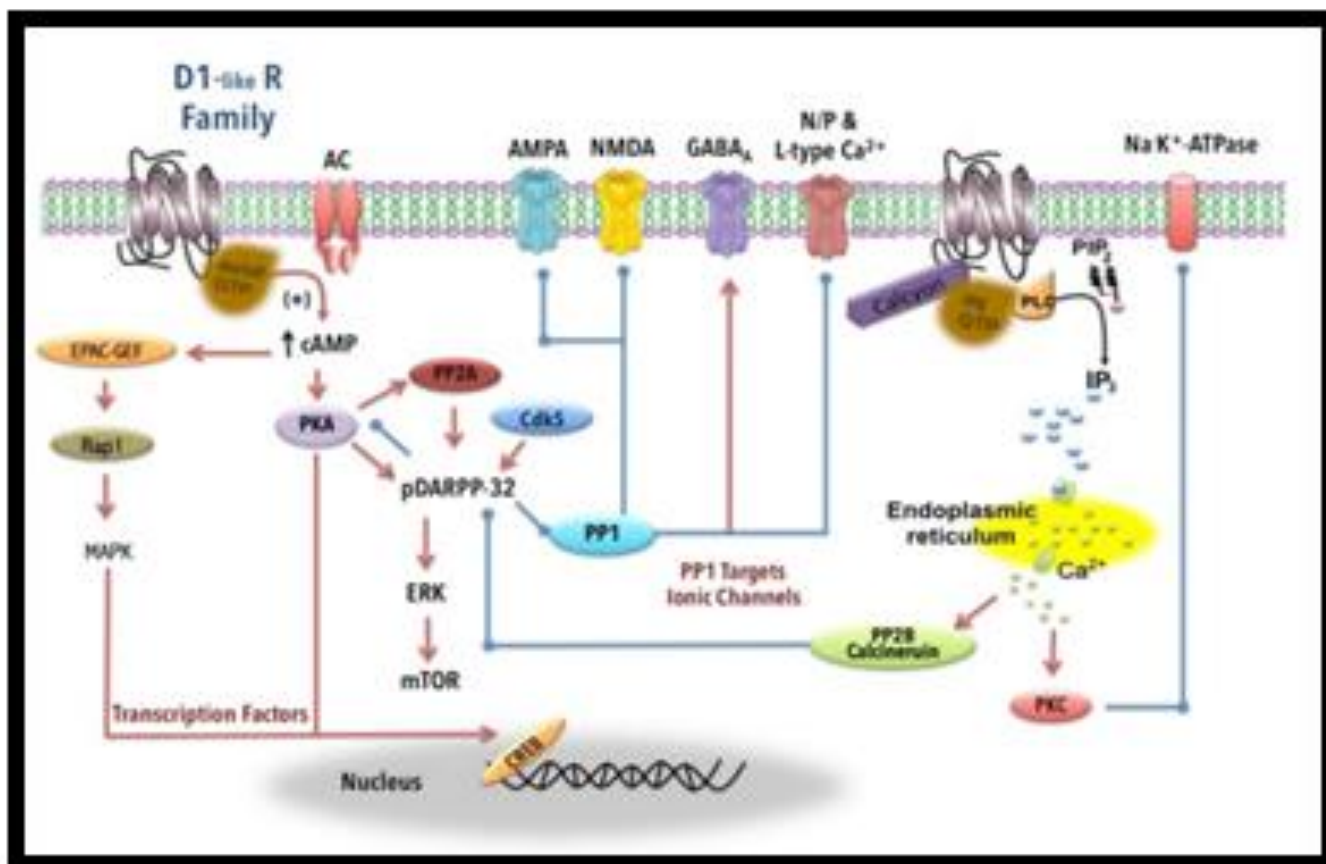


Figura 08. Sinalização intracelular dos receptores Da D1-Like.

Fonte: BARAJAS; CORONEL; FLORÁN, 2015.

Os caminhos de sinalização intracelular dos receptores de DA D1-like (figura08) apontam os efeitos mediados pela DA através dos receptores do tipo D1 pela ativação de sinais intracelulares. As setas vermelhas indicam os efeitos estimulantes e as setas em azul terminadas por um círculo, representa os efeitos inibitórios (BARAJAS; CORONEL; FLORÁN, 2015).

1.3.1 Vias dopaminérgicas

A DA encontra-se presente em quatro regiões principais do SNC: na substância nigra, lobos frontais, sistema límbico (área tegumentar ventral) e na hipófise. No sistema nigroestriatal, os corpos celulares dos neurônios estão presentes na zona compacta da substância nigra, se projetam até os núcleos caudado e putâmen que constituem o neostriado, alguns deles continuam até o córtex motor. A DA é responsável por controlar as zonas motoras do núcleo da base, relacionada com a motricidade somática em especial com o controle de movimentos involuntários. Quando se têm a morte de neurônios nessa região, no homem, desenvolve-se a doença de Parkinson (figura 09) (DELUCIA *et al.*, 2007).

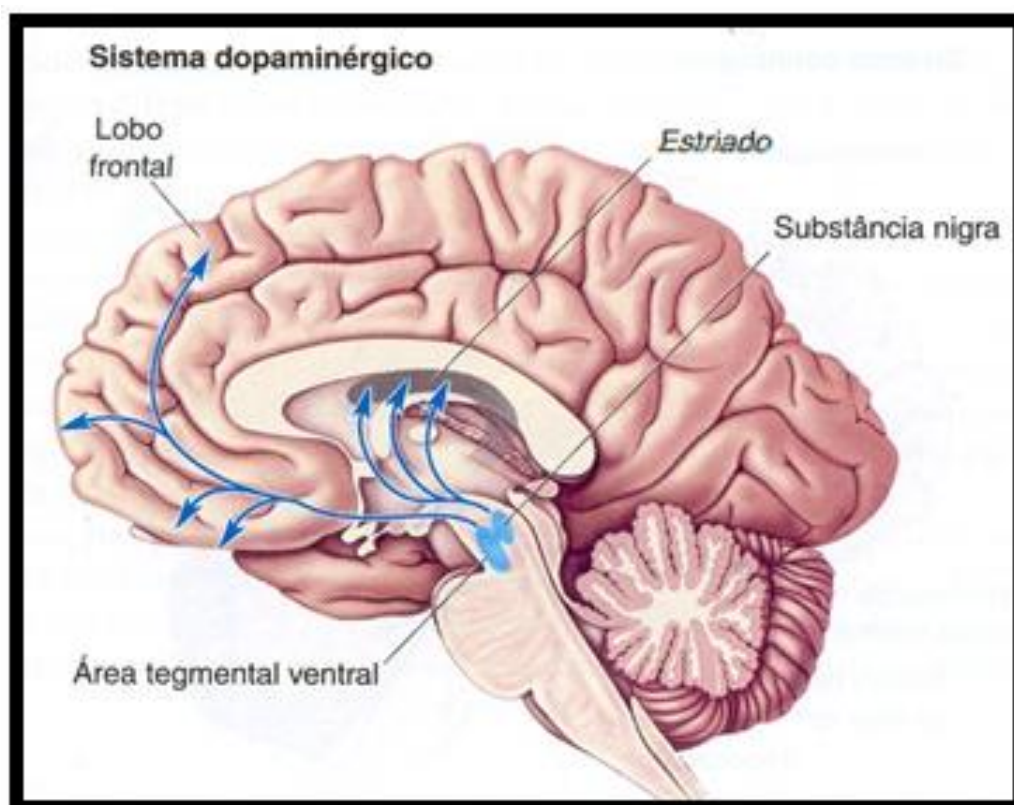


Figura 09. Vias dopaminérgicas.

Fonte: DELUCIA *et al.*, 2007.

Nos lobos frontais, a DA está relacionada com a atenção e orientação, possui um papel importante em seres humanos, em casos de dependência de drogas e pode ser notada em casos de transtornos de déficit de atenção/hiperatividade (TDAH) (LEVY, 2009). No sistema límbico, o neurotransmissor DA é responsável pelo controle das respostas emocionais. As áreas em questão, se relacionam com centros de reforço e estimulação, por esta razão, estão associadas ao aumento da função dopaminérgica sendo a responsável pela dependência de drogas em seres humanos (VOLKOW; WISE; BALER, 2017), e igualmente na esquizofrenia (EDDY, 2017), quando se faz uso de bloqueadores dopaminérgicos para o seu tratamento. Em animais e em seres humanos, a dopamina é o neurotransmissor principal na evocação do comportamento agressivo (WALTES; CHIOCCHETTI; FREITAQ, 2016; ROSELL; SIEVER, 2015). Na região da hipófise a DA libera hormônios hipofisários, ativando receptores que inibem a secreção de prolactina e o hormônio do crescimento (GH) e controla o comportamento materno (SPINOSA; GÓRNIK; BERNARDI, 2011).

1.3.2 Drogas que agem no Sistema Dopaminérgico Central: agonistas e antagonistas

Segundo DELUCIA *et al.*(2007), os agonistas dopaminérgicos são classificados como de ação direta, como por exemplo, a apomorfina e aqueles de ação indireta, como os derivados da anfetamina. Os agonistas dopaminérgicos tem uso limitado na terapêutica. O metilfenidato é empregado nos distúrbios de déficit de atenção enquanto que alguns derivados da anfetamina, no controle da obesidade. Com relação aos antagonistas da DA seu emprego mais importante é no controle da esquizofrenia sendo denominados de antipsicóticos. São classificados com antipsicóticos clássicos e atípicos. Os antipsicóticos clássicos são antagonistas de receptores D2 pós-sinápticos da dopamina enquanto os atípicos também bloqueiam outros receptores de monoaminas, particularmente 5HT. A clozapina é um antagonista de receptores D4. A ativação pela dopamina dos receptores D2 pós-sinápticos inibe a produção de adenilato ciclase através das proteínas Gi, o que impede a conversão de ATP em AMPc, e consequentemente, interrompe a ativação

da proteína cinase C. Além disso, ativa os canais de K⁺ (hiperpolarização celular) e suprime as correntes dos canais de Ca⁺ controlados por voltagem, caracterizando um efeito inibitório. A inibição desses receptores pelos fármacos antipsicóticos faz com que o ATP passe a ser convertido em AMPc e este aumente a atividade da proteína cinase C. A PKC por sua vez fosforila os canais de K⁺, determinando seu fechamento e a repolarização sináptica. O resultado desse evento é o favorecimento dos processos de despolarização da membrana com a consequente inibição dos sintomas positivos da doença (BRUNTON; CHABNER; KNOLLMANN, 2012). O antagonista D1, SCH-23,390, não tem uso clínico.

A figura 10 ilustra os principais agonistas e antagonistas que interagem com os receptores da dopamina.

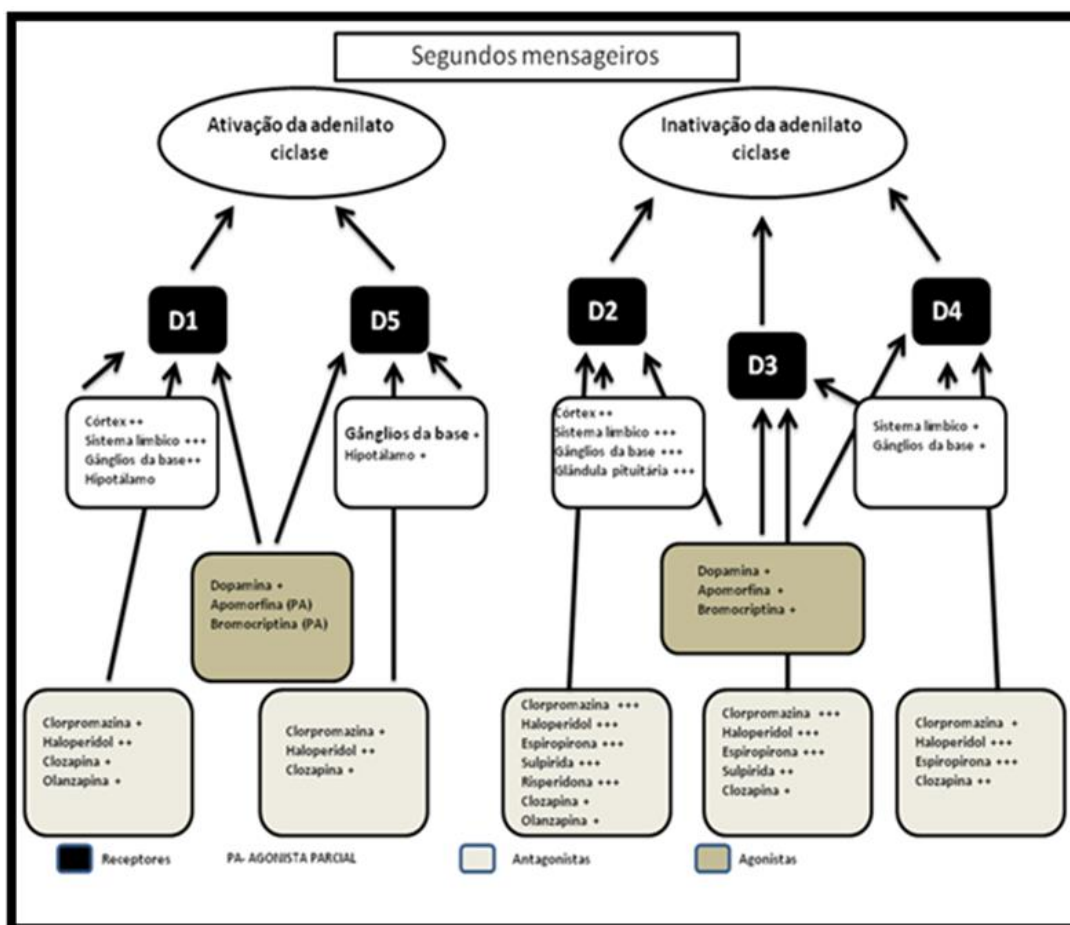


Figura 10. Distribuição dos receptores de dopamina nas áreas sistema nervoso central, agonistas e antagonistas dopaminérgicos e a intensidade de interação com os receptores. Com relação aos antagonistas e agonistas + baixa ligação. ++ ligação mediana. +++ alta ligação aos receptores. Nas áreas do sistema nervoso central os sinais indicam a densidade dos receptores das vias dopaminérgicas.

Fonte: Essa imagem foi elaborada a partir das referências (BEAULIEU; ESPINOZA; GAINETDINOV, 2015; SOKOLOFF; LE FOLL, 2017; MARAMAL *et al.*, 2016

1.4 Síndrome de Kabuki

No ano de 1991 no Japão foi descrita pela primeira vez a Síndrome de Kabuki por dois médicos, Niikawa e Koruki, que através de pesquisas realizadas com crianças nesse país, embora os estudos fossem descritos de maneira independentemente, foi publicado de forma simultânea. A síndrome herdou o nome de Kabuki, por suas características faciais serem semelhantes as das máscaras ou

das maquiagens usadas por atores de teatro na cultura japonesa (SCHOEN-FERREIRA *et al.*, 2010).

No Japão a estimativa da prevalência da Síndrome de Kabuki é de aproximadamente, 30 casos por milhão de nascimentos, e um número de novos diagnósticos em todo o mundo se faz cada vez mais crescente (GABRIELI *et al.*, 2002).

A etiologia da Síndrome de Kabuki é desconhecida, sabe-se que é uma doença genética rara, que pode acometer qualquer raça ou gênero. A maior parte dos casos é esporádica e é sugerida por algumas famílias como hereditariedade autossômica dominante (DUPONT *et al.*, 2010).

O diagnóstico é estabelecido a partir dos achados clínicos, a Pentade de Niikawa que se resume em cinco características fundamentais sendo elas: Dimorfismo facial: as alterações faciais estão presentes em 100% dos casos e apresentam: reversão da pálpebra inferior, fenda palpebral alongada, sombrancelhas em forma de arco, cílios alongados, esclera azulada, ponta nasal voltada para baixo, palato alto e fendido, fenda labial, orelhas dimórficas, 83% dos casos (SCHOEN-FERREIRA *et al.*, 2010).

Em genética, o padrão de herança é autossômico dominante, e a maioria corresponde a casos esporádicos, o que sugere que se trata de novas mutações. Foram reportadas anomalias cromossômicas associadas a síndrome, desde o ano de 2010, as mutações no gene KMT2D, antes chamado MLL2 (12q12-q14), foram identificadas como as principais causas da síndrome em pacientes afetados. Existe uma variante denominada Kabuki tipo II, com mutações descritas do gene KDM6A (Xp11.3), com um fenótipo similar, porém, com um padrão de herança dominante ligado ao cromossomo X (ANDERSEN *et al.*, 2014).

Outras alterações também foram descobertas como defeitos cardíacos congenitos, anomalias fístulas peri-oculares, e diversas anomalias dentárias. Anomalias esqueléticas: As alterações esqueléticas estão presentes em 92% dos casos: braquidactilia, clinodactilia, escoliose, luxação congênita de quadril e luxação da patela. Anormalidades dermatoglíficas: Coxins adiposos na face palmar da falange distal, aumento das presilhas ulnares, ausência de trirrádio digital e aumento

de padrões hipotênares. Retardo mental de leve a moderado: Ocorre em 92% dos casos. Deficiência no crescimento pós-natal: ocorre em 83% dos casos (ADAM; HUDGINS; 2005; SCHOEN-FERREIRA *et al.*, 2010).

Também podem ocorrer outras patologias como: alterações geniturinárias, anomalias gastrointestinais, incluindo atresia anal, ptose e estrabismo. As diferenças funcionais podem incluir: aumento da susceptibilidade a infecções e distúrbios autoimunes, convulsões, anormalidades endocrinológicas, incluindo telarca prematura em mulheres, problemas de alimentação e perda auditiva (SANTOS *et al.*, 2013).

Ao longo da vida, o fenótipo evolui e as características faciais típicas tornam-se menos evidentes no adulto jovem, predominando a baixa estatura, a obesidade e a macrocefalia relativa. Sendo a identificação desta síndrome recente, a doente mais velha com diagnóstico de SK no ano de, 2010 tinha 49 anos, ainda não está completamente definida a história natural da doença. No entanto, os dados publicados nas literaturas, sugerem não haver diminuição na esperança de vida. A maioria das manifestações clínicas, são passíveis de intervenção médica e mediante um acompanhamento adequado é possível garantir a integração social e a qualidade de vida destes indivíduos (DUPONT *et al.*, 2010).

Esta síndrome foi considerada inicialmente como prevalente apenas no Japão, mas agora foi descrita em todo o mundo. A mutação genética na síndrome de Kabuki foi identificada em 2010 como mutações MLL2 em pacientes com esta síndrome (síndrome de Kabuki 1, OMIM 147920) (NG *et al.*, 2010). Bögershausen, Bruford e Wollnik (2013) propuseram uma nova nomenclatura para o gene MLL2 como KMT2D [5]. O gene KMT2D consiste em cinquenta e quatro regiões de codificação e funções como histonelisina N-metiltransferase em várias vias de sinalização como a modulação epigenética. No entanto, mutações no gene KMT2D sozinhas não podem explicar as alterações em todos pacientes com a síndrome de KABUKI. Mais recentemente foram identificadas mutações no gene KDM6A, que codifica uma histona desmetilase que interage com KMT2D (síndrome de Kabuki 2, OMIM 300867) (LEDERER *et al.*, 2013). Portanto, a análise de mutações nos genes KMT2D e KDM6A ajudam a confirmar o diagnóstico em

pacientes que preencheram os critérios do diagnóstico clínico para a síndrome de Kabuki (LIU *et al.*, 2015).

2 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAM, M. P.; HUDGINS, L. Kabuki Syndrome. **A review Clin. Genet.**, Seattle, v. 67, n. 3, p. 209-219, 2005. Disponível em: < <https://doi.org/10.1111/j.1399-0004.2004.00348.x>>. Acesso em: 15 jan 2017.

ANDERSEN, M.S.; MENAZZIA, S.; BRUNA, P.; COCAHA, C.; MERLAB, G.; SOLARI, A. Diagnóstico Clínico em el Síndrome de Kabuki: Fenótipo e anomalias associadas en dos casos nuevos. **Arch Argent Pediatr**, Argentina, v. 112, n. 1, p. 13-17, 2014. Disponível em: < <http://www.scielo.org.ar/pdf/aap/v112n1/v112n1a17.pdf>>. Acesso em: 12 jun. 2017.

APPLEGATE, E. **Anatomia e Fisiologia**. 4 ed. Rio de Janeiro: Elsevier Editora, 2012, 492 p.

BARAJAS, C. R.; CORONEL, I.; FLORÁN, B. Dopamine Recptors and Neurodegeneration. **Aging and Disease**. USA, v. 6, n. 5, p. 349-368, 2015. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4567218/>>. Acesso em: 12 jun. 2017.

BEAR, M. F., CONNORS, B. W., PARADISO, M. A. **Neurociências-Desvendando o Sistema Nervoso**. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 2002. 855 p.

BEAULIEU, J. M.; ESPINOZA, S.; GAINETDINOV, R. R. Dopamine receptors – IUPHAR Review 13. **British Jornal of Pharmacology**, Italy, v. 172, n. 1, p. 1-23, 2015.

BISSONETTE, G. B.; ROESCH, M. R. Development and function of the midbrain dopamine system: what we know and what we need to. **Genes Brain Behav**, USA, v. 15, n. 1, p. 62-73, 2016. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26548362>>. Acesso em: 18 jun. 2017.

BÖGERSHAUSEN, N.; BRUFORD, E.; WOLLKIN, B. Skirting the pitfalls: a clear-cut nomenclature for H3K4 methyltransferases. **Clin Genet**, USA, v. 83, n. 3, p. 212-214, 2012. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3597981/>>. Acesso em: 14 dez. 2017.

BRUNTON, L. L.; CHABNER, B. A.; KNOLLMANN, B. C. **A As bases farmacológicas da terapêutica**. 12. ed. São Paulo: Artmed, 2012. 1891 p.

CALLIER, S.; SNAPYAN, M.; LE CROM, S.; PROU, D.; VICENT, J. D.; VERNIER, P. Evolution and cell biology of dopamine receptors in vertebrates. **Biology of the cell**, USA, v. 95, n. 7, p. 489-502, 2003. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14597267>>. Acesso em: 28 fev. 2017.

DANGELO, J. G.; FATTINI, C. A. **Anatomia humana básica**. 2. ed. São Paulo: Ateneu, 2004, 183 p.

DELUCIA, R.; OLIVEIRA-FILHO, R. M.; PLANETA, C. S.; GALLACCI, M.; AVELLAR, M. C. W. **Farmacologia Integrada**. 3. ed. Rio de Janeiro: Revinter, 2007. 701 p.

GABRIELI, A.P.T.; ROVARIS, F.V.; BISOL, L.E.; BORGES, L.; MICHELIN, M. M.; LOVATTO, L. Síndrome da Maquiagem de Kabuki. **Acta Ortop. Bras.** Caxias do Sul, v. 10, n. 3, p. 57-61, 2002. Disponível em: < <http://www.scielo.br/pdf/aob/v10n3/14346.pdf>>. Acesso em: 26 jun. 2017.

DRAKE, Richard L.; VOGL, A. Wayne; MITCHELL, Adam W. M. **Gray's Anatomia para Estudantes**. Rio de Janeiro: Elsevier, 2010, 1103 p.

DUPONT, J.; DIAS, P.; MEDEIRA, A.; SANTOS, H.; CORDEIRO, I. Síndrome de Kabuki: Caracterização de 16 doentes portugueses. **Acta Pediátrica Portuguesa**, Portugal, v. 41, n. 2, p. 86-91, 2010. Disponível em: <<http://actapediatrica.spp.pt/article/view/4417/3275>>. Acesso em: 14 jan. 2017.

EDDY, C. M. Social cognition and self-other distinctions in neuropsychiatry: Insights from schizophrenia and Tourette syndrome. **Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry**, Birmingham, v. 17, p. 30844-8, 2017. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29195921>>. Acesso em: 15 fev. 2017.

EKMAN, L. L. **Neurociência: Fundamentos para a reabilitação**. 3. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2008. 477 p.

FELDMAN, R. S.; MEYER, J. S.; QUENZER, L. F. **Principles of Neuropsychopharmacology**. 1. ed. Mass.: Sinauer Associates Inc, 1997. p. 277-344.

GOLAN, D. E.; TASHJIAN Jr., A. H.; ARMSTRONG, E. J.; ARMSTRONG, A. W. **Princípios de farmacologia: a base fisiopatológica da farmacoterapia**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan., 2009. 934 p.
GRABOWSKI, R. S. **Princípios de Anatomia e Fisiologia**. 9. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008. 1047 p.

HICKMAN, Cleveland P.; ROBERTS, Larry S.; LARSON, Allan. **Princípios integrados de zoologia**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2009. 846 p.

HURD, Y. L.; SUZUKI, M.; SEDVALL, G. C. D1 and D2 dopamine receptor mRNA expression. In whole hemisphere sections of the human brain. **Journal of Chemical Neuroanatomy**, USA, v.22, n. 1-2, p. 127-37, 2001. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11470560>>. Acesso em: 13 jul. 2017.

KEBABIAN, J.W. Multiple classes of dopamine receptors in mammalian central nervous system: the involvement of dopamine-sensitive adenylyl cyclase. **Life Sci**, USA, v. 23, n.1, p. 479-483, 1978.

KWIATKOWSKI, M. A.; HELLEMANN, G.; SUGAR, C. A.; COPE, Z. A.; MINASSIAN, A.; PERRY, W.; GEYER, M. A.; YOUNG, J. W. Dopamine transporter knockdown mice in the behavioral pattern monitor: A robust, reproducible model for mania-relevant behaviors. **Pharmacol Biochem Behav**, USA, v. 17, p. 30545-2, 2017. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29289701>>. Acesso em: 16 mar. 2017.
LADER, M.H.; GENTIL FILHO, V. Conceitos básicos em psicofarmacologia clínica. **Folha Med.**, v. 75, p. 147, 1997.

- LANG, A. E.; LOZANO, A. M. Parkinson's disease. First of two parts. **N. Engl. J. Med.**, USA, v.339, n. 15, p. 1044-1053, 1998. Disponível em: <<http://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJM199810083391506>>. Acesso em: 18 jun 2017.
- MACHADO, Angelo. **Neuroanatomia Funcional**. 2 ed. São Paulo: Atheneu, 2006. 363 p.
- LEDERER, D.; GRISART, B.; DIGILIO, M. C.; BENOIT, V.; CRESPI, M.; GHARIANI, S. C.; MAYSTADT, I.; DALLAPICCOLA, B.; VERELLEN-DUMOULIN, C. Deletion of KDM6A, a histone demethylase interacting with MLL2, in three patients with Kabuki syndrome. **Am J Hum Genet**, USA, v. 90, n. 1, p. 119-24, 2012. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22197486>>. Acesso em: 15 jan. 2017.
- LEVY, F. Dopamine vs noradrenaline: inverted-U effects and ADHD theories. **Aust N Z J Psychiatry**, Australia, v. 43, n. 2, p. 101-8, 2009. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19153917>>. Acesso em: 20 ago. 2017.
- LIU, S.; HONG, X.; SHEN, C.; SHI, Q.; WANG, J.; XIONG, F.; QUI, Z.; Kabuki syndrome: a Chinese case series and systematic review of the spectrum of mutations. **BMC Med Genet**. China, v. 16, n. 26, 2015. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4630853/>>. Acesso em: 15 fev. 2017.
- MARAMAL, S.; GEMMA, S.; BROGI, S.; CAMPIANI, G.; BUTINI, S.; STARK, H.; BRIDISI, M. Dopamine D3 Receptor Antagonists as Potential Therapeutics for the Treatment of Neurological Diseases. **Frontiers in Neuroscience**, USA, v. 10, n. 451, p. 1-16, 2016.
- MARANHÃO, M. V. M.; GOMES, E. A.; CARVALHO, P. E. Epilepsia e anestesia. **Rev. Bras. Anesthesiol**, Recife, v. 61, n. 2, p. 232-254, 2011. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rba/v61n2/v61n2a13.pdf>>. Acesso em: 14 abr. 2017.
- MARIEB, Elaine N; HOEHN, K. **Anatomia e Fisiologia**. 3 ed. São Paulo: Artmed, 2009, 1007 p.
- MATTOS, J. P., MATTOS, V. M. B. C. Novos Agonistas Dopaminérgicos. **Arq. Neuropsiquiatria**, Rio de Janeiro, v. 57, n. 2-A, p. 329-332, 1999. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/anp/v57n2A/1492.pdf>>. Acesso em: 10 ago. 2017.
- MOORE, Keith; DALLEY, Arthur F; AGUR, Anne M.R., **Anatomia orientada para a clínica**. 6 ed. Rio de Janeiro; Ganabara Koogan, 2013, 1104 p.
- MORENO, R. A.; MORENO, D. H.; SOARES, M. B. M. Psicofarmacologia de antidepressivos. **Rev. Bras. Psiquiatria**, São Paulo, v. 21, n. 1, p. 24-40, 1999. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S1516-44461999000500006>>. Acesso em: 23 mai. 2017.
- NETO, J. G. V. FALAVIGNA, A. Neuroanatomia. Tomo II. Porto Alegre: EDIPUCRS, 2003. 183 p.
- NG, S. B.; BIGHAM, A. W.; BUCKINGHAM, K. J.; HANNIBAL, M. C.; MCMILLIN, M. J.; GILDERSLEEVE, H. I.; BECK, A. E.; TABOR, H. K. COOPER, G. M.; MEFFORD, H. C.; LEE, C.; TURNER, E. H.; SMITH, J. D.; RIEDER, M. J.; YOSHIURA, K.; MATSUMOTO, N.; OHTA, T.; NIKAWA, N.; NICKERSON, D. A.; BAMSHAD, M. J.; SHENDURE, J. Exome sequencing identifies MLL2 mutations as a cause of Kabuki syndrome. **Nat Genet**, USA, v. 42, n. 9, p. 790-3, 2010. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20711175>>. Acesso em: 23 nov. 2017.
- NIZIK H.B.; VAN T.H.H. Genes do receptor de dopamina: novas ferramentas para a psiquiatria molecular. **J Neurociências da Psiquiatria**, USA, v. 17, n. 1, p. 158-180, 1992.

RANG, H.P.; RITTER, J.M.; FLOWER, R.J.; HENDERSON G. **Rang & Dale Farmacologia**. 8. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2016. 703 p.

REQUETIM, L. R. C. **A utilização em terapêutica de substâncias com atividade nootrópica**. 2013. 75f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Algarve, 2013. Disponível em: < <http://docplayer.com.br/14621780-A-utilizacao-em-terapeutica-de-substancias-com-atividade-nootropica-luis-ricardo-charneca-requetim.html>>. Acesso em: 15 jun. 2017.

ROSSEL, D. R., SIEVER, L. J. The neurobiology of aggression and violence. **CNS Spectr**, USA, v. 20, n. 3, p. 254-79, 2015. Disponível em: <[https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/259362490\(3\):254-79](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/259362490(3):254-79)>. Acesso em: 19 out. 2017.

SANTOS, A.S.; NETO, F.P.S.; RAMOS, T.A.; SILVA, D. A.; SOUZA, D. O.; GUIMARÃES, I. C. B.; GUIMARÃES, A. Características orais e craniofaciais da Síndrome de Kabuki: relato de um caso. **Rev. Ciên. Méd. Biol.**, Salvador, v.12, n.3, p.385-388, 2013. Disponível em: < <https://portalseer.ufba.br/index.php/cmbio/article/view/8147/6679>>. Acesso em: 30 mar. 2017.

SCHOEN-FERREIRA, T.H.; RAMOS, J.M.P.; ÁVILA, M.E.B.; DABBUR, R. R.; LIMA, T. A.; MARTELETO, M. R. F. Síndrome de Kabuki: Estudo de caso a respeito das características comportamentais, cognitivas, sociais e fonoaudiológicas. **Aletheia**, Canoas, v. 32, p.70-79, 2010. Disponível em: < <http://pepsic.bvsalud.org/pdf/aletheia/n32/n32a06.pdf>>. Acesso em: 23 abr. 2017.

SILVA, G. T. R.; SILVA, S. R. L. do P. T. **Manual do técnico e auxiliar de enfermagem**. São Paulo: Martinari, 2014. 720 p.

SOFUOGLU, M.; SEWELL, R.A. Norepinephrine and Stimulant Addiction. **Addiction Biology**, USA, v. 14, p.119-129, 2009. Disponível em: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1369-1600.2008.00138.x/epdf?r3_referer=wol&tracking_action=preview_click&show_checkout=1&purchase_referrer=www.google.com.br&purchase_site_license=LICENSE_DENIED>. Acesso em: 15 jul. 2017.

SOKOLOFF, P. LE FOLL, B. The dopamine D3 receptor, a quarter century later. **European Journal of Neuroscience**, Londres, v. 45, p. 2-19, 2017.

SPINOSA, H.S.; GÓRNIK, S.L.; BERNARDI, M.M. **Farmacologia aplicada à medicina veterinária**. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2011. 824 p.

TRUJILO, R.B.; FLORES, G.; MONTAÑO, J.A.A. Dopamina: síntesis, liberación y receptores en el Sistema Nervioso Central. **Rev Biomed**, México, v. 11, n. 1, p. 39-60, 2000. Disponível em: <<http://www.medigraphic.com/pdfs/revbio/bio-2000/bio001f.pdf>>. Acesso em: 18 abr. 2017.

VALE, N. B. Princípios de Farmacodinâmica de Drogas Anestésicas. **Rev. Bras. de Anestesiologia**, Natal, v. 44, n. 1, p. 13-23, 1994. Disponível em: < <https://xa.yimg.com/kq/groups/73928583/.../Princ-+prios+de+Farmacodin-+amica.pdf>>. Acesso em: 01 abr. 2017.

VAN DE GRAAFF, Kent M. **Anatomia Humana**. 6 ed. São Paulo: Manole, 2003. 840 p.

VASAN, S.; PADHY, R. K. Tardive Dyskinesia. **Treasure Island: StatPearls**, USA, 2017. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK448207/>>. Acesso em: 20 abri. 2017.

VOLKOW, N. D.; WISE, R. A.; BALER, R. The dopamine motive system: implications for drug and food addiction. **Nat Rev Neurosci**, USA, v. 18, n. 12, p. 741-752, 2017. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29142296>>. Acesso em: 19 jul. 2017.

VOLKMANN, Jeans; ALBANESE, Alberto; ANTONINI, Angelo; CHAUDHRI, K. Ray; CLARKE, Carl E.; BIE, Rob M. A.; DEUSCHL, Günther; EGGERT, Karla; HOUETO, Jean-Luc; KULISEVSKY, Jaime; NYHOLM, Dag; ODIN, Per; OSTERGAARD, Karen; POEWE, Werner; POLLAK, Pierre; RABEY, Jose Martin; RASCOL, Olivier; RUZICKA, EVZEN; SAMUEL, Michael; SPEELMAN, Hans; SYDOW, Olof; VALLDEORIOLA, Francesc; LINDEN, Chris Van Der; OERTEL, Wolfgang. Selecting deep brain stimulation or infusion therapies in advanced Parkinson's disease: an evidence-based review. **J Neurol**. New York, v. 260, n. 11, p. 2701-14, nov. 2013. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3825542/>>. Acesso em: 19 jun. 2017.

WALTES, R.; CHIOCCHETTI, A. G.; FREITAQ, C. M. The neurobiological basis of human aggression: A review on genetic and epigenetic mechanisms. **Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet**, Germany, v. 171, n. 5, p. 650-75, 2016. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26494515>>. Acesso em: 21 set. 2017.

WARREN, N.; O'GORMAN, C.; LEHN, A.; SISKIND, D. Dopamine dysregulation syndrome in Parkinson's disease: a systematic review of published cases. **J Neurol Neurosurg Psychiatry**, Austrália, v. 88, n. 12, p. 1060-1064, 2017. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29018160>>. Acesso em; 12 jan 2017.

WEINER, D. M.; LEVEY, A. L.; SUNAHARA, R. K.; NIZNIK, H. B., O'DOWD, B. F.; SEEMAN, P.; BRANN, M. R. D1 and D2 dopamine receptor mRNA in rat brain. *Proc. Natl Acad Sci USA*, **Neurobiology**, Bethesda, v.88, n. 5, p. 1859-1863, 1991. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC51125/?page=3>>. Acesso em: 18 out 2017.

3 ARTIGO

Hiperatividade do Sistema Dopaminérgico Central em camundongo mutante *bapa*: um modelo experimental da Síndrome de Kabuk

OLIVEIRA, M.A.¹, PATRÍCIA, E.¹, SILVA-RODRIGUES, P.¹, SANTOS, F.A.V.¹, SAMPAIO, A.C.S.¹, OLIVEIRA, N.S.¹, GOMES, M.S.A.G.², BONDAN, E.F.¹, FELÍCIO, L.F.², KIRSTEN, T.B.¹, MORI, C.M.C.², MASSIRONI, S.M.G.³, BERNARDI, M.M.¹

1. Patologia Ambiental e Experimental, Universidade Paulista – UNIP, Rua Dr. Bacelar, 1212, CEP: 04026-002, Vila Clementino, São Paulo, SP, Brasil.

2. Patologia Experimental e Comparativa, Departamento de Patologia, Escola de Medicina Veterinária e Ciência Animal, Universidade de São Paulo, Av. Prof. Dr. Orlando Marques de Paiva, 87, CEP: 05508-270, Butantã, São Paulo, SP, Brasil.

3. Departamento de Imunologia, Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo (USP), Av. Prof. Lineu Prestes, 1730, CEP: 03178-200, Butantã, São Paulo, SP, Brasil.

Título de corrida: mutant *bapa* ratinhos e dopamina

Correspondência para: Maria Martha Bernardi
Programa de Pós-Graduação em Meio Ambiente e
Patologia Experimental
Universidade Paulista
Rua Dr. Bacelar, 1212, 04026-002
São Paulo, SP, Brasil
e-mail: marthabernardi@gmail.com
maria.bernardi@docente.unip.br

RESUMO

Objetivos: os camundongos mutantes de bate palmas ("aplaudir", símbolo - *bapa*) induzidos pela ENU química mutagênica e afetados por uma mutação recessiva, apresentam incoordenação motora, evidenciada por alterações posturais com movimentos anormais dos membros traseiros quando levantados pela cauda. Como o comportamento motor está relacionado ao sistema dopaminérgico, este estudo avaliou comportamentos relacionados ao sistema dopaminérgico central neste mutante. **Métodos:** foram utilizados camundongos mutantes *bapa* machos e camundongos balb C. O teste de campo aberto e a coordenação motora avaliada em uma trave elevada, foram empregados para avaliar os comportamentos exploratórios / motores. O labirinto elevado foi usado para estudar a ansiedade e a memória emocional. A estereotipia induzida pela apomorfina e os efeitos de SCH-23.390 e

antagonistas de clozapina D4 foram utilizados para avaliar o sistema dopaminérgico.

Principais achados: em relação ao balb C, os camundongos bapa mostram: 1) aumento da atividade geral observada no campo aberto durante 4 dias, e após exposição a um novo objeto nos 5 dias de observação e na latência para atravessar a trave elevada; 2) nenhum comportamento semelhante à ansiedade e na memória emocional foram observados no teste de labirinto em cruz elevado; 3) aumento do comportamento de farejar e diminuição do tempo de imobilidade e nenhuma diferença na frequência de levantar após administração de apomorfina; 4) em ambas as linhagens, o SCH-23,390 bloqueou todos os parâmetros de estereotipia induzidos pela apomorfina, mas o comportamento de farejar foi atenuado; 5) o antagonista D4 não afetou o comportamento de farejar, mas comportamento de levantar foi reduzido em ambas as cepas. **Conclusões:** a hiperatividade dos camundongos bapa é devido ao aumento do sistema dopaminérgico central, envolvendo principalmente os receptores DR1, mas não o receptor D4.

Palavras-chave: campo aberto, trave elevada, estereotipia; apomorfina, clozapina; SCH-23,390.

Hyperactivity of the Dopaminergic Central System in *bapa* mutant mice: an experimental model of the Kabuki Syndrome

OLIVEIRA, M.A.¹, PATRÍCIA, E.¹, SILVA-RODRIGUES, P.¹, SANTOS, F.A.V.¹, SAMPAIO, A.C.S.¹, OLIVEIRA, N.S.¹, BONDAN, E.F.¹, KIRSTEN, T.B.¹, GOMES, M.S.A.G.², FELÍCIO, L.F.², MORI, C.M.C.², MASSIRONI, S.M.G.³, BERNARDI, M.M.¹

1. Environmental and Experimental Pathology, Universidade Paulista - UNIP, Dr. Bacelar Street, 1212, CEP: 04026-002, Vila Clementino, São Paulo, SP, Brazil.

2. Experimental and Comparative Pathology, Department of Pathology, School of Veterinary Medicine and Animal Science, University of São Paulo, Av. Dr. Orlando Marques de Paiva, 87, CEP: 05508-270, Butantã, São Paulo, SP, Brazil.

3. Department of Immunology, Institute of Biomedical Sciences, University of São Paulo (USP), Av. Lineu Prestes, 1730, CEP: 03178-200, Butantã, São Paulo, SP, Brazil.

Running title: Mutant *bapa* mice and dopamine

Correspondence to: Maria Martha Bernardi
Graduate Program of Environmental and
Experimental Pathology
Paulista University
Rua Dr. Bacelar, 1212, 04026-002
São Paulo, SP, Brazil
e-mail: marthabernardi@gmail.com
maria.bernardi@docente.unip.br

ABSTRACT

Aims: The mutant *bate palmas* (“applauding”; symbol - *bapa*) mice induced by the mutagenic chemical ENU and affected by a recessive mutation, present motor incoordination, evidenced by postural alterations with abnormal movements of the hind limbs when raised by the tail. Because motor behavior is related to dopaminergic system, this study evaluated behaviors related to central dopaminergic system in this mutant mouse. **Methods:** Male *bapa* mutant mice and its wild strain wt, were used. The open field test and motor coordination in a wooden beam were employed to evaluate exploratory/motor behaviors. The elevated plus maze was used to study the anxiety and emotional memory. The stereotypy induced by apomorphine and the effects of SCH-23,390 and clozapine D4 antagonists were used to evaluate the dopaminergic system. **Key findings:** Relative to wt, the *bapa* mice shows: 1) increased

general activity observed in the open field during 4 days, after exposure to a new object in the 5 day of observation and in the latency to cross the wooden beam; 2) no anxiety-like behavior and in the emotional memory were observed in the elevated plus maze; 3) increased sniffing behavior and decreased immobility time without differences in rearing behavior after apomorphine administration; 4) in both strains the SCH-23,390 blocked all parameters of stereotypy induced by apomorphine but attenuated sniff behavior; 5) clozapine did not affect the sniffing behavior but reduced rearing behavior in both strains. **Conclusions:** the hyperactivity of bapa mice is due to an increase in central dopaminergic system, mainly involving the DR1 receptors but not the D4 receptor.

Key words: open field, wooden beam, stereotypy; apomorphine, clozapine; SCH-23,390.

3.1 INTRODUCTION

In 2006 the group of Massironi et al (2006) produced new mice mutations with the potent chemical mutagen ethylnitrosourea (ENU). One of them was affected by a recessive mutation and was called as *bate palmas* (“applauding”; symbol - *bapa*). *Bapa* presents motor incoordination, evidenced by postural alterations with abnormal movements of the hind limbs when raised by the tail (Massironi et al., 2006).

A mutation in the lysine (K) -specific methyltransferase 2D gene (KMT2D2, also known as MLL2 or MLL4) on chromosome 15 was identified as a strong candidate for *bapa* mutation. This mutation was confirmed by DNA sequencing by the Sanger method. A mutation with loss of function in the KMT2D gene, located on chromosome 12 in humans, has been described causing Kabuki syndrome, a rare, autosomal dominant congenital anomaly, also known as Niikawa-Koruki syndrome (Adam and Hudgins, 2005). Wessels et al (2002), in a review about 300 patients with Kabuki syndrome, stated that 87% demonstrate some cognitive impairment, 30% demonstrate hypotonia, 25% demonstrate microcephaly, and 8% demonstrate seizures. Also, choreiform movements and bilateral dysmetria were evident in the upper extremities of a patient with Kabuki syndrome. Grunseich et al. (2010) described a patient with Kabuki syndrome who presented with physiologic tremor in her distal upper extremities.

The phenotype characterization of the *bapa* mutant mice showed that relative to the wt, the male *bapa* mice presented increased fall of the posterior train, lower response in the auricular reflex and in response to the tail grip. Both males and females had a decrease in the righting reflex compared to its wild type, the BALB /c mice. In the forced swim test males and females mutants swim in a tilted position relative to the controls and become more

immobile(Oliveira et al., 2016). These data suggest that the *bapa* mutant mice have motor impairment.

It is known that the dopaminergic (DAergic) system controls the motor activity particularly by the nigrostriatal DAergic system (Rothwell, 2011;Grillner and Robertson, 2016). Bernardi et al (1979) showed that the open field test is suitable to investigate the motor function in rats. Moreover, administration of D1/D2,D3,D4 and D5 DAergic agonist, apomorphine, induces stereotypy and is used to investigate the DAergic system related to motor function (Bernardi and Palermo-Neto, 1984;Bianchi et al., 1986;Canales and Graybiel, 2000).

The objective of this study was to evaluate the involvement of DAergic system in our mutant mice because they present abnormal movements suggesting a disturbance on motor system. Moreover, the stereotyped behavior and its blockage with DAergic antagonists of D1 and D4 receptors were performed to investigate the involvement of these receptors on motor disturbance of *bapa* mice. We employed the specific dopaminergic D1 antagonist SCH-23,390 (Bourne, 2001) and the D4 antagonist, clozapine (Hippius, 1989) to investigate the involvement of these receptors on stereotypy of *bapa* mice in the neostriatum (Briere et al., 1987;Presti et al., 2003).

3.2 MATERIAL AND METHODS

3.2.1 *Ethics statement*

The present study was approved by the Ethics Commission of the University Paulista (permit no. 055/17 -CEUA/ICS/UNIP). All efforts were made to minimize the suffering of the animals and reduce the number of animals used. The experiments were performed in accordance with good laboratory practice protocols.

3.2.2 *Animals*

A total of 60 mutant male *bapa* and 63 BALB/ c (wild-type mice- wt), with 90 days of age were obtained from the facilities of the Instituto de Ciências Biomédicas (ICB|USP) and maintained in University Paulista facilities. The mice were housed in groups of five in microisolator cages under controlled temperature (22-26°C) and humidity (50-65%) in artificially lit rooms on a 12 h/12 h light/dark cycle (lights on at 7:00 AM) with free access to filtered water and irradiated food (BioBase, Águas Frias, Brazil). Sterilized, residue-free wood shavings were used for animal bedding. The experiments were performed ten days after the animals arrival to the facilities to habituated with the new conditions.

3.2.3 *Drugs*

Apomorphine hydrochloride (Sigma-Aldridge) was dissolved in distilled water immediately before treatment and injected by s.c route. The dopaminergic antagonists D1,R(+)- SCH-23,390 hydrochloride (Sigma-Aldridge) and the D4 antagonist , clozapine (Sigma-Aldridge) were dissolved in saline solution 0.9% and administered by i.p. route. The control groups received either distilled water or saline solution 0.9% depending on the experiment.

3.2.4 *Open field behavior*

The open field (OF) was used to assess the mice motor behavior and general activity as previously described (Gusmão et al., 2013). The behavior in the OF were observed daily for 4 days because increases in the DAergic system reduces the habituation in the open field (Furlan and Brandão, 2001). The OF apparatus was a white circular wooden arena. The open-field used in the present study was a circular wooden box (40 cm in diameter and 50 cm high) with an open top and a floor divided into 19 squares. The apparatus was placed in a sound-attenuated room with dim light (55 lx at the OF arena). In the OF test, each animal was placed in the center of the arena and observed for 5 min. The OF was cleaned with a 5% alcohol solution between sessions to remove any odors. We evaluated the total frequencies of locomotion frequency as the animal entering one area of the arena floor with all four paws, the rearing frequency with which the mice stood on their hind legs in the maze, the duration of immobility (the length of time in seconds during which the animal did not engage in any motor activity, i.e., the head, trunk, and limbs were still) and grooming (duration of time the animal spent licking or scratching itself while stationary).

3.2.5 *Interaction with a new object in the open field*

This test was performed to investigate the effects of a new object on general activity of *bapa* and wt mice after repeated exposure to open field. Thus, in the day after the last open field observation, the same mice and the same parameters were employed to observe for the new object interaction test.

3.2.6 *Aversive Wooden Beam*

The fine motor coordination and balance were evaluated through the wooden beam. This model was adapted from the one described by Luong et al (2011) and the objective of this test is for the mouse to stay upright and walk across an elevated narrow beam to a safe

platform. The apparatus was a wooden beam with 1.5cm wide and 150 cm long and 20 cm supported on the floor two platforms triangle at each end. During the experiment, this beam was leaning on a balcony of the observation room. In the initial platform was a light, working as aversive stimulus and the final platform a dark box with wood shavings housing box, serving as a shelter and stimulus for the animal crossed. In the first and second day of training, each mouse was placed on the platform for five minutes, during which time the animal explored the beam. The animals were subjected to three sessions of 5 minutes each. On the third day the test was performed, animals were placed in the starting platform and the time in seconds to cross the beam was measured.

3.2.7 *Elevated-plus maze (EPM)*

This test was used to investigate the anxiety (Lister, 1987) and emotional memory related to learning and memory (Frisch et al., 1997; Alvarez and Ruarte, 2002). Two sessions were performed in two consecutive days: in the first session the anxiety-like behavior was evaluated by the time and number of entries in the open and closed arms. In the second session the emotional memory was evaluated by the escape to the closed arms (increased time in the closed arms). The EPM device used was made of wood and had two open arms (23.5 cm × 8 cm) and two enclosed arms of the same size with 20 cm high walls; the apparatus was elevated 80 cm above the ground, it was placed in a sound-proof room with room lamp of 100W (at the floor of apparatus 400 lx). In the first session, the animals were allocated in the center of the maze faced to the closed arms and in the second session, faced to the open arms and observed during 3 min. The time and the number of entries in open and closed arms were evaluated. The EPM was cleaned with a 5% alcohol solution between sessions to remove any odors.

3.2.8 *Stereotyped behavior induced by apomorphine*

The stereotyped behavior induced by the DAergic agonist apomorphine was observed to examine the possible role of the DAergic system with the motor disturbance of *bapa* mice. The stereotyped behavior was observed in a glass box (30x15x15 cm) after 0.6 mg/kg of apomorphine administration by s.c. route. The time in seconds of sniff, frequency of rearing (mice stood on their hind legs with the body in vertical position in the box maze) and immobility (duration in seconds which the animal did not engage in any motor activity) were observed during 20 min after apomorphine administration.

3.2.9 *Experimental design*

In the open field studies, eight mutant *bapa* and eight wt mice were observed during four days in the open field. In the following day after the open field evaluation, these mice were observed for the interaction with a new object. Others mice were observed in the aversive wooden beam (10 *bapa* and 10 wt mice) trained for two days and in the third day tested. In the elevated plus maze fifteen *bapa* and fifteen wt mice were employed and observed in two consecutive days. Two experiments were performed to evaluate the stereotyped behavior. In the first experiment, the stereotypy was observed in eight *bapa* and eight wt mice during 20 minutes, starting immediately after the injection of 0.6 mg/kg of apomorphine, sc. In the second experiment *bapa* and wt were divided into six groups as follows: 1) wt group treated with saline 0.9% fifteen minutes before apomorphine (0.6 mg/kg (WS group n= 8); 2) wt group treated with 0.4 mg/kg SCH-23,390 (Mattingly et al., 1993) fifteen minutes before apomorphine (0.6 mg/kg (WD1 group, n=6); 3) wt mice treated with 2 mg/kg of clozapine (Lassen, 1979) fifteen minutes before apomorphine (0.6 mg/kg (WD4 group, n=8); 4) *bapa* group treated with saline 0.9% fifteen minutes before apomorphine (0.6 mg/kg (BS group, n=6); 2) *Bapa* group treated with 0.4 mg/kg SCH-23,390 fifteen minutes

before apomorphine (0.6 mg/kg (BD1 group, n= 7); 3); *bapa* group treated with 2 mg/kg of clozapine, fifteen minutes before apomorphine (0.6 mg/kg (BD4 group, n=6). The mice were observed during 50 minutes. In all experiments, the mice of wt or *bapa* strains were alternately observed during the light phase of the light/dark cycle between 2:00 PM and 5:00 PM to avoid interferences of the circadian cycle.

3.2.10 Statistical analysis

Homoscedasticity was verified using an *F*-test or Bartlett's test. Normality was verified using the Kolmogorov–Smirnov test. Student's *t*-test (unpaired, two-tailed) and the Mann–Whitney test was used to compare parametric and non-parametric data, respectively, between groups. The one way ANOVA followed by the Tuckey's test to analyze the antagonist's effects. The two-way ANOVA followed by Bonferroni's test was used to analyze data with two factors. Results are expressed as the mean $\pm$ SEM or as medians and interquartile range. In all cases, results were considered significant at $p < 0.05$.

3.3 RESULTS

3.3.1 *Open field behavior*

Fig.1 show the general activity of *bapa* and wt mice in the open field observed during 4 days

The strain of mice modify the locomotion frequency ($F_{1,56} = 11.99$, $p = 0.002$) but not the sessions ($F_{1,56} = 0.31$, $p = 0.82$) without interaction between both factors ($F_{3,56} = 0.20$, $p = 0.90$). An increased locomotion frequency of *bapa* mice relative to wt in sessions 2 to 4 was observed (fig.1A).

The strain of mice modify the rearing frequency ($F_{1,56} = 20.69$, $p < 0.0001$) but not the sessions ($F_{1,56} = 1.07$, $p = 0.37$) without interaction between both factors ($F_{3,56} = 0.21$, $p = 0.89$). An increased rearing frequency of *bapa* mice relative to wt in sessions 2 to 4 was observed (fig.1B). In the immobility duration (fig.1C) the strain of mice influenced the results ($F_{1,56} = 35.65$, $p < 0.0001$), the sessions ($F_{1,56} = 3.31$, $p = 0.03$) without interactions between the factors ($F_{3,56} = 2.13$, $p = 0.11$). Relative to wt mice, the *bapa* mice show decreased immobility duration from session 2 until session 4. In the grooming behavior (fig.2D), the strain of mice influenced the results ($F_{1,56} = 4.01$, $p = 0.05$) but not the sessions ($F_{1,56} = 1.09$, $p = 0.36$) without interactions between the factors ($F_{3,56} = 0.14$, $p = 0.93$). The *bapa* mice shows increased duration of grooming in the last session compared to wt mice. Thus, *bapa* mice showed increased general activity or, alternatively, did not habituate to the repeated exposure to the open field relative to the wild type.

3.3.2 *Interaction with a new object in the open field*

Exposure to a new object increased the locomotion frequency in *bapa* mice relative to wt ($t = 3.53$, $df = 14$, $p = 0.003$, fig.2A). Also an increased rearing frequency was observed after exposure to a new object in *bapa* mice relative to wt ($t = 2.48$, $df = 14$, $p = 0.03$, fig.2B). No

differences between groups were observed in the grooming ($t= 1.89$, $df=14$, $p = 0.08$, fig.2C). The immobility duration was decreased in the mutant mice relative to the wild type ($t=3.15$, $df=14$, $p= 0.007$, fig.2D). Thus, exposure to a new object in the open field increased the interaction with the new object in both mice strain but the *bapa* mice had increased levels of activity relative to wt mice.

3.3.3 *Aversive Wooden Beam*

The time to cross the beam was significantly increased in *bapa* mice [13 (9-20) relative to wt mice [9(7-15), $U=23.50$, $p = 0.05$, fig.2E). Thus, a decreased motor coordination was observed in the *bapa* mice relative to wt group.

3.3.4 *Elevated-plus maze*

The frequency of entries in open arms (fig.2F) was influenced by the sessions ($F_{1,56} = 16.62$, $p = 0.0001$) but not by the strain of mice ($F_{1,56} = 0.36$, $p = 0.55$) without interaction between factors ($F_{1,56} = 0.07$, $p = 0.79$). The frequency in the open arms of both groups was decreased in the second session relative to first session. The time in open arms (fig.2G) was influenced by the sessions ($F_{1,56} = 9.37$, $p = 0.0003$) but not by the strain of mice ($F_{1,56} = 1.29$, $p = 0.26$) without interaction between factors ($F_{1,56} = 1.17$, $p = 0.28$). The time in open arms of both groups decreased in the second session relative to first session. The frequency of risk assessment (fig.2H) was influenced by the sessions ($F_{1,56} = 87$, $p < 0.0001$) and strain of mice ($F_{1,56} = 4.02$, $p = 0.05$) without interaction between factors ($F_{1,56} = 3.34$, $p = 0.07$). The risk assessment was decreased in the second session in both groups. In addition, the risk assessment of *bapa* was decreased relative to wt group in the first session. Thus *bapa* mice did not show anxiety-like behavior except for a reduced risk assessment. In addition, no differences between the emotional memory of both strain were observed.

3.3.5 *Stereotyped behavior induced by apomorphine*

Fig.3 shows the stereotyped behavior induced by 0.6 mg/kg of apomorphine in *bapa* and wt mice observed 10 and 20 minutes after the DAergic agonist.

The sniff time (fig.3 A) the strain of mice influenced the results ($F_{1,28} = 36.21$, $p < 0.0001$), the sessions ($F_{1,28} = 20.28$, $p = 0.0001$) with interaction between factors ($F_{1,28} = 4.66$, $p = 0.04$). In the first ($p < 0.001$) and second session ($p < 0.05$) the *bapa* mice showed increased the time of sniff. The total time of sniff increased in *bapa* mice relative to Wt mice ($t = 5.74$, $df = 14$, $p < 0.0001$, fig.3B).

Rearing behavior (fig.3C) was influenced by the time of observation ($F_{1,28} = 8.82$, $p = 0.006$) but not by the strain ($F_{1,28} = 0.93$, $p = 0.34$) without interaction between factors ($F_{1,28} = 1.53$, $p = 0.23$). The total rearing (fig.3 D) was not different between groups ($t = 0.19$, $df = 14$, $p = 0.43$).

The immobility time (fig.3E) was influenced by both strain of mice ($F_{1,28} = 65.13$, $P < 0.0001$) and sessions ($F_{1,28} = 19.30$, $P = 0.0001$) with interaction between factors ($F_{1,28} = 7.66$, $p = 0.01$). In both sessions (first session – $p < 0.001$, second session $p = 0.01$) the immobility time was reduced in *bapa* mice relative to the wild mice. The total immobility time (fig.3F) was decreased in the mutant mice relative to the wild mice ($t = 7.10$, $df = 14$, $p < 0.0001$). These data revealed that apomorphine increased the stereotypy in *bapa* mice relative to wt mice.

3.3.6 *Effects of D1 and D4 receptor antagonists on stereotyped behavior induced by apomorphine*

Fig.4 shows the effects of both, D1 and D4 antagonists, in wt and *bapa* mice stereotyped behavior induced by apomorphine.

Relative to sniffing the one way ANOVA indicates significant differences at 10 min ($F_{5,35} = 17.35$, $p < 0.0001$), at 20 min ($F_{3,35} = 20.331$, $p < 0.0001$) and in the total sniffing

($F_{5,35} = 20.76$, $P < 0.0001$). The sniffing behavior at 10 min (Fig.4A) was reduced by D1 antagonist in wt group ($p < 0.0001$) but not in *bapa* mice. The D4 antagonist did not affected this behavior in both, wt and *bapa* mice. At 20 min (Fig 4B), the effects of D1 antagonist reduced the sniffing behavior in both strains but this effect was attenuated in *bapa* mice ($p < 0.0001$ in wt mice and $p < 0.001$ in *bapa* mice). The D4 antagonist did not modify the sniffing behavior in both strains in this time. Thus, the total sniffing (Fig.4 C) was reduced in both strains after the D1 antagonist with attenuation in *bapa* mice. The D4 antagonist did not modify this behavior in both strains. The D1 antagonist attenuated this behavior in *bapa* mice while the D4 antagonist did not affected sniffing behavior in both strains.

The one way ANOVA indicates significant differences between groups at 10 min ($F_{5,35} = 9.34$, $p < 0.0001$) but not at 20 min ($F_{5,35} = 1.0$, $p = 0.43$); in total rearing differences were observed between groups ($F_{5,5} = 10.7$, $p < 0.001$). The multiple comparisons test indicates that both antagonists reduced the behavior at 10 min in both strains with a slight attenuation after the antagonists in *bapa* mice (Fig.4 D). No differences were observed between groups at 20 min (Fig.4E). An attenuation of rearing frequency was observed after D1 and D4 antagonists in *bapa* mice (Fig.4F).

Relative to immobility, the one way ANOVA indicates significant differences between groups at 10 min ($F_{5,35} = 14.81$, $p < 0.0001$), 20 min ($F_{5,35} = 19.60$, $p < 0.0001$) and in total immobility ($F_{5,35} = 19.23$, $p < 0.0001$). The immobility time was increased in wt mice with D1 treatment at 10 min (Fig.4G) but not by the D4 antagonist. No effects were observed in *bapa* mice after both antagonists. At 20 min (Fig.4 H), only the D1 antagonist increased the immobility time in *bapa* mice while the D4 antagonist did not. In the total time of immobility (Fig.4I), the effects of D1 antagonist was attenuated in *bapa* mice while the D4 antagonist did not affected this behavior.

3.4 DISCUSSIONS

The increased locomotion and rearing frequencies and the decreased immobility in the open field of *bapa* mutant suggest a hyperactivity of motor system. Increases of general activity and decreased immobility time in the open field were tightly related to increases on striatal DAergic system (Bernardi and Palermo-Neto, 1979; Bernardi et al., 1981; Bernardi and Palermo-Neto, 1984; Ito et al., 2002; Samadi et al., 2013). Moreover, this hyperactivity remained during four sessions and was stimulated by the presence of a novel object, suggesting that *bapa* mice did not habituate to the novel environment (Bouwknicht et al., 2004).

Many studies have reported that systemic injections of DAergic drugs result in profound changes in the behavior of animals in the open field (Bernardi et al., 1981; Chow and Beck, 1984; Carr and White, 1987; Frussa-Filho and Palermo-Neto, 1988; Bruhwylter et al., 1991; Calipari and Ferris, 2013; Siviyy et al., 2015). At the same time, it is hypothesized that increased brain DAergic activity prevents animals from habituating to a novel environment (Furlan and Brandão, 2001).

These effects were mainly resulted from stimulation of the striatal DAergic system related to motor function (Dowd and Dunnett, 2007; Kreitzer, 2009; Bolivar et al., 2000; Groenewegen, 2003). Thus, the increased activity and the lack of habituation in the open field of the *bapa* mutant suggest an increased activity of striatal DAergic system. Motor coordination of *bapa* mice in an elevated wooden beam and confirm that the increase on open field behaviors were related to motor function. In this respect, the mutant mice showed increased time to cross the wooden beam relative to Wt mice. Motor coordination is under the control of several brain areas. The basal ganglia with their inhibitory afferent's, control motor outputs either directly by their projections to the midbrain motor regions or indirectly through the thalamic nuclei (Hikosaka, 1991). Also the cerebellum is classically involve in the

coordination of ballistic movements and in their accompanying postural adjustment (Habas, 2001).

The cerebellum and the basal ganglia are major subcortical nuclei that control multiple aspects of behavior largely through their interactions with the cerebral cortex (Alexander, 1986). Substantial interactions were reported between the cerebellum and the basal ganglia (Bostan et al., 2010). Evidences show that these pathways may provide a useful framework for understanding cerebellar contributions to the manifestation of two prototypical basal ganglia disorders, Parkinson's disease and dystonia (Purzner et al., 2007; Avanzino and Abbruzzese, 2012).

Thus, the hyperactivity and the motor coordination reinforces that our mutant mice have motor dysfunction relative to those of the wild strain.

However habituation also involves learning processes (Rankin et al., 2009). Habituation is a form of simple, nonassociative learning in which the magnitude of the response to a specific stimulus decreases with repeated exposure to that stimulus (Grissom and Bhatnagar, 2009). Rats and mice submitted to repeated exposure to the open field show a decreased exploratory behavior (Russell and Williams, 1973; Kvist, 1983). Repeatedly testing in the open-field sometimes leads to a decrement in the amount of locomotor activity displayed (Pare, 1964), which may be explained in terms of the habituation of exploratory responses since activity may reflect exploratory tendencies as well as emotionality or fearfulness (Whimbey and Denenberg, 1967).

Habituation to a novel environment is commonly defined as a change in exploratory or locomotor activity over time (intrasession) or with repeated exposures (intersession). Several neuroactive substances are known to influence habituation, but the serotonin, acetylcholine, dopamine (DA) and glutamate neurotransmitters have the most important roles in habituation (Leussis and Bolivar, 2006).

So, a lack of habituation observed in the open field would be due to a deficit in learning to the novel environment. Bertoglio and Carobrez (2000) examined the influence of re-exposure to the elevated plus maze in rats. Re-exposure to the elevated plus maze increases the open arm avoidance, therefore suggesting elicit an avoidance learning response to open arms. Then, we submitted our mice to a schedule of aversive learning with spatial characteristic similar to the open field, the elevated plus maze in two consecutive sessions. Our results shows that both, the *bapa* and Wt mice, in the second exposure to the elevated plus maze remained low time in the open arms and reduced the number of entries in the open arms relative to the first session. Thus, a decreased learning to the novelty in the open field could be discarded in the present study.

DA modulates several physiological brain's functions, as locomotion, reward and cognition, through different DAergic pathways (Albanese et al., 1986). The DAergic system originates in two mesencephalic nuclei, the ventral tegmental area (VTA) and the substantia nigra pars compacta (Zeiss, 2005). DAergic neurons of the VTA project to limbic areas and cortical regions, forming the mesolimbic- and mesocortical pathways (Arias-Carrián et al., 2010). The projection of the substantia nigra pars compacta to the dorsal striatum constitute the nigrostriatal pathway (Chinta and Andersen, 2005). Mesolimbic and nigrostriatal dopaminergic pathways may be important in the mediation of locomotor activity and stereotyped behaviors. Locomotion has been related to nucleus accumbens (Liu et al., 1998) whereas stereotyped behaviors, including sniffing, are more closely associated with the caudate-striatum (Rapp and Vollmer, 2005).

The basal ganglia dysfunction might produce repetitive behaviors known as motor stereotypies (Canales and Graybiel, 2000; Rapp and Lanovaz, 2011). By applying psychomotor stimulants (Mason et al., 1978; Mattingly et al., 1988; Presti et al., 2004; Budygin, 2007) and a direct DA receptor agonist (Mason et al., 1978; Feigenbaum et al., 1982) stereotypy was

induced in rats and mice. Thus, imbalances between the organized basal ganglia circuits may represent a neural correlate of motor stereotypy (Graybiel, 2000; Silberberg et al., 2002).

Presently the stereotyped behavior was induced by s.c injection of apomorphine a direct dopaminergic agonist (Jenner and Katzenschlager, 2016). Apomorphine as a natural product has been used over many centuries as an emetic, sedative, anticonvulsant, antipsychotic, alcohol dependence, sexual dysfunction and, formerly, in the treatment of Parkinson's diseases (Lees, 1993). The mice were observed in a glass box which enable the expression of "continuous licking and gnawing of cage grids" as previous recorded (Frussa-Filho and Palermo-Neto, 1990; Lazarini et al., 2004; Sandini et al., 2015). The main parameter expressed in this contingency was the sniffing and rearing behaviors and immobility time.

Apomorphine display different strains of motility patterns with respect to oral stereotypy and locomotor activities. Sniff and rearing stereotyped behavior induced by psychostimulants consists of motor responses that are repetitive, invariant, and seemingly without purpose or goal (Kelley, 2001). The temporal effects of apomorphine in these behaviors were examined because their short time of effects even when subcutaneous administered (Jenner and Katzenschlager, 2016).

Among the behavioral parameters of stereotyped behavior, sniffing was induced by several drug acting on DAergic system (Kelley et al., 1988; Tiedtke et al., 1990; Kitanaka et al., 2009), including apomorphine (Germeyer et al., 2002). Sniffing together with licking are classes of oral stereotypy (Schulz et al., 1981; Germeyer et al., 2002). Presently, the temporal analysis of sniffing showed increased sniffing in both sessions in *bapa* mice relative to wt mice. Similar results were observed in total time of sniffing.

Bapa mice showed a diminished in both temporal and total immobility time relative to wt mice, reinforcing the proposition that the increase of the locomotion results from a motor hyperactivity. Interesting, in the temporal analysis of rearing and when the values were

summed no effects of apomorphine were observed. Probably the lack of effects on rearing behavior occurred due to experimental conditions because the animals were observed in a glass box that reduced the support to stand.

Thus, in our experimental conditions we propose that the increased time of sniffing and rearing behaviors and the reduced in immobility time indicates an increased DAergic striatal system activity.

DA-induced effects are mediated by five G protein-coupled receptors (DR), classified into two subclasses: the D1R-like and D4R-like receptor families: D1R-like receptors (D1R and D5R)(Maurice et al., 2001)(Witkowski et al., 2008)(Yang et al., 2013), and D2R-like receptors (D2R, D3R and D4R (Missale et al., 1998). DAergic receptors play key roles in physiological brain functioning, since they regulate locomotion, reward, cognitive functions and goal-oriented behaviors(Ledonne and Mercuri, 2017). Modifications in DAergic receptors expression and signaling occur in different neurological and neuropsychiatric disorders. In the striatal DAergic system a combined of D1R/D2R receptors are recognized.

Thus, we investigated the effects of dopaminergic antagonists on apomorphine induced stereotypy to verify if the motor dysfunction of *bapa* mice is related to interferences with the activity of DR receptors.

The SCH-23,390 D1R antagonist reduced in both, *bapa* and wt mice , the sniff and rearing behaviors increasing the immobility time. However, an attenuation of sniff behavior was observed in *bapa* mice (~ 60%) after apomorphine administration relative to wt mice (~ 90%), suggesting a decreased activity of this receptor in *bapa* mice. Instead, the SCH-23,390 was more efficient in blocking the immobility in *bapa* mice (~700%) than in wt mice (200%). Stereotyped sniff is an oral compulsive behavior related to increase in striatal DR1 and DR2(Delfs and Kelley, 1990) explaining the reduction of this behavior by the SCH-23,390 antagonist.

Clozapine, a DR 4 dopaminergic antagonist, has antipsychotic action but no Parkinson-like motor side effects (Ledonne and Mercuri, 2017) and was used to identify if *bapa* mice motor dysfunction is related to D4 receptor. In this respect, this antagonists acts at the mesolimbic D4 receptors with low density in neostriatum (Seeman et al., 1993), reduced the hyperlocomotion in the open field (Ninan and Kulkarni, 1998) but not stereotypy induced by apomorphine (Rupniak et al., 1985).

However, in the present study, clozapine blocked the apomorphine effects on rearing frequency but not on sniff behavior and in the immobility time. Both *bapa* and wt mice showed similar profile. Thus, we suggest that differences on dopaminergic D4 receptors were not involved with the motor dysfunction of *bapa* mice.

Since SCH-23,390 acts at neostriatal DAergic system (Presti et al., 2003) and clozapine mainly at the mesolimbic DAergic system (Ledonne and Mercuri, 2017), we propose that the motor dysfunction observed in *bapa* mice could result, at least, to an increase in DR1 dopaminergic receptor activity. However, the control of motor behavior involves not only DAergic receptors but also cholinergic and GABAergic receptors (Ledonne and Mercuri, 2017) as well as interactions between other central nervous areas (Rizzolatti and Luppino, 2001) thus needing more studies about the *bapa* motor dysfunction.

3.5 CONCLUSIONS

- 1) Increased general activity observed daily during four days in the open field during four days, without habituation to the open field in *bapa* mice relative to wt mice;
- 2) Exposure to a new object in the fifth day of observation in the open field induces an additional increases on locomotor activity in both, *bapa* and wt mice;
- 3) Increased motor incoordination in a wooden beam in *bapa* mice relative to wt mice;
- 4) No differences on anxiety-like behavior aversive learning observed in the elevated plus maze between *bapa* and wt mice;
- 5) Increased the stereotyped sniffing after apomorphine administration in *bapa* mice relative to wt mice;
- 6) The D1R antagonist reduced in both, *bapa* and wt mice the stereotyped behavior but an attenuation was observed in *bapa* mice, suggesting an involvement of D1 receptor with the motor dysfunction of *bapa* mice.
- 7) The D4R antagonist blocked the apomorphine effects on rearing behavior but not on sniff and in the immobility time in both *bapa* and wt mice, suggesting that the D4 receptor was not involved in the motor dysfunction of *bapa* mice.

CONCLUSÃO

- 1) Observou-se aumento da atividade geral em campo aberto em sessões diárias por 4 dias consecutivos, sem habituação á contingência ambiental nos camundongos *bapa* em relação aos wt;
- 2) Verificou-se aumento da resposta a um objeto novo no quinto dia de exposição ao campo aberto em ambas linhagens de camundongos;
- 3) Os camundongos *bapa* mostram aumento da incoordenação motora em trave-elevada em relação aos camundongos wt;
- 4) Não foram observadas diferenças entre as linhagens na ansiedade e aprendizado aversivo em labirinto em cruz elevado;
- 5) Nos camundongos *bapa* a administração de apomorfina aumentou a duração de farejar e reduziu o tempo de imobilidade em relação aos camundongos wt;
- 6) A administração dos antagonistas de receptores D1, SCH-23,390, reduziu nas duas linhagens de camundongos a duração de farejar, a frequência de levantar e na duração de imobilidade induzida pela apomorfina, porém foi observada atenuação dos efeitos no farejar nos camundongos *bapa*.
- 7) A administração de clozapina, um antagonista de receptores D4, bloqueou os efeitos da apomorfina no farejar mas não na duração de farejar e de imobilidade em ambas linhagens de camundongos.

Conclui-se então que os receptores dopaminérgicos D1 estão envolvidos com a disfunção motora apresentada pelos camundongos *bapa* enquanto que os receptores D4 não estão envolvidos com esta disfunção.

3.6 REFERENCES

- Adam, M.P., Hudgins, L., 2005. Kabuki syndrome: A review. *Clin. Genet.*
<https://doi.org/10.1111/j.1399-0004.2004.00348.x>
- Albanese, a, Altavista, M.C., Rossi, P., 1986. Organization of central nervous system dopaminergic pathways. *J. Neural Transm. Suppl.*
- Alexander, G., 1986. Parallel Organization of Functionally Segregated Circuits Linking Basal Ganglia and Cortex. *Annu. Rev. Neurosci.* 9, 357–381.
<https://doi.org/10.1146/annurev.neuro.9.1.357>
- Alvarez, E.O., Ruarte, M.B., 2002. Histaminergic neurons of the ventral hippocampus and the baso-lateral amygdala of the rat: Functional interaction on memory and learning mechanisms. *Behav. Brain Res.* 128, 81–90. [https://doi.org/10.1016/S0166-4328\(01\)00272-8](https://doi.org/10.1016/S0166-4328(01)00272-8)
- Arias-Carrián, O., Stamelou, M., Murillo-Rodríguez, E., Menéndez-Gonzlez, M., Pöppel, E., 2010. Dopaminergic reward system: A short integrative review. *Int. Arch. Med.*
<https://doi.org/10.1186/1755-7682-3-24>
- Avanzino, L., Abbruzzese, G., 2012. How does the cerebellum contribute to the pathophysiology of dystonia? *Basal Ganglia* 2, 231–235.
<https://doi.org/10.1016/j.baga.2012.05.003>
- Bernardi, M., Palermo-Neto, J., 1979. Effects of abrupt and gradual withdrawal from long-term haloperidol treatment on open field behavior of rats. *Psychopharmacology (Berl)*. 65, 247–250. <https://doi.org/10.1007/BF00492211>
- Bernardi, M.M., De Souza, H., Palermo Neto, J., 1981. Effects of single and long-term haloperidol administration on open field behavior of rats. *Psychopharmacology (Berl)*. 73, 171–175. <https://doi.org/10.1007/BF00429212>
- Bernardi, M.M., Palermo-Neto, J., 1984. Effects of apomorphine administration on rearing activity of control and experimental rats withdrawn from long-term haloperidol treatment. *Gen. Pharmacol.* 15, 363–365. [https://doi.org/10.1016/0306-3623\(84\)90017-X](https://doi.org/10.1016/0306-3623(84)90017-X)
- Bertoglio, L.J., Carobrez, A.P., 2000. Previous maze experience required to increase open arms avoidance in rats submitted to the elevated plus-maze model of anxiety. *Behav. Brain Res.* 108, 197–203. [https://doi.org/10.1016/S0166-4328\(99\)00148-5](https://doi.org/10.1016/S0166-4328(99)00148-5)
- Bianchi, G., Landi, M., Garattini, S., 1986. Disposition of apomorphine in rat brain areas: relationship to stereotypy. *Eur. J. Pharmacol.* 131, 229–236.
[https://doi.org/10.1016/0014-2999\(86\)90576-5](https://doi.org/10.1016/0014-2999(86)90576-5)
- Bolivar, V.J., Caldarone, B.J., Reilly, a a, Flaherty, L., 2000. Habituation of activity in an open field: A survey of inbred strains and F1 hybrids. *Behav. Genet.* 30, 285–293.
<https://doi.org/10.1023/A:1026545316455>
- Bostan, A.C., Dum, R.P., Strick, P.L., 2010. The basal ganglia communicate with the cerebellum. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 107, 8452–8456.
<https://doi.org/10.1073/pnas.1000496107>
- Bourne, J. a, 2001. SCH 23390: the first selective dopamine D1-like receptor antagonist. *CNS Drug Rev.* 7, 399–414. <https://doi.org/10.1111/j.1527-3458.2001.tb00207.x>
- Bouwknicht, J.A., Van Der Gugten, J., Groenink, L., Olivier, B., Paylor, R.E., 2004. Effects of repeated testing in two inbred strains on flesinoxan dose-response curves in three mouse models for anxiety. *Eur. J. Pharmacol.* 494, 35–44.
<https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2004.04.036>
- Briere, R., Diop, L., Gottberg, E., Grondin, L., Reader, T.A., 1987. Stereospecific binding of a new benzazepine, [3H]SCH23390, in cortex and neostriatum. *Can J Physiol Pharmacol* 65, 1507–1511.

- Bruhwyler, J., Chleide, E., Li??geois, J.F., Delarge, J., Mercier, M., 1991. Effects of specific dopaminergic agonists and antagonists in the open-field test. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 39, 367–371. [https://doi.org/10.1016/0091-3057\(91\)90193-6](https://doi.org/10.1016/0091-3057(91)90193-6)
- Budygin, E.A., 2007. Dopamine uptake inhibition is positively correlated with cocaine-induced stereotyped behavior. *Neurosci. Lett.* 429, 55–58. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2007.09.064>
- Calipari, E.S., Ferris, M.J., 2013. Amphetamine Mechanisms and Actions at the Dopamine Terminal Revisited. *J. Neurosci.* 33, 8923–8925. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1033-13.2013>
- Canales, J.J., Graybiel, A.M., 2000. A measure of striatal function predicts motor stereotypy. *Nat. Neurosci.* 3, 377–383. <https://doi.org/10.1038/73949>
- Carr, G.D., White, N.M., 1987. Effects of systemic and intracranial amphetamine injections on behavior in the open field: A detailed analysis. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 27, 113–122. [https://doi.org/10.1016/0091-3057\(87\)90485-0](https://doi.org/10.1016/0091-3057(87)90485-0)
- Chinta, S.J., Andersen, J.K., 2005. Dopaminergic neurons. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 37, 942–946. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2004.09.009>
- Chow, H.L., Beck, C.H.M., 1984. The effect of apomorphine on the open-field behavior of rats: Alone and in pairs. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 21, 85–88. [https://doi.org/10.1016/0091-3057\(84\)90135-7](https://doi.org/10.1016/0091-3057(84)90135-7)
- Delfs, J.M., Kelley, A.E., 1990. The role of D1 and D2 dopamine receptors in oral stereotypy induced by dopaminergic stimulation of the ventrolateral striatum. *Neuroscience* 39, 59–67. [https://doi.org/10.1016/0306-4522\(90\)90221-O](https://doi.org/10.1016/0306-4522(90)90221-O)
- Dowd, E., Dunnett, S.B., 2007. Movement without dopamine: striatal dopamine is required to maintain but not to perform learned actions. *Biochem. Soc. Trans.* 35, 428–432. <https://doi.org/10.1042/BST0350428>
- Feigenbaum, J.J., Yanai, J., Blass, R.B., Moon, B., Klawans, H., 1982. The effect of drugs altering striatal dopamine levels on apomorphine induced stereotypy. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 16, 235–240. [https://doi.org/10.1016/0091-3057\(82\)90154-X](https://doi.org/10.1016/0091-3057(82)90154-X)
- Frisch, C., Hasenöhrl, R.U., Huston, J.P., 1997. The histamine H1-antagonist chlorpheniramine facilitates learning in aged rats. *Neurosci. Lett.* 229, 89–92. [https://doi.org/10.1016/S0304-3940\(97\)00422-9](https://doi.org/10.1016/S0304-3940(97)00422-9)
- Frussa-Filho, R., Palermo-Neto, J., 1990. Effects of single and long-term administration of sulpiride on open-field and stereotyped behavior of rats. *Brazilian J. Med. Biol. Res.* 23, 463–472.
- Frussa-Filho, R., Palermo-Neto, J., 1988. Effects of single and long-term metoclopramide administration on open field and stereotyped behavior of rats. *Eur. J. Pharmacol.* 149, 323–329. [https://doi.org/10.1016/0014-2999\(88\)90663-2](https://doi.org/10.1016/0014-2999(88)90663-2)
- Furlan, S.M., Brandão, M.L., 2001. Effects of systemic injections of dopaminergic agents on the habituation of rats submitted to an open field test. *Neuropsychobiology* 43, 83–90. <https://doi.org/10.1159/000054872>
- Germeyer, S., Birke, A., Schmitt, U., Dahmen, N., Hiemke, C., Havemann-Reinecke, U., 2002. New dopamine D2 receptor polymorphisms in rats and association with apomorphine-induced stereotypies. *Brain Res.* 926, 1–9. [https://doi.org/10.1016/S0006-8993\(01\)03136-5](https://doi.org/10.1016/S0006-8993(01)03136-5)
- Graybiel, A.M., 2000. The Basal ganglia. *Curr. Biol.* 10. [https://doi.org/10.1016/S0960-9822\(00\)00593-5](https://doi.org/10.1016/S0960-9822(00)00593-5)
- Grillner, S., Robertson, B., 2016. The Basal Ganglia Over 500 Million Years. *Curr. Biol.* <https://doi.org/10.1016/j.cub.2016.06.041>
- Grissom, N., Bhatnagar, S., 2009. Habituation to repeated stress: Get used to it. *Neurobiol. Learn. Mem.* 92, 215–224. <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2008.07.001>

- Groenewegen, H.J., 2003. The basal ganglia and motor control. *Neural Plast* 10, 107–120. <https://doi.org/10.1155/NP.2003.107> [doi]
- Grunseich, C., Fishbein, T.M., Berkowitz, F., Shamim, E.A., 2010. Tremor and Deep Brain Nuclei Hyperintensities in Kabuki Syndrome. *Pediatr. Neurol.* 43, 148–150. <https://doi.org/10.1016/j.pediatrneurol.2010.03.019>
- Gusmão, D.F., Estork, D.M., Paciencia, M.L.B., Díaz, I.E.C., Montero, E.F.S., Varella, A.D., Reis, L.F.L., Younes, R.N., Suffredini, I.B., Bernardi, M.M., 2013. Influence of the intraperitoneal administration of antitumor *Abarema auriculata* extract on mice behavior. *Brazilian J. Pharmacogn.* 23, 903–912. <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2013000600007>
- Habas, C., 2001. [The cerebellum: from motor coordination to cognitive function]. *Rev Neurol* 157, 1471–1497.
- Hikosaka, O., 1991. Basal ganglia--possible role in motor coordination and learning. *Curr. Opin. Neurobiol.* 1, 638–643. [https://doi.org/10.1016/S0959-4388\(05\)80042-X](https://doi.org/10.1016/S0959-4388(05)80042-X)
- Hippius, H., 1989. The history of clozapine. *Psychopharmacology (Berl)*. 99. <https://doi.org/10.1007/BF00442551>
- Ito, R., Dalley, J.W., Robbins, T.W., Everitt, B.J., 2002. Dopamine release in the dorsal striatum during cocaine-seeking behavior under the control of a drug-associated cue. *J. Neurosci.* 22, 6247–6253. <https://doi.org/20026606>
- Jenner, P., Katzenschlager, R., 2016. Apomorphine - pharmacological properties and clinical trials in Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat. Disord.* 33, S13–S21. <https://doi.org/10.1016/j.parkreldis.2016.12.003>
- Kelley, A.E., Lang, C.G., Gauthier, A.M., 1988. Induction of oral stereotypy following amphetamine microinjection into a discrete subregion of the striatum. *Psychopharmacology (Berl)*. 95, 556–559. <https://doi.org/10.1007/BF00172976>
- Kelley, a E., 2001. Measurement of rodent stereotyped behavior. *Curr. Protoc. Neurosci.* Chapter 8, Unit 8.8. <https://doi.org/10.1002/0471142301.ns0808s04>
- Kitanaka, J., Kitanaka, N., Tatsuta, T., Hall, F.S., Uhl, G.R., Tanaka, K., Nishiyama, N., Morita, Y., Takemura, M., 2009. Sigma1 receptor antagonists determine the behavioral pattern of the methamphetamine-induced stereotypy in mice. *Psychopharmacology (Berl)*. 203, 781–792. <https://doi.org/10.1007/s00213-008-1425-z>
- Kreitzer, A.C., 2009. Physiology and Pharmacology of Striatal Neurons. *Annu. Rev. Neurosci.* 32, 127–147. <https://doi.org/10.1146/annurev.neuro.051508.135422>
- Kvist, B., 1983. Open field activity after learning in mice. *Scand. J. Psychol.*
- Lassen, J.B., 1979. Inhibition of Apomorphine-Induced Climbing in Mice by Cholinergic Drugs and Neuroleptics. *Acta Pharmacol. Toxicol. (Copenh)*. 45, 161–165. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0773.1979.tb02376.x>
- Lazarini, C.A., Lima, R.Y., Guedes, A.P., Bernardi, M.M., 2004. Prenatal exposure to dichlorvos: Physical and behavioral effects on rat offspring. *Neurotoxicol. Teratol.* 26, 607–614. <https://doi.org/10.1016/j.ntt.2004.03.006>
- Ledonne, A., Mercuri, N.B., 2017. Current Concepts on the Physiopathological Relevance of Dopaminergic Receptors. *Front. Cell. Neurosci.* 11. <https://doi.org/10.3389/fncel.2017.00027>
- Lees, A., 1993. Dopamine agonists in Parkinson's disease: a look at apomorphine. *Fundam. Clin. Pharmacol.* <https://doi.org/10.1111/j.1472-8206.1993.tb00226.x>
- Leussis, M.P., Bolivar, V.J., 2006. Habituation in rodents: A review of behavior, neurobiology, and genetics. *Neurosci. Biobehav. Rev.* <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2006.03.006>
- Lister, R.G., 1987. The use of a plus-maze to measure anxiety in the mouse. *Psychopharmacology (Berl)*. 92, 180–185. <https://doi.org/10.1007/BF00177912>

- Liu, X., Strecker, R.E., Brener, J., 1998. Dopamine depletion in nucleus accumbens influences locomotion but not force and timing of operant responding. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 59, 737–745. [https://doi.org/10.1016/S0091-3057\(97\)00547-9](https://doi.org/10.1016/S0091-3057(97)00547-9)
- Luong, T.N., Carlisle, H.J., Southwell, A., Patterson, P.H., 2011. Assessment of motor balance and coordination in mice using the balance beam. *J. Vis. Exp.* 5–7. <https://doi.org/10.3791/2376>
- Mason, S.T., Sanberg, P.R., Fibiger, H.C., 1978. Kainic acid lesions of the striatum dissociate amphetamine and apomorphine stereotypy: similarities to Huntingdon's chorea. *Science* (80-). 201, 352–355.
- Massironi, S.M.G., Reis, B.L.F.S., Carneiro, J.G., Barbosa, L.B.S., Ariza, C.B., Santos, G.C., Guénet, J.L., Godard, A.L.B., 2006. Inducing mutations in the mouse genome with the chemical mutagen ethylnitrosourea. *Brazilian J. Med. Biol. Res.* 39, 1217–1226. <https://doi.org/10.1590/S0100-879X2006000900009>
- Mattingly, B.A., Gotsick, J.E., Marin, C., 1988. Locomotor activity and stereotypy in rats following repeated apomorphine treatments at 1-, 3-, or 7-day intervals. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 31, 871–875. [https://doi.org/10.1016/0091-3057\(88\)90398-X](https://doi.org/10.1016/0091-3057(88)90398-X)
- Mattingly, B.A., Rowlett, J.K., Lovell, G., 1993. Effects of daily SKF 38393, quinpirole, and SCH 23390 treatments on locomotor activity and subsequent sensitivity to apomorphine. *Psychopharmacology (Berl.)* 110, 320–326. <https://doi.org/10.1007/BF02251287>
- Maurice, N., Tkatch, T., Meisler, M., Sprunger, L.K., Surmeier, D.J., 2001. D1/D5 dopamine receptor activation differentially modulates rapidly inactivating and persistent sodium currents in prefrontal cortex pyramidal neurons. *J. Neurosci.* 21, 2268–77. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2177-01.2001> [pii]
- Missale, C., Nash, S.R., Robinson, S.W., Jaber, M., Caron, M.G., 1998. Dopamine receptors: from structure to function. *Physiol. Rev.* 78, 189–225. <https://doi.org/10.1186/1471-2296-12-32>
- OLIVEIRA, N.S., Manes, M., GOMES, M.S.A.G., Bernardi, M.M., SOUZA, T.A., MASSIRONI, S.M.G., MORI, C.M.C., 2016. Caracterização de um novo camundongo mutante como potencial modelo para a síndrome de Kabuki. *Resbecal* 4, 50.
- Pare, W.P., 1964. Relationship of various behaviours in the open-field test of emotionality. *Psychol. Rep.* 14, 19–22.
- Presti, M.F., Gibney, B.C., Lewis, M.H., 2004. Effects of intrastriatal administration of selective dopaminergic ligands on spontaneous stereotypy in mice. *Physiol. Behav.* 80, 433–439. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2003.09.008>
- Presti, M.F., Mikes, H.M., Lewis, M.H., 2003. Selective blockade of spontaneous motor stereotypy via intrastriatal pharmacological manipulation. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 74, 833–839. [https://doi.org/10.1016/S0091-3057\(02\)01081-X](https://doi.org/10.1016/S0091-3057(02)01081-X)
- Purzner, J., Paradiso, G.O., Cunic, D., Saint-Cyr, J.A., Hoque, T., Lozano, A.M., Lang, A.E., Moro, E., Hodaie, M., Mazzella, F., Chen, R., 2007. Involvement of the basal ganglia and cerebellar motor pathways in the preparation of self-initiated and externally triggered movements in humans. *J. Neurosci.* 27, 6029–6036. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5441-06.2007>
- Rankin, C.H., Abrams, T., Barry, R.J., Bhatnagar, S., Clayton, D.F., Colombo, J., Coppola, G., Geyer, M.A., Glanzman, D.L., Marsland, S., McSweeney, F.K., Wilson, D.A., Wu, C.F., Thompson, R.F., 2009. Habituation revisited: An updated and revised description of the behavioral characteristics of habituation. *Neurobiol. Learn. Mem.* 92, 135–138. <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2008.09.012>
- Rapp, J.T., Lanovaz, M.J., 2011. Stereotypy, in: *Teaching and Behavior Support for Children and Adults with Autism Spectrum Disorder: A Practitioner's Guide*. pp. 127–135.
- Rapp, J.T., Vollmer, T.R., 2005. Stereotypy I: A review of behavioral assessment and

- treatment. *Res. Dev. Disabil.* <https://doi.org/10.1016/j.ridd.2004.11.005>
- Rizzolatti, G., Luppino, G., 2001. The cortical motor system. *Neuron* 31, 889–901. [https://doi.org/10.1016/s0896-6273\(01\)00423-8](https://doi.org/10.1016/s0896-6273(01)00423-8)
- Rothwell, J.C., 2011. The motor functions of the basal ganglia. *J. Integr. Neurosci.* 10, 303–15. <https://doi.org/10.1142/S0219635211002798>
- Russell, P.A., Williams, D.I., 1973. Effects of repeated testing on rats' locomotor activity in the open-field. *Anim. Behav.* 21, 109–111. [https://doi.org/10.1016/S0003-3472\(73\)80047-8](https://doi.org/10.1016/S0003-3472(73)80047-8)
- Samadi, P., Boutet, A., Rymar, V. V., Rawal, K., Maheux, J., Kvann, J.C., Tomaszewski, M., Beaubien, F., Cloutier, J.F., Levesque, D., Sadikot, A.F., 2013. Relationship between BDNF expression in major striatal afferents, striatum morphology and motor behavior in the R6/2 mouse model of Huntington's disease. *Genes, Brain Behav.* 12, 108–124. <https://doi.org/10.1111/j.1601-183X.2012.00858.x>
- Sandini, T.M., Udo, M.S.B., Reis-Silva, T.M., Sanches, D., Bernardi, M.M., Flório, J.C., Spinosa, H. de S., 2015. Prenatal exposure to integerrimine N-oxide enriched butanolic residue from *Senecio brasiliensis* affects behavior and striatal neurotransmitter levels of rats in adulthood. *Int. J. Dev. Neurosci.* 47, 157–164. <https://doi.org/10.1016/j.ijdevneu.2015.09.003>
- Schulz, E.M., Wright, J.W., Harding, J.W., 1981. Distinctions between stereotyped sniffing and licking in rats with methamphetamine and apomorphine. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 15, 521–523. [https://doi.org/10.1016/0091-3057\(81\)90289-6](https://doi.org/10.1016/0091-3057(81)90289-6)
- Silberberg, G., Gupta, A., Markram, H., 2002. Stereotypy in neocortical microcircuits. *Trends Neurosci.* [https://doi.org/10.1016/S0166-2236\(02\)02151-3](https://doi.org/10.1016/S0166-2236(02)02151-3)
- Siviy, S.M., McDowell, L.S., Eck, S.R., Turano, A., Akopian, G., Walsh, J.P., 2015. Effects of amphetamine on striatal dopamine release, open-field activity, and play in Fischer 344 and Sprague-Dawley rats. *Behav. Pharmacol.* 26, 720–732. <https://doi.org/10.1097/FBP.0000000000000191>
- Tiedtke, P.I., Bischoff, C., Schmidt, W.J., 1990. MK-801-induced stereotypy and its antagonism by neuroleptic drugs. *J. Neural Transm. - Gen. Sect.* 81, 173–182. <https://doi.org/10.1007/BF01245040>
- Wessels, M.W., Brooks, A.S., Hoogeboom, J., Niermeijer, M.F., Willems, P.J., 2002. Kabuki syndrome: a review study of three hundred patients. *Clin Dysmorphol* 11, 95–102.
- Whimbey, a E., Denenberg, V.H., 1967. Two independent behavioral dimensions in open-field performance. *J. Comp. Physiol. Psychol.* 63, 500–504. <https://doi.org/10.1037/h0024620>
- Witkowski, G., Szulczyk, B., Rola, R., Szulczyk, P., 2008. D1 dopaminergic control of G protein-dependent inward rectifier K⁺ (GIRK)-like channel current in pyramidal neurons of the medial prefrontal cortex. *Neuroscience* 155, 53–63. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2008.05.021>
- Yang, J., Ye, M., Tian, C., Yang, M., Wang, Y., Shu, Y., 2013. Dopaminergic modulation of axonal potassium channels and action potential waveform in pyramidal neurons of prefrontal cortex. *J. Physiol.* 591, 3233–3251. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2013.251058>
- Zeiss, C.J., 2005. Neuroanatomical phenotyping in the mouse: The dopaminergic system. *Vet. Pathol.* 42, 753–773. <https://doi.org/10.1354/vp.42-6-753>

3.7 FIGURE CAPTIONS

Figure 1. General activity of *bapa* and wt mice observed in the open field for 4 days. A- locomotion frequency; B- rearing frequency; C- grooming time; D- immobility time. Two way ANOVA followed by Bonferroni's multiple comparisons test. * $p < 0.05$; *** $p < 0.001$ relative to wt mice.

Figure 2 Interaction of a new object (A,B,C and D), aversive wooden beam (F) and elevated plus maze behaviors(E,F and H) of *bapa* and wt mice. Two way ANOVA followed by Bonferroni's multiple comparisons test. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ *** $p < 0.001$ relative to wt group.

Figure 3. Stereotyped behavior induced by 0.6 mg/kg of apomorphine in *bapa* and wt mice. A- sniff time (s) in 10 and 20 min; B- total sniff time(s); C- rearing frequency in 10 and 20 min; D- total rearing frequency; E- immobility time(s) in 10 and 20 min; F- total immobility time(s). Two way ANOVA followed by Bonferroni's multiple comparisons test. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ *** $p < 0.001$ relative to wt group.

Figure 4. Stereotyped behavior of in *bapa* and wt mice pretreated with SCH-23,390 (0.4 mg/kg) or clozapine (2.0 mg/kg) antagonists 15 min before 0.6 mg/kg of apomorphine and observed for 20 min. A- sniff time (s) in 10 min; B- sniff time (s) in 20 min; C- total sniff time(s); D- rearing behavior in 10 min; E- rearing frequency in 10 min; F- rearing frequency in 20 min; G- total rearing frequency; H- immobility time(s) in 10 min; immobility time(s) in 20 min; I- total immobility time(s). One way ANOVA followed by Tukey's test. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ *** $p < 0.001$ relative to wt group.

Figure 1.

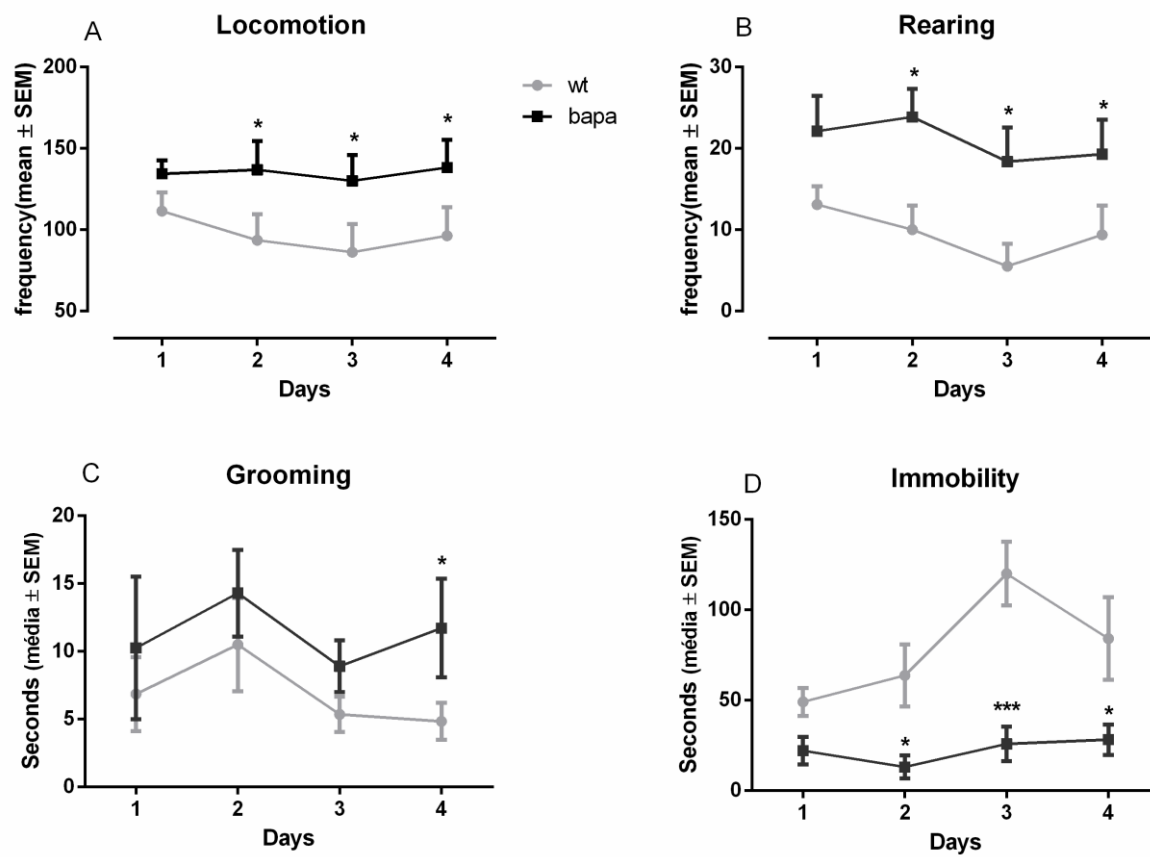


Figure 2.

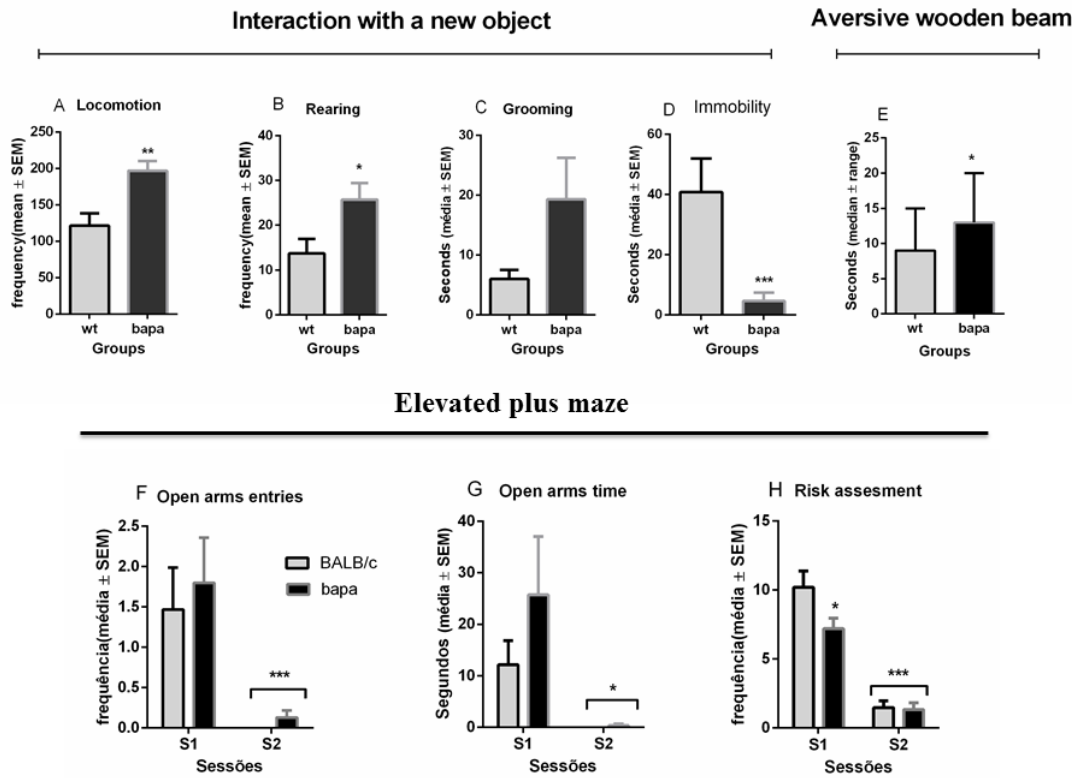


Figure 3.

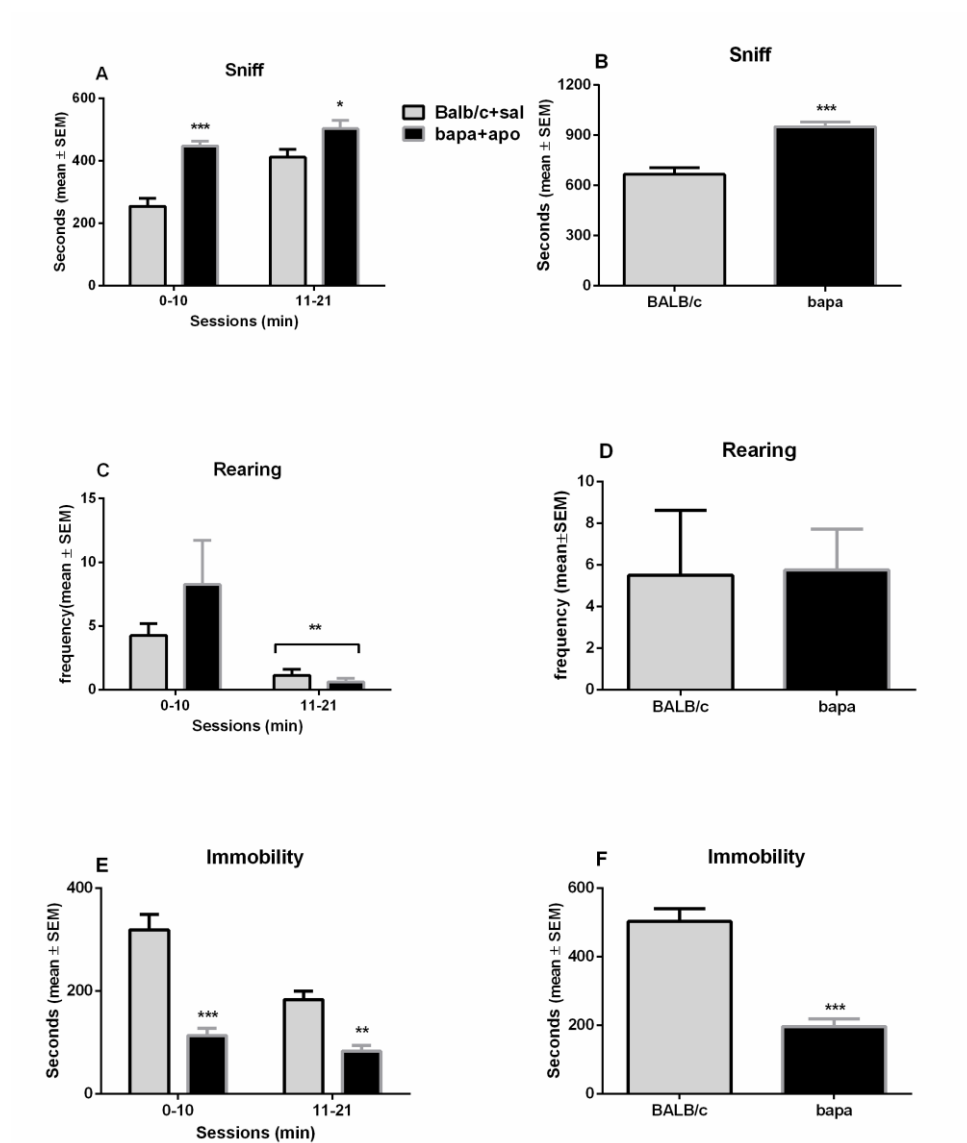
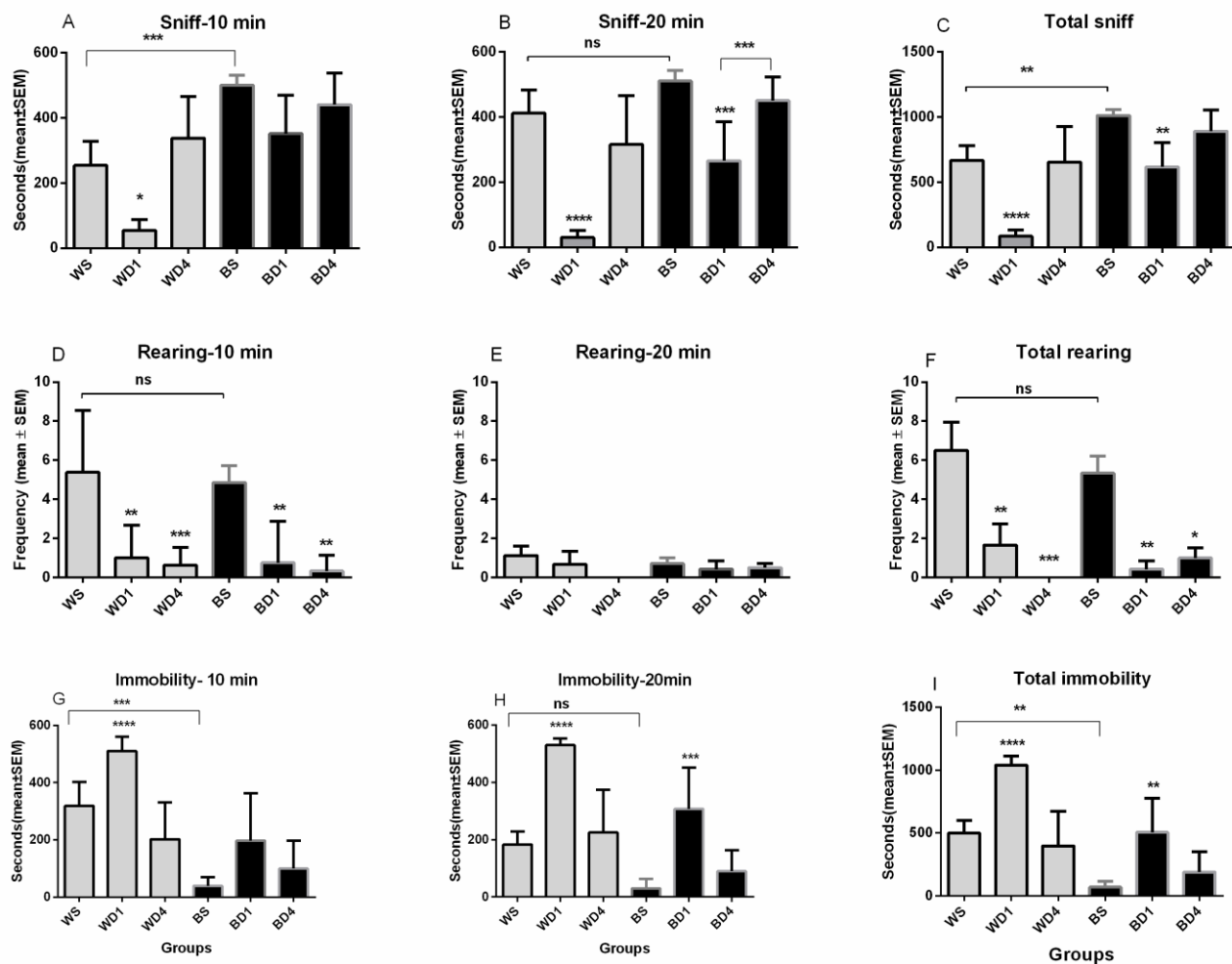


Figure 4.



ANEXO A

Folha de Aprovação do Comitê de Ética no uso de Animais da UNIP (CEUA)



Vice-Reitoria de Pós-Graduação e Pesquisa

C E R T I F I C A D O

CERTIFICAMOS, que a proposta intitulada “ESTUDO DO SISTEMA DOPAMINÉRGICO CENTRAL NO CAMUNDONGO MUTANTE BATE PALMAS INDUZIDO PELO AGENTE MUTAGÊNICO QUÍMICO ENU COMO POTENCIAL MODELO PARA SÍNDROME DE KABUKI “, registrada com o nº 055/17, sob responsabilidade de MARIA MARTHA BERNARDI e MARISA ALVES DE OLIVEIRA” que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso Animais (CEUA) da UNIP, em reunião de 16/08/2017.

Finalidade	Ensino ()	Pesquisa Científica (x)
Vigência de autorização	01/08/2017 01/01/2018	
Espécie / linhagem/ raça	CAMUNDONGO ISOGÊNICO	
Nº de animais	103	
Peso / idade	30g/ 60dias	
Sexo		
Origem	BIOTÉRIO	

Juliana Guizi

Secretária da Comissão de Ética no Uso de Animais – CEUA

Universidade Paulista – UNIP

Campus: INDIANÓPOLIS

Rua: Doutor Bacelar, 1212 – Vila Clementino – São Paulo – SP – CEP: 04026-000

Fone: (11) 5586-4091 – Fax: (11) 5586-4073

E-mail: ceua@unip.br – <http://www.unip.br>

ANEXO B

Quadro 01. Receptores de neurotransmissores do Sistema Nervoso Central e suas funções.

Neurotransmissor	Receptores no SNC	Localização na sinapse	Agonistas e antagonistas	Localização no cérebro-área predominante	Função	Uso terapêutico e especialidade farmacêutica
Aminas e aminoácidos						
Aminas						
Acetilcolina	M1	Pós-sináptico	<i>Agonistas:</i> arecolina, pilocarpina, cevimelina, tazomelina, alvamelina, talsaclidina, xanomelina, milamelina, sabcomelina. <i>Antagonista:</i> pirenzepina, atropina*.	Córtex, hipocampo e corpo estriado.	Aprendizado e/ou memória. Papel na esquizofrenia	Arecolina-melhora da memória.
	M2	Pré-sináptico Autoreceptor	<i>Agonista:</i> oxotremorina, cisdioxolana, <i>Antagonista:</i> atropina*	Mesencéfalo, tálamo. Menor densidade: córtex, hipocampo e corpo estriado.	Controlam a liberação de acetilcolina. Analgesia em colaboração com o receptor M4.	-
	M3		<i>Agonista:</i> carbacol, pilocarpina <i>Antagonista:</i> Tiotropium bromide	Corpo estriado, hipotálamo.	Controle do apetite.	-

	M4	Pré-sináptico Autoreceptores	<i>Agonistas:</i> xanomeline.* pilocarpina* <i>Antagonista:</i> atropina*	Maior densidade: corpo estriado Menor densidade: córtex e hipocampo	Controlam a liberação de dopamina e modulam atividade motora.	Esquizofrenia
	M5		<i>Agonista:</i> pilocarpina* <i>Antagonista:</i> atropina*	Corpo estriado e núcleo accumbens	Facilita a liberação de dopamina.	-
	N neuronais	Pós-sinápticos Heteroreceptores	<i>Agonista:</i> pilocarpina* <i>Antagonista:</i> atropina*	Pós-sinápticos Membrana neuronal de noradrenalina. Sistema dopaminérgico mesolímbico Núcleo de <i>Rafe</i>	Processos de cognição e dor bem como no controle da dopamina estriatal. Aumento da vigília, do alerta e atividade exploratória. Liberam dopamina. Reduzem a liberação de 5-HT levando a alucinações e alterações do humor.	.
Histamina	H1	Pós-sinápticos	<i>Agonista:</i> 2- metilhistamina, 2- tiazoliletilamina. <i>Antagonista:</i> antihistamínicos clássicos,	Corpo celular no hipotálamo Vias para formação reticular Centro do vômito	Sono-vigília Controle alimentar Memória Vômito	Anti-histamínicos clássicos como indutores de sono. Antiemético-dimenidrato

			mepiramina	no hipotálamo Centro de controle da fome no hipotálamo		
	H2	Pós-sinápticos	<i>Agonista:</i> <i>Antagonista:</i> ranetidina ^a , cimetidina ^a , zolantidina.	Hipotálamo	Antinocicepção opióide Controle da prolactina	-
	H3	Pré-sináptico Autoreceptor Heteroreceptor	<i>Agonista:</i> imetita, imepip, alfa-metilhistamina <i>Antagonista:</i> tioperamida, clobenpropit.	Terminações de sinapses histaminérgicas. Vias serotoninérgicas, dopaminérgicas, Gabaérgicas, colinérgicas e noradrenérgicas.	Controle da obesidade, Modulação da atividade motora, Desordens mentais, Déficits de memória. Distúrbios do sono, epilepsia.	Novos antipsicóticos-
Monominas						
Noradrenalina	Alfa 1	Pós-sináptico	<i>Agonista:</i> fenilefrina <i>Antagonista:</i> prazosina,	Córtex cerebral, hipocampo, Locus coeruleus, área septal medial, área pré- optica medial.	Consolidação da memória, Vigília, estresse	
	Alfa 2	Pré-sináptico	<i>Agonista:</i> xilazina, clonidina. <i>Antagonista:</i> ioimbina	Gânglios da base		Pré-anestesia e tranquilização e relaxamento muscular- xilazina
	Beta1	Pós-sináptico	<i>Agonista:</i> isoprenalina*	Gânglios da base, Locus coeruleus,	Consolidação da memória	

			<i>Antagonista:</i> propranolol*,	área septal medial, área pré- optica medial.	Vigília	
	Beta2	Pós-sináptico	<i>Agonista:</i> clenbuterol, salbutamol <i>Antagonista:</i> propranolol*,	Córtex associativo, Locus coeruleus, área septal medial, área pré- optica medial	Vigília	Ansiedade
	Beta 3	Pré-sináptico	<i>Agonista:</i> isoprenalina,* <i>Antagonista:</i> SR 59230A	Córtex associativo	Consolidação da memória	
Dopamina	Tipo D1(D1 e D5)		<i>Agonista:</i> SCH- 23390, apomorfina*, dihydrexidina. <i>Antagonista:</i> haloperidol*	Núcleo caudado, putamen, núcleo <i>accumbens</i> , tubérculo olfatório e córtex cerebral.	Função motora associado aos receptores D2 e D3, Memória	
	TIPO D2 (D2, D3 e D4)	Pré e pós- sináptico	<i>Agonista:</i> apomorfina* <i>Antagonistas:</i> haloperidol*, droperidol. Clozapina-receptor D4	Núcleo caudado, putamen, núcleo <i>accumbens</i> , tubérculo olfatório e córtex cerebral.	Inibição da liberação de prolactina na hipófise e causam o vômito. Afetam ainda a função motora e o comportamento emocional, psicoses).	Antipsicóticos, contenção de animais, pré-medicação anestésica. Butirofenonas e benazamidas.
Serotonina	5-HT1A	Autoreceptor Pós-sináptico			Depressão Redução da ansiedade	
	5-HT1B	Auto	<i>Agonista:</i> 1-(3-		Enxaqueca	

		Heteroreceptor	clorofenil) piperazina (mCPP).			
	Família 5-HT2					
	5-HT2A	Pós-sináptico	<i>Agonista: 2,5-dimetoxi-4-iodoanfetamina (DOI), 1-(3-clorofenil) piperazina (mCPP)*.</i> <i>Antagonista: clozapina, ketanserina, mianserina</i>		Comportamento alimentar, efeito ansiolítico e esquizofrenia	
	5-HT2B	Pré-sináptico.	Antagonista ketanserina, mianserina		No sistema nervoso central incluem a sensibilização neuronal aos estímulos táteis e mediação de alguns dos efeitos de alucinógenos. Enxaqueca.	
	5HT2 C	Pós-sináptico e heteroreceptor.	Agonista: : 2,5-dimetoxi-4-iodoanfetamina (DOI, . 1-(3-clorofenil) piperazina (mCPP).		Ansiedade, Secreção do líquido cefalorraquidiano no plexo coróide.	

			Antagonista : ketanserina, mianserina.			
	5-HT3	-		Expresso em todo sistema nervoso central	Antiemético em quimioterapia, ansiolítico.	
	5-HT6	-		Expresso em todo sistema nervoso central	Cognição, esquizofrenia, obesidade, ansiedade.	
	5-HT7	-		Expresso em todo sistema nervoso central	Mecanismos de sono, autismo.	
Aminoácidos						
Glutamato						
GABA	GABA _A	Pós-sináptico, interneurônios.	<i>Agonistas:</i> barbitúricos, etanol, benzodiazepínicos, muscimol, gaboxadol. THIP((4,5,6,7- tetrahydroisoxazolo [5,4-c]pyridin-3-ol) <i>Antagonistas:</i> picrotoxina, bicuculina, cicutoxina e oenantotoxina, flumazenil.	Expresso em todo SNC. Apresenta vários subtipos com ações específicas. Pequena população no cerebelo envolvida na redução do sono e ação de neuroesteróides.	Anestesia, ansiedade, pânico, epilepsia, sedação	<u>Anestésicos:</u> pentobarbital, halotano, midazolam, etomidato, enflurano, propofol, quetamina, zolpidem. <u>Anticonvulsivantes:</u> Fenobarbital, primidona, carbamazepina, oxcarbazepina, progabide, gabapentina, lamotrigina, topiramato, vigabatrina, felbamato, levitiracetam. <u>Etanol</u> <u>Benzodiazepínicos:</u> Diazepam, clonazepam, clorazepato. <u>Flumazenil</u>

	GABA _B Subtipos: GABA _{B1} GABA _{B2}	Pós-sináptico	<i>Agonistas:</i> Gaba, baclofeno, gama-hidroxibutirato (GHB). <i>Antagonistas:</i> Saclofeno, Faclofeno, feniletinamina.	Expresso em todo SNC.	Dor, ações do etanol. Desenvolvimento dos organismos.	Baclofeno – relaxante muscular.
	GABA _C		<i>Agonistas:</i> Ácido (Z)-4-Amino-2-butenóico, <i>Antagonistas:</i> THIP, TPMPA (ácido (1,2,5,6-Tetrahidropiridin -4-il) metilfosfínico)	Expresso em todo SNC, em particular em áreas do neocortex.	Visão, sono e distúrbios cognitivos.	THIP-utilizado para impedir o desenvolvimento da miopia.
Glicina	Receptores com várias subunidades que determinam sua ação	-	<i>Agonistas:</i> glycine, β- alanina, taurine. <i>Antagonista:</i> estriçnina	Medula espinhal,	Controle motor de músculos antagônicos	Estricnina – estimulante medular em desuso.
Peptídeos opióides	Receptor μ		<i>Agonista endógeno^b:</i> β-Endorphin. Agonistas e antagonistas-Vide Cap. 15	Córtex límbico sistema, e tronco cerebral principalmente amígdala.	Analgesia supra-espinhal, Dependência ao etanol, aprendizado e/ou memória, mecanismos de recompensa.	Hipnoanalgésicos: Alcalóide do ópio, Compostos sintéticos. Outros: Antagonistas de narcóticos, Compostos de ação mista. Vide Cap. 15
	Receptor δ		<i>Agonista endógeno^b:</i> met- e	Córtex límbico sistema, e tronco	Juntamente com os receptores μ	Vide Cap. 15

			leu-encefalina. Agonistas e antagonistas Vide Cap. 15	cerebral principalmente trato olfatório, neocortex, regiões da amígdala e estriatum.	ligados à dependência ao etanol, analgesia medular	
	Receptor κ		<i>Agonista endógeno^b</i> – dinorfinas. Agonista e antagonistas-Vide Cap. 15	Córtex límbico sistema, e tronco cerebral principalmente claustró e córtex piriforme, tubérculo olfatório, striatum (caudado e nucleus accumbens), área pré-óptica, hipotálamo e hipófise.	Estresse, depressão, sedação, disforia, dor visceral.	Vide Cap. 15

* não seletivo; ^a não atravessa a barreira hematoencefálica; ^b – maior afinidade.