

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

MARCELA VERGINIA DE MEDEIROS

**PROPOSTA DE UM NOVO MODELO ANIMAL PARA ESQUIZOFRENIA UTILIZANDO
*A 2-HIT HYPOTHESIS***

CURITIBA

2017

MARCELA VERGINIA DE MEDEIROS

**PROPOSTA DE UM NOVO MODELO ANIMAL PARA ESQUIZOFRENIA UTILIZANDO
*A 2-HIT HYPOTHESIS***

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso Biomedicina da Universidade Federal do Paraná como requisito à obtenção de aprovação na disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso II – TCCII e obtenção do grau de Bacharel em Biomedicina.

Orientador: Profº Drº Bruno Jacson Martynhak

CURITIBA
2017

DECLARAÇÃO

Declaro, para os devidos fins, que Marcela Verginia de Medeiros,
aluno(a) do Curso de Biomedicina, sob minha orientação, realizou as correções
exigidas pela banca examinadora para aprovação na disciplina Bmed006 - Trabalho
de Conclusão de Curso II e a versão final corrigida pode ser entregue para o
Repositório Digital Institucional da UFPR.

Curitiba, 10 de janeiro de 2017.

Bruno J. Mastrobah
(carimbo e assinatura do orientador)

Aos meus familiares e amigos, por todo o apoio e incentivo durante essa caminhada e por sempre acreditarem em mim.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Deus, por me dar forças e energia para continuar a caminhada.

Agradeço aos meus pais, por serem grandes incentivadores da minha formação e por sempre me ajudarem a realizar os meus sonhos.

Ao meu orientador, Profº Drº Bruno Martynhak, pelas contribuições, orientações e paciência que acrescentaram muito nesse trabalho.

Ao Rodrigo Guimarães, por sempre estar disposto a ouvir minha apresentação e colaborar com a melhoria da mesma.

À todos os meus amigos, que de alguma forma se interessaram em entender esse trabalho e dar contribuições.

RESUMO

Esquizofrenia é uma doença psiquiátrica que atinge cerca de 1% da população mundial. Seus sintomas são divididos em positivos, negativos e cognitivos. Além disso, a esquizofrenia está relacionada a problemas nas transmissões dopaminérgica, glutamatérgica e GABAérgica. Alterações estruturais também são encontradas na esquizofrenia, principalmente no córtex pré-frontal e no hipocampo. Alterações nos neurônios, como perda de espinhas dendríticas também são vistas. O tratamento da esquizofrenia é feito com antipsicóticos de primeira e segunda geração, porém esses tratamentos não são muito eficientes para reverter sintomas negativos e cognitivos. Fatores ambientais e genéticos contribuem para o desenvolvimento da esquizofrenia. Esses fatores de risco são utilizados para o desenvolvimento de modelos animais para estudar a esquizofrenia. Contudo, a maioria desses modelos só reproduz sintomas positivos da esquizofrenia, sendo necessários novos modelos que reproduzam sintomas negativos e cognitivos. O presente trabalho, através da revisão crítica da literatura, propõe um novo modelo animal de esquizofrenia que poderia reproduzir sintomas negativos e cognitivos. Usando a *2-hit hypothesis* como base, é proposto um modelo de neurodesenvolvimento, utilizando o antimitótico MAM, seguido de trauma, um dos fatores de risco da esquizofrenia. Testes para validação do modelo proposto também são discutidos no trabalho. Espera-se que esse modelo consiga reproduzir a sintomatologia da esquizofrenia e possa ser mais uma ferramenta usada nos estudos da esquizofrenia.

Palavras-Chave: Esquizofrenia. Modelos animais. *2-hit hypothesis*.

ABSTRACT

Schizophrenia is a psychiatric disorder that affects around 1% of the global population. Its symptoms are divided in positive, negative and cognitive symptoms. Moreover, schizophrenia is associated with dysfunction in dopaminergic, glutamatergic and GABAergic transmission. Structural alterations are also found in schizophrenia, especially in the pre-frontal cortex and the hippocampus. Changes in neurons, such as dendritic spine loss, are found as well. Schizophrenia treatment consists in first and second-generation antipsychotics; however, these drugs are not very effective in treating negative and cognitive symptoms. Environmental and genetic factors contribute to the development of schizophrenia. These risk factors are used in order to develop animal models used in schizophrenia research. Yet, most of the animal models used only reproduce positive symptoms, and the proposal of new animal models that can reproduce negative and cognitive symptoms is necessary. The present term paper, using critical literature review, proposes a new animal model of schizophrenia that could replicate negative and cognitive symptoms. Using the 2-hit hypothesis, it is proposed a neurodevelopmental model, utilizing the antimetabolic substance MAM, followed by trauma, one of the environmental risk factors of schizophrenia. Tests that can be used to validate the model are discussed in the paper as well. It is expected that this model will be able to replicate the range of symptoms seen in schizophrenia, and it could be used as a new tool in schizophrenia research.

Keywords: Schizophrenia. Animal models. 2-hit hypothesis

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

| | |
|--|----|
| FIGURA 1 – INTERAÇÃO DOS SISTEMAS DOPAMINÉRGICO, GLUTAMATÉRGICO E GABAÉRGICO NA ESQUIZOFRENIA..... | 15 |
| FIGURA 2 – SEQUÊNCIA DOS EVENTOS DA <i>2-HIT HYPOTHESIS</i> | 17 |
| FIGURA 3 – INIBIÇÃO POR PRÉ-PULSO DA RESPOSTA DE SOBRESSALTO..... | 27 |
| FIGURA 4 – ESQUEMATIZAÇÃO PARA AVALIAÇÃO DAS VALIDADES DE MODELOS ANIMAIS DE ESQUIZOFRENIA..... | 39 |
| FIGURA 5 – FLUXOGRAMA DE EVENTOS PARA A INDUÇÃO DO MODELO ANIMAL DE NEURODESENVOLVIMENTO SEGUIDO DE TRAUMA..... | 47 |
| FIGURA 6 – REPRESENTAÇÃO CRONOLÓGICA DO DESENHO EXPERIMENTAL.. | 48 |
| FIGURA 7 – REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DO PROTOCOLO DE APRENDIZADO REVERSO..... | 51 |

LISTA DE TABELAS

| | |
|--|----|
| TABELA 1 – RESULTADOS ESPERADOS PARA O MODELO E TESTES DE REVERSÃO FARMACOLÓGICA..... | 55 |
|--|----|

LISTA DE ABREVIATURAS

| | | |
|-------|---|---|
| Ara-C | - | Arabinosídeo-C |
| AST | - | <i>Attentional set-shifting</i> |
| DG | - | Dia gestacional |
| DISC1 | - | <i>Disrupted in schizophrenia 1</i> |
| DP | - | Dia pós-natal |
| DSM-5 | - | Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais |
| GABA | - | Ácido gama-aminobutírico |
| GWAS | - | Estudos de Associação Ampla do Genoma |
| HPLC | - | Cromatografia líquida de alta performance |
| IPP | - | Inibição pré-pulso |
| MAM | - | Metilazoxi-metanol |
| MHC | - | Complexo principal de histocompatibilidade |
| NMDA | - | N-metil-D-aspartato |
| PCP | - | Fenciclidina |

SUMÁRIO

| | |
|--|-----------|
| 1 INTRODUÇÃO | 11 |
| 2 ESQUIZOFRENIA | 13 |
| 2.1 FATORES AMBIENTAIS | 17 |
| 2.1.1 Fatores relacionados à gravidez | 17 |
| 2.1.2 Fatores socioeconômicos, migração e urbanização..... | 20 |
| 2.1.3 Traumas..... | 21 |
| 2.1.4 Abuso de drogas | 22 |
| 2.2 FATORES GENÉTICOS E EPIGENÉTICOS | 23 |
| 3 TESTES UTILIZADOS NA ESQUIZOFRENIA | 25 |
| 3.1 TESTES COMPORTAMENTAIS | 25 |
| 3.1.1 Sintomas positivos | 25 |
| 3.1.2 Sintomas negativos | 27 |
| 3.1.3 Sintomas cognitivos | 30 |
| 3.2 TESTES NEUROQUÍMICOS E DE MORFOLOGIA..... | 33 |
| 3.3 EFEITO DE ANTIPSICÓTICOS NOS TESTES..... | 35 |
| 4 MODELOS ANIMAIS EXISTENTES PARA ESQUIZOFRENIA | 38 |
| 4.1 NEURODESENVOLVIMENTO | 40 |
| 4.2 LESÕES | 41 |
| 4.3 FARMACOLÓGICOS | 43 |
| 4.4 GENÉTICOS..... | 44 |
| 5 PROPOSTAS DOS NOVOS MODELOS | 46 |
| 5.1 MODELO DE NEURODESENVOLVIMENTO SEGUIDO DE TRAUMA | 46 |
| 5.1.1 Introdução | 46 |
| 5.1.2 Metodologia..... | 47 |
| 5.1.3 Resultados esperados..... | 52 |
| 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS | 56 |
| 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 58 |

1 INTRODUÇÃO

Esquizofrenia é uma doença psiquiátrica que atinge cerca de 1% da população mundial (STILO e MURRAY, 2010). No Brasil, foi registrado uma prevalência para a doença de 0,7%, semelhante a prevalência mundial (LEITÃO et al. 2006). Há uma diferença de incidência de esquizofrenia entre sexos. Homens têm 1.4 vezes mais chances de desenvolver a doença que mulheres (MCGRATH et al, 2008).

Os sintomas da esquizofrenia podem ser divididos em três categorias: positivos, como alucinações e delírios; negativos, como anedonia e falta de expressão emocional; e cognitivos, como déficits na memória de trabalho e atenção (ANDREASEN, 1995; KIRKPATRICK et al, 2006; NUECHTERLEIN et al, 2004).

Fatores ambientais e genéticos contribuem para o desenvolvimento da esquizofrenia. A herdabilidade, índice que aponta o quanto da doença é causada por fatores genéticos, da esquizofrenia é por volta de 80% (SULLIVAN et al, 2003). Vários genes já foram associados à patogênese da esquizofrenia, muitos deles envolvidos no neurodesenvolvimento (SULLIVAN, 2005). Mais recentemente, estudo de GWAS conseguiram associar mais de 100 loci à esquizofrenia, dentre eles genes envolvidos na resposta imune, na transmissão dopaminérgica e na transmissão glutamatérgica (EUROPE PMC FOUNDERS GROUP, 2014). Dentre os fatores ambientais de risco, podem ser citados as complicações obstétricas, tanto durante a gravidez como no parto, déficits de nutrientes e infecções pré-natais (CANNON et al, 2002); trauma físicos e psicológicos na infância (MOLLOY et al, 2011; READ et al, 2005); crescimento em ambiente urbano e migração (MCGRATH et al, 2004); fatores socioeconômicos (WERNER et al, 2007); e abuso de drogas, principalmente maconha (GURURAJAN et al, 2012). Nota-se que os fatores de risco ambientais podem estar presentes durante todas as fases da vida, sendo mais relevante durante as fases nas quais ocorre o desenvolvimento do sistema nervoso.

Com relação ao tratamento, os principais antipsicóticos utilizados na clínica são antagonistas do receptor dopaminérgico D2 e podem ser classificados como de primeira geração e de segunda geração (LALLY E MCCABE, 2015). Entretanto, sintomas negativos e cognitivos são resistentes ou pouco responsivos a esses tratamentos, além

de ainda haver muita desistência devido aos efeitos colaterais dos tratamentos, como efeitos extrapiramidais para os de primeira geração e síndrome metabólica e ganho de peso para os de segunda geração (ERHART et al, 2006; KEEFE et al, 2007; LIEBERMAN et al, 2005). Antidepressivos são usados em conjunto com antipsicóticos para ajudar no tratamento de sintomas negativos e cognitivos. Contudo, esses fármacos também não são muito eficientes (HINKELMANN et al, 2013; TEREVNIKOV et al, 2014; VERNON et al, 2014).

Para o estudo da esquizofrenia, foram desenvolvidos vários modelos animais em roedores (JONES et al, 2011; YANAGI et al, 2012). Esses modelos podem ser classificados em quatro grupos de indução: de neurodesenvolvimento, induzido por drogas, lesão e manipulação genética. Porém, muitos dos modelos animais existentes só conseguem representar os sintomas positivos da doença (JONES et al, 2011). Existem propostas de desenvolvimento de modelos mistos, que unam fatores ambientais e genéticos no mesmo modelo, para aumentar a confiabilidade e reprodução de mais comportamentos tipo-esquizofrênicos (AYHAN et al, 2016).

A falta de modelos animais que representem os sintomas negativos e cognitivos da esquizofrenia pode ser prejudicial para o desenvolvimento de novos tratamentos. Por isso, é necessário que novos modelos animais sejam propostos para preencher as lacunas deixadas pelos modelos já existentes. Em função disso, este trabalho propõe um novo modelo animal de esquizofrenia, utilizando rato como animal modelo. A partir de uma revisão crítica da literatura existente de fatores de risco da esquizofrenia, modelos utilizados atualmente e testes utilizados para avaliar os sintomas e os aspectos neuroquímicos em roedores, é proposto um modelo que se baseia na *2-hit hypothesis*, hipótese que assume que eventos que ocorre durante a gestação poderiam ser o primeiro fator para o desenvolvimento de esquizofrenia e, posteriormente na vida do indivíduo, outros fatores podem servir de gatilho para o aparecimento da doença. Um agente que interfere no neurodesenvolvimento (MAM; primeiro *hit*) será administrado em fêmeas grávidas e, quando a prole crescer, eles passarão por um protocolo de trauma (segundo *hit*). Espera-se conseguir nesse modelo representar sintomas positivos, negativos e cognitivos, o que não foi visto em outros modelos. Testes comportamentais e neuroquímicos também serão propostos para uma possível validação desse modelo.

2 ESQUIZOFRENIA

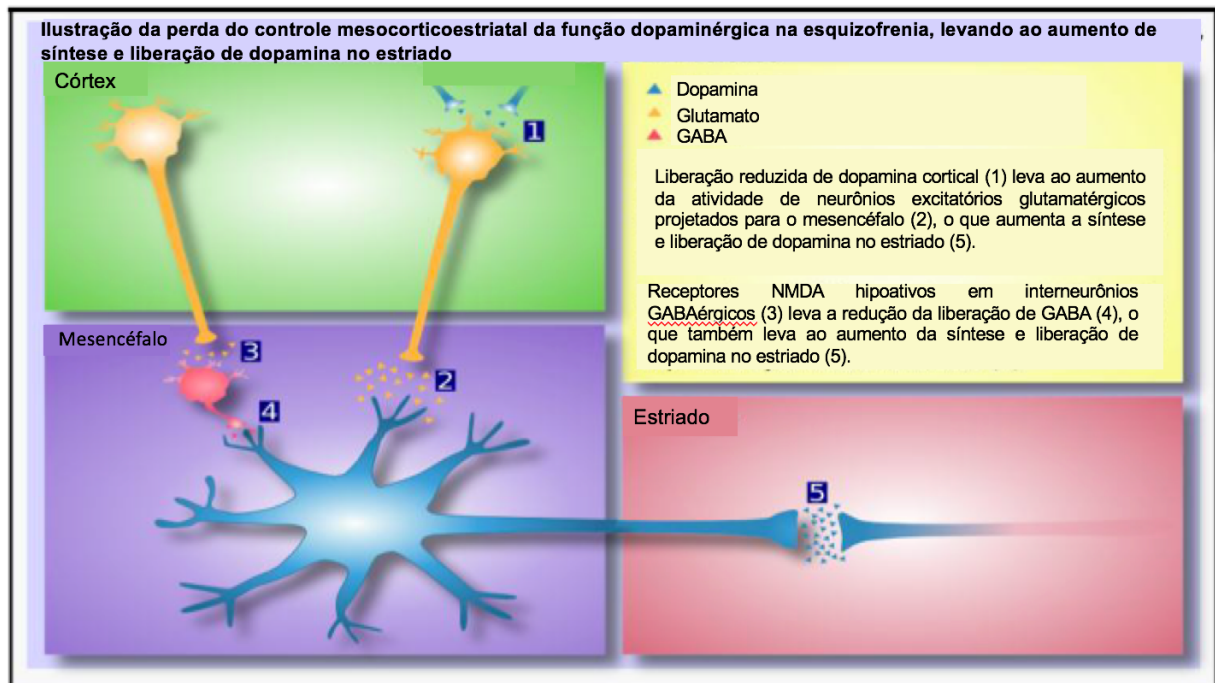
A esquizofrenia é um transtorno psiquiátrico que afeta processos básicos de percepção, emoção e julgamento (ROSS et al, 2006). A prevalência da doença a nível mundial é de 1% (STILO e MURRAY, 2010). O diagnóstico, segundo o DSM-5, é feito pela presença de sintomas positivos (delírios, alucinações, fala desorganizada e comportamento totalmente desorganizado ou catatônico) e sintomas negativos (embotamento afetivo e avolição) por pelo menos um mês (TANDON et al, 2013, ver Tabela 1). Entretanto, além dos sintomas mencionados, estão presentes também sintomas cognitivos, que não estão listados no critério de diagnóstico pelo DSM-5. Vários domínios cognitivos estão prejudicados na esquizofrenia, dentre eles estão déficits velocidade de processamento, habilidade verbal, memória de trabalho, episódica e espacial, função executiva e atenção (SCHAEFER et al, 2013).

Pessoas com esquizofrenia apresentam alterações morfológicas em várias regiões do encéfalo (GLAHN ET AL, 2008; OKADA et al, 2016). Há uma diminuição no volume total do encéfalo, porém essa redução ocorre em regiões específicas (VITA et al, 2012). Em estudos de Imagem por Ressonância Magnética (IRM), foi observado que há redução do volume de várias áreas subcorticais, como da amígdala e do hipocampo. Em contrapartida, os ventrículos laterais estão aumentados, devido à redução de outras regiões (OKADA et al, 2016, HARTBERG et al, 2011). Regiões corticais também estão reduzidas na esquizofrenia, no lobo temporal e lobo frontal, principalmente o córtex pré-frontal e orbitofrontal (SHENTON et al, 2010, VITA et al, 2012). Com relação à substância branca, utilizando IRM de difusão, foi visto redução de regiões no córtex orbitofrontal, principalmente em regiões que conectam essa área ao lobo temporal e ao sistema límbico (SUSSMANN et al, 2009; SZESZKO et al, 2008). Além disso, alterações morfológicas nos neurônios também foram observadas, como redução de espinhas dendríticas no córtex pré-frontal e também aumento na poda sináptica (FALUDI e MIRNICS, 2011). Mudanças estruturais na substância cinzenta já foram relacionadas a vários sintomas chave da doença, como alucinações auditivas, delírios, disfunção social e problemas cognitivos (BRENT et al, 2013). Já mudanças na substância branca e conectividade

também estão associadas a alucinações auditivas e delírios, assim como com a maior severidade de sintomas negativos e cognitivos (HUBL et al, 2004; SZESZKO et al, 2008).

Com relação à patofisiologia da esquizofrenia, a teoria dopaminérgica é uma das mais aceitas atualmente. Segundo essa teoria, a liberação de dopamina no mesencéfalo está aumentada em pacientes com esquizofrenia. Ela foi criada baseada no mecanismo de ação dos primeiros antipsicóticos, que eram antagonistas do receptor D2 da dopamina. Outra evidência para esta teoria é que a administração de agonistas de receptores dopaminérgicos pode induzir sintomas psicóticos em pessoas normais e piorar os sintomas em pessoas com esquizofrenia (HOWES et al, 2012; HOWES et al, 2017). Além disso, foi observado que ocorre aumento da síntese de dopamina pré-sináptica e ocorre um pequeno aumento no número de receptores pós-sinápticamente, sem alteração no transporte de dopamina da fenda sináptica (HOWES et al, 2012). Também se acredita que o glutamato tem participação na esquizofrenia. Antagonistas dos receptores NMDA do glutamato, como PCP e quetamina, reproduzem os sintomas positivos e cognitivos e mudanças neuroquímicas observadas na esquizofrenia (JAVITT, 2010; HOWES et al, 2015). O que se acredita é que pacientes com esquizofrenia têm menos responsividade em receptores NMDA do glutamato, o que diminuiria a transmissão glutamatérgica (HOWES et al, 2015). Há também evidências que o GABA tenha um papel na esquizofrenia, baseado em estudos neuropatológicos. Interneurônios parvalbumínicos no córtex pré-frontal apresentaram diminuição de imunomarcagem do transportador de GABA (GAT). Além disso, a GAD67, uma das enzimas responsável pela síntese de GABA, está reduzida nesses interneurônios. Também, ocorre o aumento de receptores GABA_A nos neurônios pós-sinápticos, o que poderia ser um mecanismo compensatório (LEWIS et al, 2005). Além do córtex pré-frontal, essas alterações também foram vistas no hipocampo e no córtex cingulado anterior (TAYLOR et al, 2015). Contudo, esses três sistemas de neurotransmissão estão integrados um com o outro; portanto, alterações no sistema glutamatérgico e GABAérgico resultaria no aumento de dopamina no mesencéfalo (FIGURA 1) (JAVITT, 2010; HOWES et al, 2017). Outros sistemas de neurotransmissores também podem estar envolvidos com a esquizofrenia, como o sistema colinérgico muscarínico e o sistema serotoninérgico (CARRUTHERS et al, 2015; EGGERS, 2013).

FIGURA 1 – INTERAÇÃO DOS SISTEMAS DOPAMINÉRGICO, GLUTAMATÉRGICO E GABAÉRGICO NA ESQUIZOFRENIA



FONTE: Adaptado de HOWES et al, 2017

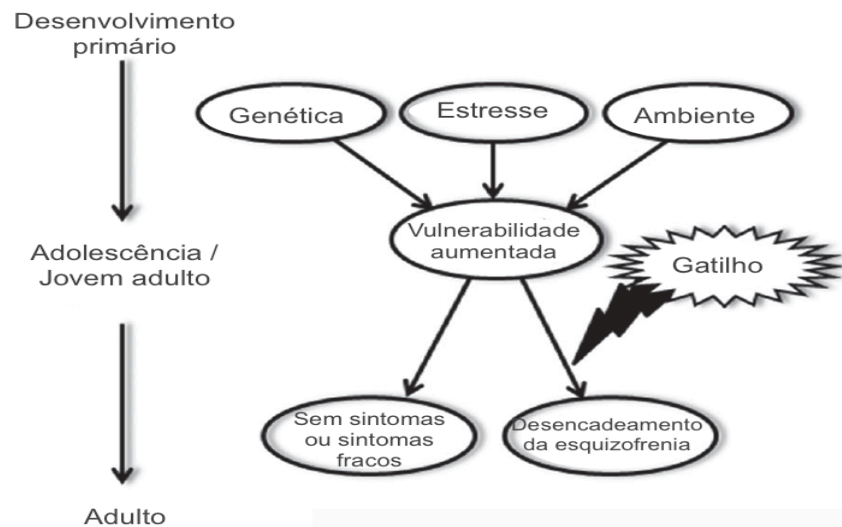
Outra teoria proposta para a etiologia da esquizofrenia é a do neurodesenvolvimento. Nessa teoria, os fatores de risco causam intervenções no neurodesenvolvimento, o que pode levar a alterações em vias patológicas que se manifestariam no período de desencadeamento da doença, na adolescência ou no início da vida adulta (FATEMI e FOLSOM, 2009). Durante o neurodesenvolvimento, ocorre a regulação do balanço de sinapses excitatórias e inibitórias, pela perda de sinapses excitatórias e pela formação de sinapses inibitória, além do começo do processo de mielinização (INSEL, 2010). Na esquizofrenia, ocorreria um aumento exacerbado da poda de sinapses excitatórias, formação diminuída de sinapses inibitórias e a diminuição da mielinização (INSEL, 2010). Essas diferenças na formação do encéfalo, segundo essa teoria, seriam responsáveis pelas outras mudanças neuroquímicas e desencadeamento da esquizofrenia. Outra hipótese proposta é *2-hit hypothesis*. Nessa hipótese, o indivíduo sofre com fatores genéticos ou fatores ambientais que impactam o

neurodesenvolvimento, e, em um momento mais tarde na vida, o indivíduo sofre com outro fator que é o gatilho para o desenvolvimento da doença (FIGURA 2; PINO et al, 2014). Os fatores que podem afetar o neurodesenvolvimento podem ser genéticos e ambientais, como complicações na gravidez e no parto. Já os fatores gatilho são os que ocorrem próximo ao desencadeamento da doença, como abuso de drogas e trauma. Devido a essas evidências, também é proposto que a esquizofrenia é uma doença que afeta o neurodesenvolvimento progressivamente, que começa no período pré-natal e continua durante toda a vida do paciente (PINO et al, 2014).

Com relação ao tratamento, os antipsicóticos são a primeira escolha para esquizofrenia. Eles podem ser agrupados em primeira geração ou típicos e segunda geração ou atípicos. O mecanismo de ação dos antipsicóticos típicos e atípicos é o bloqueio de receptores D2 da dopamina. Porém, os antipsicóticos típicos têm uma afinidade muito grande por esses receptores, o que causa o seu principal efeito colateral, efeitos extrapiramidais, como discinesia e parkinsonismo. Os antipsicóticos atípicos foram desenvolvidos para amenizar esses efeitos (LALLY E MCCABE, 2015). Porém, antipsicóticos atípicos também apresentam efeitos adversos, como síndrome metabólica e ganho de peso (LIEBERMAN et al, 2005). A clozapina, um antipsicótico atípico, é muito utilizado na clínica pois, além de não causar efeitos extrapiramidais, é também muito efetiva no tratamento pacientes resistentes a outros tratamentos. Contudo, ela causa muitos efeitos colaterais hematológicos, cardiovasculares, gastrointestinais e metabólicos. O principal efeito colateral é a agranulocitose, que é a diminuição de granulócitos no sangue. Pacientes que usam clozapina devem fazer exames regulares para verificar a taxa de granulócitos e prevenir esse efeito. Por causa de todos os efeitos colaterais, a clozapina não é um fármaco de primeira escolha (FAKRA e AZORIN, 2012). Todos os tratamentos utilizados na clínica são eficazes para tratar sintomas positivos. Porém, para sintomas negativos e cognitivos, os antipsicóticos típicos não são eficazes e os atípicos têm efeito moderado (ERHART et al, 2006; KEEFE et al, 2007; BRUIJNZEEL et al, 2014). Isso, somado aos efeitos colaterais, aumentam a taxa de não aderência ao tratamento entre os pacientes (LIEBERMAN et al, 2005). Antidepressivos geralmente são utilizados em conjunto com antipsicóticos para tratar sintomas positivos e cognitivos. Foi visto que alguns tipos de antidepressivos são eficazes para tratar

sintomas negativos (KISHI et al, 2014). Porém, outros estudos mostraram que esses fármacos não são eficazes no tratamento de sintomas negativos e cognitivos (HINKELMANN et al, 2013; TEREVNIKOV et al, 2014; VERNON et al, 2014). Ainda são necessários mais estudos para determinar a real eficácia de antidepressivos no tratamento adjunto da esquizofrenia.

FIGURA 2 – SEQUÊNCIA DOS EVENTOS DA 2-HIT HYPOTHESIS



FONTE: Adaptado de GURURAJAN et al, 2012

Apesar das causas da esquizofrenia ainda não estarem elucidadas, sabe-se que existem fatores de risco que contribuem com o surgimento da doença. Esses fatores de risco podem ser tanto genéticos quanto ambientais. Uma pequena revisão desses fatores será apresentada a seguir.

2.1 FATORES AMBIENTAIS

2.1.1 Fatores relacionados à gravidez

Vários fatores que podem alterar o neurodesenvolvimento durante a gravidez estão relacionadas ao surgimento da esquizofrenia na vida adulta. Complicações durante a gravidez ou no parto, infecções, incompatibilidade sanguínea, falta de nutrientes

durante a gravidez, uso de certos medicamentos e estresse materno são fatores de risco para o desenvolvimento de esquizofrenia.

Complicações na gravidez e no parto, como hipóxia, isquemia e pré-eclâmpsia, podem aumentar o risco de esquizofrenia. Dessas, pré-eclâmpsia é a que apresenta a associação mais forte com esquizofrenia (DALMAN et al, 1999; CANNON et al, 2002; EIDE et al, 2013). Baixo peso ao nascer também foi relacionado ao desenvolvimento da esquizofrenia. As chances de ter a doença aumentam quanto menor o peso da criança ao nascer (GUNNELL et al, 2005; ABEL et al, 2010). Uma associação inversa também foi observada entre o comprimento das crianças ao nascer e o desenvolvimento de esquizofrenia na vida adulta (GUNNELL et al, 2005). Todos os estudos foram feitos em populações grandes e homogêneas. Contudo, as correlações observadas entre complicações obstétricas e esquizofrenia foram fracas.

Alguns tipos de infecções também podem ser fatores de risco para esquizofrenia. Rubéola, *influenza*, toxoplasmose e infecções bacterianas durante a gestação, principalmente no primeiro trimestre, aumentam as chances do bebê de desenvolver esquizofrenia quando mais velho (BROWN et al, 2000; BROWN et al, 2004a; BROWN et al, 2005; SORENSEN et al, 2009). Também foi visto que o aumento de citocinas pró-inflamatórias durante o segundo trimestre de gravidez pode aumentar o risco de surgimento de esquizofrenia na vida adulta (BROWN et al 2004b). Outros estudos, contudo, não encontraram correlação entre infecções durante a gravidez e esquizofrenia (BROWN et al 2006; SELTEN et al, 2010; NIELSEN et al, 2015). Métodos de diagnósticos diferentes e diferenças no número de paciente testados podem ser fatores que contribuíram para as discrepâncias entre os trabalhos.

Incompatibilidade materno-fetal também é considerado um fator de risco para a esquizofrenia. Incompatibilidade de Rh e de ABO podem aumentar o risco de esquizofrenia, por causar danos ao neurodesenvolvimento (HOLLISTER et al, 1996; INSEL et al, 2005). Apesar das evidências da incompatibilidade materno-fetal ser um fator de risco para a esquizofrenia, ainda há poucos estudos abordando esse assunto e os estudos existentes foram realizados com amostras pequenas.

Falta de nutrientes também pode ser um fator de risco para esquizofrenia. Por influenciarem mudanças epigenéticas, nutrientes podem causar disfunção no

neurodesenvolvimento (KIRKBRIDE et al, 2012). Pessoas que nasceram durante grandes períodos de fome, como a Fome Holandesa e a Fome Chinesa, apresentaram mais chances de desenvolver esquizofrenia (HOEK et, 1996; SUSSER et al, 1996; XU et al, 2009). Apesar dos dados para Fome Holandesa serem antigos e não usarem o DSM como método diagnóstico, todos os estudos apresentaram a mesma correlação entre má-nutrição e esquizofrenia. Alguns nutrientes, como folato, vitamina D e ferro foram observados como fatores de risco para esquizofrenia. Foi observado que níveis elevados de homocisteína durante o terceiro trimestre de gravidez podem aumentar a chance de ter esquizofrenia (BROWN et al, 2007). Baixos níveis de folato, nutriente importante para o neurodesenvolvimento, foram associados ao desenvolvimento de esquizofrenia, através da dosagem de homocisteína (PICKER & COYLE, 2005). A homocisteína é precursor do aminoácido metionina, e para ocorrer a conversão é necessário que folato doe carbono. Por isso, altos níveis de homocisteína podem ser relacionados com baixos níveis de folato (MELI et al, 2012). Com relação à vitamina D, tanto baixos quanto altos níveis ao nascer foram associados à esquizofrenia, porém baixos níveis de vitamina D no nascimento apresentaram correlação mais forte. A vitamina D é importante para expressão de fatores de crescimento do feto e também atua no sistema nervoso central (MCGRATH et al, 2010a). Ferro também é um nutriente fundamental para o desenvolvimento e funcionamento do sistema nervoso central. Por ser importante na formação da hemoglobina, a falta de ferro pode ocasionar problemas no transporte de oxigênio, o que pode levar a hipóxia fetal. Grávidas com concentrações de hemoglobina ≤ 10 g/dl no segundo e terceiro trimestre da gravidez apresentaram mais chances de ter filhos que desenvolveram esquizofrenia (INSEL et al, 2008). Porém, esses dados foram obtidos a partir da hemoglobina materna, não podendo afirmar que ocorre deficiência de ferro no recém-nascido.

O uso de medicamentos, como analgésicos e diuréticos, durante a gravidez também foi associado ao aumento do risco de esquizofrenia (SORENSEN et al, 2003; SORENSEN et al, 2004). Apesar de os estudos terem boa validade estatística, os dados usados para a análise são dos anos 60, dados muito antigos, com medicamentos que não são utilizados na clínica atualmente.

Outro fator de risco é estresse materno durante a gravidez. Vários tipos de estresse já foram associados à esquizofrenia, como morte de parentes, enchentes, guerras e gravidez indesejada. Mulheres que perderam parentes próximos durante o primeiro trimestre de gestação apresentam mais chances de ter filhos que desenvolverão esquizofrenia na vida adulta (KHASHAN et al, 2008). Porém, esse tipo de estresse ainda apresenta controvérsias, pois essa associação não foi observada posteriormente (CLASS et al, 2014). Essa diferença pode ter ocorrido por metodologias diferentes de análise e divergências no tamanho da amostra entre os estudos. Também já foi observado que mães que presenciaram guerras durante os dois primeiros trimestres de gravidez têm mais chances de ter filhos com esquizofrenia (van OS & SELTEN, 1998; MALASPINA et al, 2008). Com relação à gravidez indesejada, ainda há dados controversos. Mães que relataram não desejar a gravidez tiveram mais chances de vir a ter filhos com esquizofrenia quando adulto (MYHRMAN et al, 1996). Porém, em um estudo mais recente, nenhuma associação foi vista (HERMAN et al, 2006). A diferença de método de diagnóstico para esquizofrenia pode ter contribuído com os resultados divergentes. Ainda há dados controversos sobre o papel do estresse materno no desenvolvimento da esquizofrenia e esses devem ser considerados com cuidado.

2.1.2 Fatores socioeconômicos, migração e urbanização

Com relação à urbanização, pessoas que vivem em ambiente urbano têm mais chances de desenvolver esquizofrenia que indivíduos que vivem em áreas mistas ou rurais (MCGRATH et al, 2004; VASSOS et al, 2012). Ainda não se sabe quais fatores podem influenciar essa associação, se a presença de mais infecções, dieta diferenciada ou outros fatores de risco (KRABBENDAM e van OS, 2005; PEDERSEN et al, 2006). Foi visto que crianças que moram perto de grandes rodovias, com alta quantidade de tráfego, têm mais chances de desenvolver esquizofrenia (PEDERSEN et al, 2006). Mais estudos são necessários para verificar a relação entre urbanização e esquizofrenia e quais seriam as causas dessa relação.

Imigrantes apresentam mais chances de desenvolver esquizofrenia que nativos, e seus descendentes diretos (segunda geração de imigrantes) também apresentam mais chances, com correlação forte, de desenvolver a doença (CANTOR-GRAAE et al, 2003;

MCGRATH et al, 2004; SELTEN et al, 2007). Além disso, imigrantes que saíram de seu país como refugiados apresentaram cerca de 3 vezes mais chances de desenvolver o transtorno quando comparado com nativos, e cerca de 2 vezes mais chances quando comparados com imigrantes não-refugiados (HOLLANDER et al, 2016). Isso poderia acontecer porque imigrantes refugiados passam por eventos muito traumáticos, o que também contribuiria para o desenvolvimento da esquizofrenia. Em um estudo recente, foi observado que imigrantes apresentam maior liberação e síntese de dopamina estriatal, independente do status clínico (EGERTON et al, 2017). Essa é uma evidência que a migração pode interferir na transmissão dopaminérgica, e levando, assim, ao desenvolvimento da doença na população.

O status socioeconômico ao nascer também foi considerado um fator de risco para a esquizofrenia. Baixo nível de escolaridade de mães e pais, baixo nível de empregos de mães e pais e condições de moradia, não só da pessoa, mas do bairro como um todo, foram relacionados a maiores chances de esquizofrenia (WERNER et al, 2007; AGERBO et al, 2015). Poucos dados abordando essa associação foram encontrados, e ainda mais estudos são necessários para entender porque disso.

2.1.3 Traumas

Traumas durante a infância, como abuso físico, abuso sexual, negligência e *bullying* podem ser fatores de risco para a esquizofrenia (VARESE et al, 2012). Esses tipos de traumas podem aumentar as chances do desenvolvimento da doença em aproximadamente três vezes (ARSENEAULT et al, 2011; VARESE et al, 2012). Também foi visto que esse risco só ocorre em traumas intencionais, como abuso sexual e *bullying* (ARSENEAULT et al, 2011). Além disso, cerca de 80% de pacientes já diagnosticados com esquizofrenia reportaram ter sofrido algum tipo de abuso, principalmente físico, na infância (LARSSON et al, 2013). Também, há uma correlação entre esses tipos de traumas e sintomas positivos. Pacientes que sofreram traumas durante a infância têm aproximadamente três vezes mais chances de apresentar alucinações e delírios que pacientes que não sofreram trauma (JANSSEN et al, 2004). Do mesmo modo, sintomas negativos podem estar associados a traumas. A presença de qualquer tipo de trauma de

infância foi correlacionada positivamente com sintomas negativos (VOGEL et al, 2011). Ainda, pacientes que sofreram traumas apresentam aumento da resposta inflamatória (DENNISON et al, 2012), outro fator de risco para a esquizofrenia; e ocorre disfunção do eixo HPA (RUBY et al, 2012), o que poderia ser um mecanismo para o desenvolvimento de esquizofrenia.

Lesão na cabeça também é um tipo de trauma que pode aumentar as chances de esquizofrenia (CHEN et al, 2010; MOLLOY et al, 2011; ORLOVSKA et al, 2014). Há cerca de 1.5 vezes mais risco de desenvolver esquizofrenia pessoas que sofrerem esse tipo de lesão (MOLLOY et al, 2011; ORLOVSKA et al, 2014). Os efeitos da lesão são mais acentuados se ela ocorreu entre os 11 e 15 anos (ORLOVSKA et al, 2014). Poucos estudos levam em consideração lesões e traumas físicos como fator de risco para a esquizofrenia. Além disso, as associações encontradas são fracas, por isso mais estudos são necessários.

2.1.4 Abuso de drogas

Abuso de drogas durante a adolescência também está associado com o desenvolvimento de esquizofrenia. A maconha é uma das drogas mais ligadas ao transtorno. O uso de maconha na adolescência pode aumentar o risco de esquizofrenia em até seis vezes (ANDREASSON et al, 1987; ARSENEAULT et al, 2002; HENQUET et al, 2005; SCHUBART et al, 2011; CASADIO et al 2011; GURURAJAN et al, 2012). Além disso, usuários muito frequentes de maconha têm seis vezes mais chances de desenvolver a doença que pessoas que usam menos frequentemente (ZAMMIT et al, 2002). Igualmente, o uso de maconha aumenta mais as chances de esquizofrenia em pessoas que já têm predisposição a doença (HENQUET et al, 2005). Também foi visto que uso de maconha durante a adolescência pode aumentar a frequência de sintomas positivos, como alucinações e delírios (MCGRATH et al, 2010b; SCHUBART et al, 2011). O uso controlado de maconha durante a adolescência tem uma fraca associação com o aumento de sintomas negativos; porém, quando usada muito frequentemente, essa relação se trona mais forte (SCHUBART et al, 2011).

Outra droga também associada à esquizofrenia é a metanfetamina. Já foi visto que o uso de metanfetamina pode aumentar o risco de desenvolver a doença (KITTIRATTANAPAIBOON et al, 2010; CALLAGHAN et al, 2012; GURURAJAN et al, 2012). Além disso, pacientes que utilizaram a droga antes dos 20 anos de idade apresentam maiores chances de ter o transtorno do que aqueles que utilizaram depois dessa idade (KITTIRATTANAPAIBOON et al, 2010). Apesar dos indícios da associação de metanfetamina e esquizofrenia, poucos estudos foram encontrados analisando essa droga como fator de risco.

2.2 FATORES GENÉTICOS E EPIGENÉTICOS

A esquizofrenia é uma doença com um fator genéticos fundamental, tendo uma herdabilidade de 80% (SULLIVAN et al, 2003). Além disso, é uma doença complexa e poligênica, com cada gene envolvido contribuindo um pouco para o seu desenvolvimento (GEJMAN et al, 2010). Por isso, vários estudos foram feitos tentando desvendar quais genes estão envolvidos na patofisiologia da doença. Primeiramente, esses estudos foram realizados por análise de famílias, com gêmeos e com pessoas adotadas (HALLMAYER, 2000; GEJMAN et al, 2010). Estudos com genes candidatos, quando um gene é escolhido e é analisado a variabilidade e frequência dele em casos e controles, também foram muito realizados para identificar possíveis genes fatores de risco (FARRELL et al, 2015). Mais recentemente, tem-se utilizado Estudos de Associação Ampla do Genoma (GWAS, do inglês) para associar possíveis genes de risco. Em um consórcio internacional, entre vários centros de pesquisa, foram encontrados 108 *loci* ligados à esquizofrenia (EUROPE PMC FOUNDERS GROUP, 2014). Dentre esses, estão genes associados com a transmissão dopaminérgica, com a transmissão glutamatérgica e com a plasticidade sináptica. Além disso, genes responsáveis pela resposta imune, principalmente aqueles dentro do MHC, também podem estar envolvidos na patogênese da esquizofrenia, evidenciando o papel do sistema imune na etiologia da doença.

Muitos genes mencionados como fatores de risco por meio de estudos de genes candidatos não obtiveram significância em estudos de GWAS, como o *NRG1*, o *DISC1*, o *COMT*, o *BDNF* e o *DTNBP1* (GEJMAN et al, 2010; FARRELL et al, 2015; MOSTAID et al, 2016). Isso implica que muitos dos estudos feitos antes do uso do GWAS, devido

ao seu baixo poder estatístico, devem ser revisados para verificar o envolvimento desses genes com a esquizofrenia. Apesar de não ter sido encontrada associação no GWAS, o *DTNBP1* ainda é um gene muito estudado na esquizofrenia. O *DTNBP1* codifica para a proteína disbindina-1, responsável por regular a exocitose, a formação de vesículas e o tráfego de receptores envolvidos em sinapses excitatórias (KARLSGODT et al, 2011). Variantes desse gene já foram associadas com o aparecimento de alucinações (CHEAH et al, 2015), com sintomas negativos (DEROSSE et al, 2006) e com sintomas cognitivos, principalmente na atenção (BAEK et al, 2012).

Além disso, muitos dos genes que foram associados com a esquizofrenia também o foram como fatores de risco de outros transtornos psiquiátricos, como o transtorno bipolar e o autismo, apesar dessas doenças apresentarem características diferentes (GEJMAN et al, 2010; PURCELL et al, 2009). Por isso, as interações entre os genes e com os fatores ambientais devem ser levadas em consideração, pois uma mudança nessas interações pode mudar o fenótipo do paciente.

Além do papel genético, a epigenética também é um fator pertinente e cada vez mais estudado na esquizofrenia. Os fatores ambientais, mencionados anteriormente, podem influenciar a expressão de genes chave para o desenvolvimento da esquizofrenia, por meio de mecanismos epigenéticos (KIRKBRIDE et al, 2012; DEMPSTER et al, 2013; SVRAKIC et al, 2013). Estudos analisando o perfil epigenético no córtex frontal *post-mortem* revelaram padrões de metilação diferentes entre pacientes e controle (MILL et al, 2008; WOCKNER et al, 2015). Genes associados com as transmissões glutamatérgica e GABAérgica apresentaram padrões de metilação diferenciados entre casos e controles. Genes envolvidos no neurodesenvolvimento também apresentaram diferentes padrões de metilação. Os genes *DTNBP1* e *BDNF*, dependendo de sua variante, apresentaram hipermetilação em pacientes com esquizofrenia (MILL et al, 2008). Esse último resultado reforça o papel desses genes na esquizofrenia, apesar de não ter sido encontradas associações nos estudos de GWAS, mencionados anteriormente. Além disso, genes responsáveis pela metilação e organização das histonas e genes do MHC também apresentaram padrões de metilação diferentes entre pacientes e controles (WOCKNER et al, 2015).

Os avanços feitos nos campos da genética e da epigenética são importantes para elucidar os fatores genéticos da esquizofrenia e como vários genes e seu epigenoma contribuem para o desenvolvimento da esquizofrenia. Ainda, saber quais genes estão envolvidos na esquizofrenia e como eles estão envolvidos pode ajudar a entender melhor a patofisiologia da doença e também encontrar novos alvos de tratamento.

3 TESTES UTILIZADOS NA ESQUIZOFRENIA

3.1 TESTES COMPORTAMENTAIS

3.1.1 Sintomas positivos

Os sintomas positivos da esquizofrenia em humanos são a presença de alucinações e delírios, pensamento desorganizado e alteração motora, principalmente catatonia (rigidez motora, porém também se apresenta como movimento repetitivos ou estereotipados). Esses sintomas são relatados ao médico pelo paciente, verbalmente. Porém, quando se pensa em modelos animais, esses sintomas não podem ser bem reproduzidos, pois roedores não conseguem se expressar verbalmente. Por isso, outros testes foram desenvolvidos para avaliar sintomas positivos em roedores.

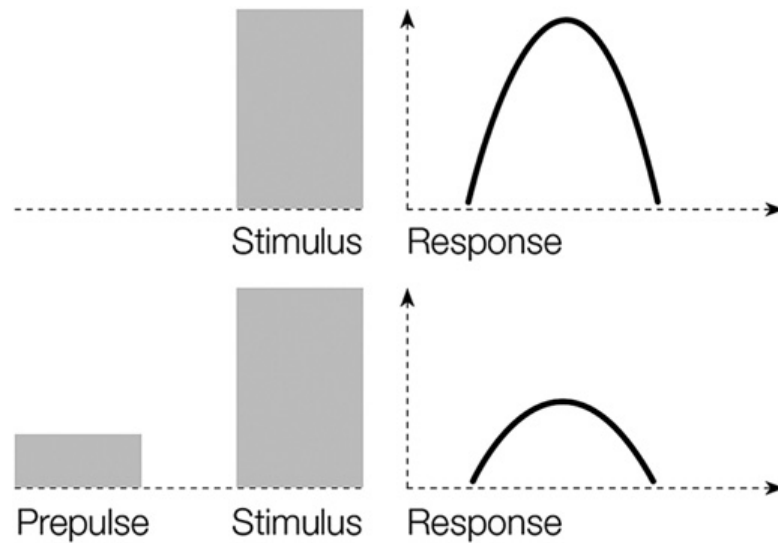
Um desses testes é a hiperlocomoção. Alguns pacientes com esquizofrenia apresentam “agitação psicótica”, incluindo hiperatividade e estereotipia (POWELL & MIYAKAWA, 2006). Devido a esse comportamento em humanos, a hiperlocomoção em roedores é usado como teste de sintoma positivo. Muitos estudos utilizaram a hiperlocomoção como maneira de avaliar sintomas positivos em modelos animais com diferentes formas de indução (SAMS-DODD et al, 1997; SAMS-DOD, 1998; CALVAZARA et al, 2011; BASURTO et al, 2014; ALMEIDA et al, 2014). A hiperlocomoção dos roedores nesses estudos foi medida utilizando a distância total percorrida pelo animal em campo aberto (em cm) ou utilizando o número de entradas em determinados locais (quadrados ou linhas). Outros estudos também usaram a locomoção induzida por psicoestimulantes, como anfetamina (BUUSE et al, 2005; LODGE e GRACE, 2009). O uso de psicoestimulantes como anfetamina aumenta a liberação de dopamina no estriado de

pacientes com esquizofrenia, o que aumentaria os efeitos psicóticos da doença, o que se correlaciona à hiperlocomoção (LARUELLE et al, 1996). Contudo, a distância percorrida por animais que sofreram indução por psicoestimulantes são similares a de animais que não sofreram indução. A estereotipia também pode ser utilizada como avaliação de sintoma positivo; contudo, não é tão utilizada como a hiperlocomoção (SAMS-DODD, 1998; POWELL & MIYAKAWA, 2006; WANG et al, 2015a). Estereotipia pode ser induzida por altas doses de apomorfina, um agonista não-seletivo D1/D2 de dopamina. A apomorfina pode causar aumento no comportamento de farejar e abocanhar (ABRAMS e BRUNO, 1992). A apomorfina pode ser usada para induzir o comportamento estereotipado em roedores e ser utilizadas para avaliar esse comportamento em modelos de esquizofrenia (BITANHIRWE et al, 2010).

Também é usado a inibição por pré-pulso (IPP), resposta que envolve mecanismos sensório-motores. A IPP da resposta de sobressalto acústico é a redução da resposta a um estímulo forte quando precedido por um estímulo fraco. Pacientes com esquizofrenia apresentam IPP prejudicada (FIGURA 4; KOHL et al, 2013). Apesar de ser um teste pré-cognitivo, a IPP é usada em muitos estudos como avaliação de sintoma positivo em roedores. A IPP é semelhante em humanos e roedores. Por isso, os modelos de esquizofrenia devem apresentar problemas de IPP para serem um bom modelo (BUUSE, 2005; POWELL & MIYAKAWA, 2006; FONE & PORKESS, 2008; LODGE & GRACE, 2009).

Apesar de serem usados amplamente para a validação de modelos animais, os testes para sintomas positivos apresentam limitações. Primeiramente, esses testes também estão relacionados com outros transtornos psiquiátricos. A hiperlocomoção pode estar presente no transtorno de hiperatividade e déficit de atenção e no transtorno bipolar (POWELL & MIYAKAWA, 2006). A diminuição da IPP também é observada em paciente com transtorno obsessivo-compulsivo e na síndrome de Tourette, apesar de ainda ser mais comumente usada na esquizofrenia (KOHL et al, 2013). Ainda, os testes mencionados, apesar de serem sintomas presentes em humanos, não são os sintomas positivos característicos do transtorno, que são alucinações e delírios. Por não abordarem esses sintomas mais específicos, a análise de sintomas positivos em animais pode estar prejudicada.

FIGURA 3: INIBIÇÃO POR PRÉ-PULSO DA RESPOSTA DE SOBRESSALTO



FONTE: KOHL et al, 2013

3.1.2 Sintomas negativos

Os sintomas negativos da esquizofrenia são sintomas de perda de função, como anedonia, avolição, isolamento social e falta de expressão de emoções. Os principais sintomas analisados são anedonia e isolamento social, deixando em segundo plano a abordagem de outros tipos de sintomas positivos, como o embotamento afetivo.

Anedonia pode ser medida pelo teste de preferência de sacarose. Nesse teste, o roedor pode escolher livremente entre ingerir água ou uma solução de sacarose. Roedores tendem a desenvolver uma preferência pela solução de sacarose. Essa preferência pode significar que os animais sentem mais prazer ao consumir a solução doce ou que a solução se torna um reforço ou recompensa para o animal (MUSCAT & WILLNER, 1989; BARNES et al, 2014). O teste consiste em colocar duas garrafas na gaiola, uma apenas com água e outra com sacarose. O animal na gaiola tem livre escolha de qual garrafa beber. A solução de sacarose usada pode variar de 1-2%. O consumo nas garrafas é analisado durante o período de teste. Baixo consumo da solução de sacarose pode indicar falta do componente hedônico nos animais. Além do volume consumido, também pode ser medido o número de lambidas que os animais deram em

cada garrafa (BARNES et al, 2014). Estudos utilizando diferentes modelos animais usaram o teste de preferência de sacarose para avaliar sintomas negativos (BAIRD et al, 2008; JAARO-PELED, 2009; BITANHIRWE et al, 2010; JENKINS et al, 2010; MIYAMOTO & NITTA, 2014). O teste de preferência de sacarose foi desenvolvido e inicialmente validado em modelos de depressão, o que pode diminuir a validade desse teste para a esquizofrenia. Além disso, estudos sugerem que pacientes com esquizofrenia conseguem sentir prazer enquanto estão realizando atividades prazerosas (GARD et al, 2007). Porém, outros componentes do sistema de recompensa podem estar comprometidos, como a predição ou antecipação da recompensa, dissociação do componente hedônico do comportamento motivado e dificuldades em recordar memórias prazerosas (HORAN et al, 2006; GARD et al, 2007; DOWD & BARCH, 2012; SIMPSON et al, 2012; WANG et al, 2015b). Por isso, o teste de preferência de sacarose pode não ser o melhor teste para avaliar o componente anedônico em animais. Testes que avaliam antecipação de recompensa podem ser utilizados para abordar esse aspecto da esquizofrenia. Um dos testes propostos para avaliar antecipação de recompensa é o teste de efeitos de contrastes sucessivos. Nesse teste, animais são expostos primeiramente a uma recompensa com alto valor hedônico (i.e. solução de 32% de sacarose) e, inesperadamente, recebem uma recompensa com um valor hedônico menor (i.e. solução de 4% de sacarose). Esses animais tendem a consumir menos a segunda recompensa comparado com animais que não foram expostos a recompensa de alto valor hedônico. Esse fenômeno é conhecido como contraste negativo sucessivo. O contrário também pode acontecer: animais que receberam uma recompensa de baixo valor e após uma de alto valor tendem a consumir mais da recompensa de alto valor do que animais que apenas receberam a de alto valor, o que é conhecido como contraste positivo sucessivo (BARNES et al, 2014). Esse teste não foi utilizado em modelos de esquizofrenia ainda. Porém, quando utilizando o contraste negativo sucessivo, animais modelos para esquizofrenia não apresentem diminuição do consumo da recompensa menos prazerosa quando comparados com controle, pois não conseguem antecipar que aquela recompensa não é mais tão prazerosa quanto a anterior.

Apesar de não ser comumente avaliada, avolição e desmotivação são testadas em animais pelo esquema de reforço em razão fixa (RF) ou progressiva (RP). No RF, os

animais devem pressionar uma alavanca por um número fixo de vezes para receber uma recompensa. Para testar motivação, esse número deve ser elevado, pois exigirá esforço do animal para receber a recompensa (SALOMONE et al, 2003). No RP, depois de receberem a recompensa pela primeira vez, o número de vezes que os animais devem pressionar a alavanca cresce exponencialmente. Os animais são primeiramente treinados em esquemas RF, depois seguem para RP. Ou seja, o esforço necessário para conseguir a recompensa aumenta com o tempo (RICHARDSON & ROBERTS, 1996). O protocolo de RP foi utilizado em um estudo para avaliar motivação em roedores modelo de esquizofrenia. Animais tipo-esquizofrênicos tendem a pressionar menos a alavanca em busca da recompensa (SIMPSON et al, 2011). Outro teste utilizado para testar motivação na esquizofrenia é o procedimento de escolha relacionada ao esforço. Esse teste avalia o desejo do animal de aumentar o esforço para conseguir a recompensa preferida ou consumir uma recompensa menos preferida que está disponível livremente. Esse teste avalia também o valor da recompensa e avalia o custo/benefício de uma determinada recompensa. Animais tipo-esquizofrênicos preferem consumir a recompensa disponível livremente a fazer esforço para consumir a recompensa mais prazerosa (WARD et al, 2012). É importante lembrar que, como mencionado anteriormente, pacientes com esquizofrenia podem apresentar componente hedônico e têm alterações no comportamento motivado. Distinguir entre esses dois aspectos é fundamental quando testado em animais (WARD et al, 2012).

Um dos testes mais usados para avaliar sintomas negativos em roedores são os testes de interação social, usando diferentes protocolos. O protocolo mais usado de interação social é colocar dois animais não familiarizados em um campo aberto e medir o tempo que eles passam socializando. O tempo de interação é calculado pelo somatório do tempo gasto cheirando ou seguindo o outro animal e do tempo gasto em comportamentos sociais passivos, como deitar ao lado do outro animal. Os animais são deixados interagindo durante 10 minutos e animais submetidos a modelos de esquizofrenia tendem a passar menos tempo interagindo com o outro animal (SAMS-DODD et al, 1997; SAMS-DODD, 1998; O'TUATHAIGH et al, 2010; CALZAVARA et al, 2011; ALMEIDA et al, 2014). Outro protocolo usado é a preferência pela novidade social. Nesse teste, o animal testado é colocado em uma caixa com três câmaras. Junto com

ele, outro animal é colocado em outra câmara, e os animais podem interagir por um tempo. Após a interação, outro animal é colocado na segunda câmara, e o animal testado pode explorar livremente as duas câmaras. Roedores tendem a socializar mais tempo com o animal novo, não conhecido, do que com o animal já conhecido. Animais tipo-esquizofrênicos perdem essa preferência pelo animal não conhecido (O'TUATHAIGH et al, 2010). Ambos esses testes são realizados em um ambiente novo para o animal, o que pode aumentar a ansiedade dos animais e ser um fator de confusão para a análise (POWELL & MIYAKAWA, 2006). Uma maneira de reduzir a ansiedade é testar os animais em suas próprias gaiolas, porém, apenas o primeiro protocolo poderia ser realizado dessa forma. Com relação aos outros protocolos, a ansiedade poderia ser diminuída por uma ambientação prévia na arena que o teste será realizado. O uso de testes de interação social é uma boa maneira de avaliar sintomas negativos, já que esse sintoma é bem acentuado em humanos.

3.1.3 Sintomas cognitivos

Pacientes com esquizofrenia também apresentam déficits cognitivos, em diversos domínios, como memória de trabalho, memória de longo prazo, atenção, função executiva e resolução de problemas. Alguns testes são utilizados para testar esses domínios cognitivos em roedores.

Para testar memória de trabalho, o teste mais utilizado é o labirinto radial. Esse teste consiste em uma câmara octagonal com oito braços. Em cada braço é colocado uma recompensa, e os animais devem entrar em cada um dos braços para receber a recompensa. Por isso, para conseguir receber todas as recompensas em menos tempo, os animais não devem entrar novamente no braço que já entraram, precisando utilizar a memória de trabalho para tal fim. A memória de trabalho espacial do animal é medida pela entrada de braços com recompensas antes da reentrada em braços já visitados (YOUNG et al, 2009). Vários estudos utilizaram o labirinto radial para testar memória de trabalho. Contudo, os resultados foram divergentes, dependendo do modelo animal usado. Alguns estudos usando o modelo de PCP não encontraram diferenças na memória de trabalho entre controle e modelo (LI et al, 2003; HE et al, 2006). Já em modelo genético ou em modelo de lesão, foi observado um prejuízo da memória de

trabalho nos modelos de esquizofrenia (CARBONI et al, 2004; LEVIN & CHRISTOPHER, 2006). Além das discrepâncias entre modelos, o labirinto radial também pode apresentar efeito teto, devido às poucas possibilidades que o animal tem ao entrar nos braços (YOUNG et al, 2009). Outro teste utilizado para medir memória de trabalho em roedores foi o teste de alternância espontânea, que consiste na ideia que roedores tendem a explorar um local não familiar (no caso, um labirinto em T). A alternância ocorre pela entrada nos braços do labirinto. Se o animal lembrar que já esteve naquele braço, utilizando a memória de trabalho, ele tende a procurar braços não visitados, aumentando a alternância (LALONDE, 2002). Animais modelos de esquizofrenia tendem a ter uma porcentagem de alternância menor que controles (CASTAÑE et al, 2015). Contudo, esse teste foi pouco usado diferentes modelos de esquizofrenia.

Para testar memória de longo prazo, dois são os testes mais utilizados: o teste de reconhecimento de novos objetos e o labirinto aquático de Morris. No teste de reconhecimento de novos objetos, o animal é colocado em uma caixa por 3-10 minutos, com dois objetos idênticos. Após algum tempo, o animal é colocado novamente na caixa, porém um dos objetos foi substituído por um novo objeto. Roedores geralmente passam mais tempo explorando o objeto novo que o objeto já conhecido (BEVINS & BESHEER, 2006). Vários estudos utilizando esse teste foram realizados em diferentes modelos animais de esquizofrenia (FLAGSTAD et al, 2004; NEILL et al, 2010; BASURTO et al, 2014; CASTAÑE et al, 2015). Animais tipo-esquizofrênicos não conseguem discriminar entre o objeto familiar e o objeto novo, passando tempos similares explorando os dois objetos. Um problema como teste de reconhecimento de novos objetos é que, em roedores, ele é baseado em memória de familiaridade, e não em recoleção. Já foi visto que em pacientes com esquizofrenia, há prejuízos na recoleção e não na familiaridade (VAN ERP et al, 2008). Por isso, foi proposto um novo tipo de reconhecimentos de objetos, utilizando uma dica temporal. Esse teste conseguiria reproduzir melhor a memória episódica em sim. Ele consiste em apresentar ao animal sequências de objetos idênticos (e.g. AA/BB). Após um período, o animal é testado com dois objetos já familiares, porém, um foi apresentado antes que o outro (e.g. A/B). O animal passará mais tempo explorando o objeto apresentado menos recentemente, usando a dica temporal (contexto) para tal (BUSSEY et al, 2013). Contudo, esse teste não foi utilizado

em modelos de esquizofrenia ainda. No teste do labirinto aquático de Morris, o animal deve aprender a localização de uma plataforma submersa para escapar da água (MORRIS, 1984). Animais modelos para esquizofrenia tendem a nadar uma distância maior para encontrar a plataforma submersa que controles (BROWN et al, 2012; TANYERI et al, 2015). Porém, em alguns estudos, não foram vistas diferenças entre os modelos de esquizofrenia e controles (FLAGSTAD et al, 2004; JANHUNEN et al, 2015).

Para avaliar atenção em animais tipo-esquizofrênicos, é utilizado o tempo de reação serial de cinco escolhas. Esse teste é realizado em uma câmara operante com 5 cavidades que podem ser iluminadas e uma bandeja de comida, onde será colocado a recompensa. O animal deve identificar qual das cavidades foi iluminada brevemente para receber a recompensa. O animal deve prestar atenção para identificar corretamente a cavidade. O tempo de iluminação da cavidade regula a dificuldade do teste, quando mais rápido a iluminação, mais difícil o teste será (BARI et al, 2008). Modelos animais de esquizofrenia têm prejuízos nessa tarefa. Podem apresentar maior número de omissões ou menor número de reações corretas a iluminação (LE PEN et al, 2003; HOYLE et al, 2006; FLETCHER et al, 2006; AMITAI et al, 2007). Apesar das fases de treinamento e execução serem complexas, esse teste é o mais usado para avaliar atenção em animais.

Por último, testes de resolução de problemas e tomada de decisão. Os testes mais usados para esse domínio são o *attentional set-shifting* (AST) e aprendizagem reversa. O AST é baseado no teste Wisconsin de classificação de cartas, um teste de resolução de problemas realizado em humanos. No AST, os animais são ensinados a parear uma dica específica ao reforço. Após o primeiro aprendizado, um conjunto de regras é ensinado ao animal, e ele deve usar essas regras, a cada fase do teste, para receber a recompensa. Se o animal não conseguir se adequar ao novo conjunto de regras, ele não receberá a recompensa. A cada fase do teste, as instruções ficam mais complexas (HEISLER et al, 2015). Pacientes com esquizofrenia têm performance ruim no teste Wisconsin de classificação de cartas (EVERETT et al, 2001). Assim, modelos animais de esquizofrenia devem apresentar baixo desempenho no AST (YOUNG et al, 2009). Animais modelos de esquizofrenia apresentam déficits no AST, principalmente quando as instruções se tornam mais complexas (MARQUIS et al, 2008; MCLEAN et al, 2008; GOETGHEBEUR & DIAS, 2009; GOMES et al, 2015). No teste de aprendizagem reversa,

o animal deve aprender a discriminar entre duas dicas, a primeira associada a uma recompensa e a outra não. Assim eu o animal aprende a associação, ocorre a reversão das dicas: a que dava a recompensa passa a não dar, e a que não dava a recompensa passa a dar. Erros persistentes, repetições não-intencionais da mesma resposta ou inapropriados ao contexto são contabilizados para determinar prejuízos na função cognitiva. Várias metodologias foram modificadas para testar aprendizagem reversa, como o labirinto aquático de Morris, o labirinto em T e o labirinto em Y (BISSONETTE & POWELL, 2012). Em alguns estudos, os animais modelos apresentaram déficits nesse teste (IDRIS et al, 2009; MOORE et al, 2012). Porém, outros estudos não encontraram prejuízos utilizando outros tipos de modelos de esquizofrenia (PLACEK et al, 2013; CASTAÑE et al, 2015). Dois desses estudos divergentes utilizaram o mesmo modelo animal. Devido às discrepâncias de resultados, o teste de aprendizagem reversa pode não ser o melhor teste a ser escolhido para testar resolução de problema, sendo o AST o teste de melhor escolha.

3.2 TESTES NEUROQUÍMICOS E DE MORFOLOGIA

Uma das análises neuroquímicas mais utilizadas é a dosagem de monoaminas (dopamina, noradrenalina e serotonina). Essa dosagem é feita por cromatografia líquida de alta performance acoplado a um detector (HPLC, do inglês). A dosagem é realizada em várias regiões diferentes do encéfalo do animal, como o córtex pré-frontal, o hipocampo e o núcleo accumbens (BITANHIRWE et al, 2010; BROWN et al, 2012; CASTAÑE et al, 2015). Metabólitos de monoaminas, como DOPAC, HVA e 5-HIAA, também são quantificados, utilizando HPLC (BITANHIRWE et al, 2010; BROWN et al, 2012). Além de monoaminas, aminoácidos também são quantificados, sendo GABA e glutamato os principais (BITANHIRWE et al, 2010; O'TAUGHTAIGH et al, 2010). As dosagens de neurotransmissores podem ser realizadas *in vivo*, utilizando técnicas de microdiálise, que pode ocorrer nas regiões de interesse (CASTAÑE et al, 2015); ou em análises *post mortem*, nas quais as regiões de interesse são dissecadas e seccionadas para posterior análise (BITANHIRWE et al, 2010; BROWN et al, 2012; O'TAUGHTAIGH et al, 2010). Pacientes com esquizofrenia apresentam disfunção na transmissão de vários neurotransmissores, principalmente na transmissão da dopamina, do GABA e do

glutamato. Ocorre aumento na transmissão dopaminérgica no mesencéfalo e diminuição da transmissão no córtex (HOWES et al, 2017) e diminuição da transmissão glutamatérgica e GABAérgica no córtex (JAVITT, 2010; LEWIS et al, 2005). Portanto, a dosagem de neurotransmissores é importante para verificar se o modelo está apresentando transmissões similares ao que é visto em humanos. Nos modelos, a maioria das análises foram feitas no córtex pré-frontal medial dos animais. Dependendo do modelo utilizado, foi visto aumento (BROWN et al, 2012) ou diminuição (BITANHIRWE et al, 2010; O'TAUTHAIGH et al, 2010; CASTAÑE et al, 2015) nos níveis de dopamina nessa região. Com relação a outros neurotransmissores, não foi visto nesses estudos nenhuma diferença significativa, com exceção de GABA e glutamato. Foi observado a diminuição de GABA e aumento de glutamato no córtex pré-frontal medial (BROWN et al, 2012). Uma boa correlação entre quantidade de neurotransmissores em humanos e em animais aumenta a possível validade de constructo do modelo.

Hibridização *in situ* é utilizada para analisar expressão de genes de interesse. Nesse teste, uma sonda complementar identifica o RNAm do gene de interesse em um certo tecido (JIN e LLOYD, 1997). Vários genes relacionados com a esquizofrenia podem ser analisados utilizando essa técnica, em diferentes áreas do encéfalo, também envolvidas com o desenvolvimento da esquizofrenia (SIMPSON et al, 2011; URIGUEN et al, 2013; CASTAÑE et al, 2015). Além da hibridização, a técnica de imuno-histoquímica também pode ser utilizada para avaliar expressão gênica. Porém, esse teste utiliza anticorpos para identificar antígenos em determinado tecido. O antígeno é a proteína de interesse (RAMOS-VARA e MILLER, 2014). Essa técnica é utilizada na avaliação da expressão de proteínas importantes na esquizofrenia, para verificar viabilidade celular, por meio proteínas marcadoras ou para estimar densidade neuronal (ZHU et al, 2014; CASTAÑE et al, 2015; JENKINS et al, 2010; LIAURY et al, 2014). A escolha de qual teste utilizar vai depender da quantidade de material para análise e da disponibilidade de sondas e/ou anticorpos para determinado gene/proteína. Além disso, é interessante utilizar essas técnicas para estudar aspectos mais moleculares da esquizofrenia, como o papel de receptores na patologia.

Com relação à morfologia, densidade e morfologia dendrítica, espessura cortical e tamanho dos ventrículos podem ser determinadas por meio de microscopia (HAJSZAN

et al, 2006; LI et al, 2007; MOORE et al, 2006; CASTELLANO et al, 2013; KROCHER et al, 2013; FOOTE et al, 2015). Microscopia confocal e microscopia eletrônica podem ser utilizadas para essa análise. *Softwares* de análise são empregados para calcular o número de a densidade dendrítica, assim como espessura cortical. O volume de substância cinzenta, total ou de regiões específicas, do encéfalo de roedores pode ser determinada utilizando a técnica de ressonância magnética por imagem (RMI). Estudos utilizaram dessa técnica para fazer análises de volume (O'TUATHAIGH et al, 2010; BROBERG et al, 2013; URIGUEM et al, 2013). A eletrofisiologia de determinada região também é utilizada em modelos de esquizofrenia. Essa medição é feita através do implante de microeletrodos na região desejada, quando feita *in vivo* (GOMES et al, 2015). Estudos *post mortem* também podem ser feitos. Para tal, é preciso colocar a região a ser analisada em uma solução salina e nutritiva (PAPALEO et al, 2016). A análise dos sinais gerados também é feita do *software*. A análise de morfologia e volume do encéfalo do animal é importante para identificar se ocorrem as mesmas mudanças estruturais no modelo e no humano, fortalecendo assim o modelo proposto ou os resultados obtidos no estudo. Em humanos, foi observado que ocorre o alargamento dos ventrículos, diminuição do volume hipocampal e do córtex pré-frontal, além de alterações no número de espinhas dendríticas (VITA et al, 2012; OKADA et al, 2016). Essas alterações podem ser observadas nos modelos de esquizofrenia, principalmente alterações no volume do córtex pré-frontal, redução de espinhas dendríticas e alargamento dos ventrículos (HAJSZAN et al, 2006; KROCHER et al, 2013; URIGUEM et al, 2013; FOOTE et al, 2015).

3.3 EFEITO DE ANTIPSICÓTICOS NOS TESTES

Os testes comportamentais são utilizados para avaliar a validade de face do modelo, ou seja, a sintomatologia da esquizofrenia. Uma maneira de avaliar esse aspecto nos testes utilizados é observando a reversão dos sintomas pelo uso de antipsicóticos. Os sintomas positivos são melhorados pelo uso de antipsicóticos de primeira e de segunda geração (BRUIJNZEEL et al, 2014). Porém, sintomas negativos e cognitivos não são revertidos pelo uso de antipsicóticos de primeira geração e são parcialmente revertidos pelo uso de antipsicóticos de segunda geração (ERHART et al, 2006; KEEFE

et al, 2007). Em animais, os testes devem apresentar o mesmo padrão de reversão para que tenham boa validade preditiva e sejam considerados bons modelos para estudar esquizofrenia.

Os testes de sintomas positivos, hiperlocomoção, IPP e estereotipia, podem ser revertidos com ambos os tratamentos padrão da esquizofrenia. Em diferentes modelos de indução, o uso de haloperidol, um antipsicótico de primeira geração, conseguiu reverter a hiperlocomoção observada nos animais (SAMS-DODD, 1998; CALZAVARA et al, 2011; NAGAI et al, 2011; FOOTE et al, 2015; WANG et al, 2015a). Também foi observado a reversão da hiperlocomoção em estudos que utilizam clozapina e antipsicóticos de segunda geração, como risperidona, quetiapina (SAMS-DODD et al, 1997; SAMS-DODD, 1998; CALZAVARA et al, 2011; NAGAI et al, 2011; CASTELLANO et al, 2013; FOOTE et al, 2015; WANG et al, 2015a). Com relação a IPP, o uso de haloperidol também foi capaz de reverter os déficits (WANG et al, 2015a). Haloperidol também foi capaz de reverter a estereotipia nos modelos de esquizofrenia (SAMS-DODD, 1998; WANG et al, 2015a). O uso de clozapina também reverte déficits na IPP e comportamento estereotipado (SAMS-DODD, 1998; WANG et al, 2015a).

Com relação aos sintomas negativos, o haloperidol não foi capaz de reverter os déficits em nenhum dos testes utilizados, principalmente no teste de interação social (SAMS-DODD, 1998; CALZAVARA et al, 2011; NAGAI et al, 2011). Porém, com antipsicóticos de segunda geração e clozapina, os resultados são discrepantes. Em alguns estudos, esses fármacos foram capazes de reverter o déficit social (SAMS-DODD, 1998; CALZAVARA et al, 2011). Contudo, também foi observado o contrário, que esses antipsicóticos não revertem o comportamento de reduzida interação social (SAMS-DODD et al, 1997; NAGAI et al, 2011). Esses estudos utilizaram modelos de indução diferentes uns dos outros; portanto, as diferenças encontradas podem estar relacionadas aos modelos, não necessariamente ao teste. Não foram encontradas informações de reversão por antipsicóticos de outros testes utilizados para avaliar sintomas negativos, como o teste de preferência de sacarose e o esquema de reforço, utilizados, respectivamente, para anedonia e avolição.

Antipsicóticos de primeira geração também não conseguiram reverter os déficits cognitivos presentes nos modelos de esquizofrenia. Haloperidol não foi capaz de reverter

déficits cognitivos nos testes de tempo de reação serial de 5 escolhas, AST e reconhecimento de novos objetos (AMITAI et al, 2007; GRAYSON et al, 2007; GOETGHEBEUR et al, 2011; NAGAI et al, 2011; WANG et al, 2015a). No teste de tempo de reação serial de 5 escolhas, antipsicóticos de segunda geração (quetiapina, risperidona e olanzapina) não revertem os déficits observados no modelo. Clozapina reverteu parcialmente, quando administrada cronicamente (AMITAI et al, 2007). Para o AST, foi visto que alguns antipsicóticos de segunda geração revertem os sintomas, porém outros não conseguem reverter (GOETGHEBEUR et al, 2008). O uso de clozapina e risperidona revertem os déficits observados no teste de reconhecimento de objetos (GRAYSON et al, 2007; NAGAI et al, 2011; WANG et al, 2015a). No labirinto aquático de Morris, também usado para avaliar memória de longo prazo, antipsicóticos de segunda geração também conseguiram melhorar a performance dos modelos (TANYERI et al, 2015). No teste do labirinto radial, foi observado que a quetiapina é capaz de reverter a performance (HE et al, 2006). Porém, também foi observado que a clozapina aumenta os déficits de memória (LEVIN et al, 2006). Reversão da aprendizagem reversa também foi vista em animais tratados com sertindol (IDRIS et al, 2009). Antipsicóticos de segunda geração apresentam baixa eficácia para tratar déficits cognitivos em pacientes com esquizofrenia. Por isso, a reversão em vários testes cognitivos em modelo animal diminui a validade preditiva dos modelos e dos testes.

Estudos utilizando possíveis novos tratamentos também foram realizados com os mesmos testes. O uso de glicinamida, um pró-fármaco da glicina, conseguiu reverter a hiperlocomoção e déficits no teste de reconhecimento de novos objetos nos animais tipo-esquizofrênicos (BASURTO et al, 2014). Brexpiprazol, uma agonista parcial de dopamina e serotonina, também foi capaz de reverter déficits cognitivos nos testes de reconhecimento de novos objetos e AST (MAEDA et al, 2014). A minociclina, antibiótico com ação neuroprotetora promissora, foi capaz de reverter déficits de IPP, melhorar a interação social dos animais e reduzir déficits no teste de reconhecimento de objetos (LIAURY et al, 2014; ZHU et al, 2014). A minociclina está sendo utilizada na clínica e, junto com o tratamento com antipsicóticos, conseguiu melhorar sintomas negativos; contudo, apenas fracos efeitos foram observados para os sintomas cognitivos (LIU et al, 2014; SOLMI et al, 2017). Os antipsicóticos utilizados amplamente hoje na clínica são

pouco eficientes para tratar sintomas negativos. Por isso, novos fármacos, que tenham outros alvos farmacológicos que não os receptores de dopamina, devem ser desenvolvidos que consigam reverter esses sintomas, para melhor qualidade de vida dos pacientes.

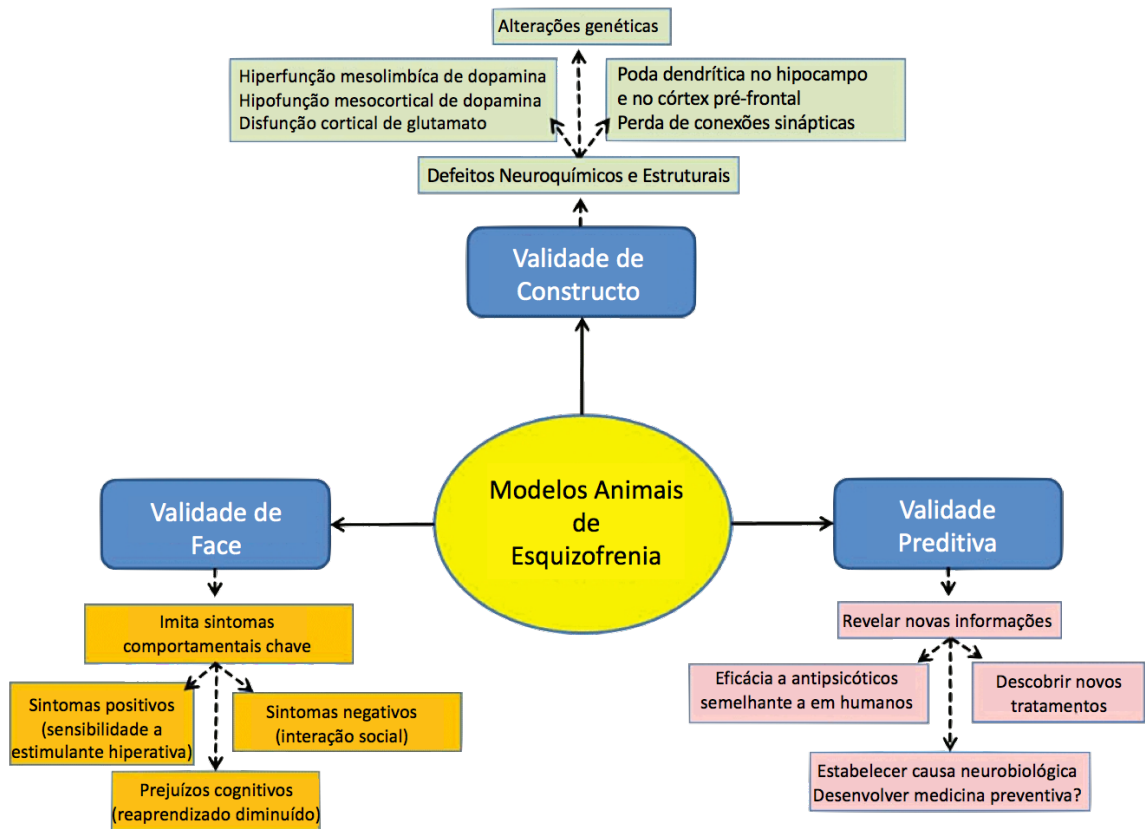
4 MODELOS ANIMAIS EXISTENTES PARA ESQUIZOFRENIA

Modelos animais são importantes para o estudo da patofisiologia de doenças e também em ensaios para o desenvolvimento de novos fármacos. Um modelo animal ideal deve replicar o máximo possível o fenótipo da doença que se quer estudar e também os mecanismos pelos quais a doença é causada. Porém, há doenças, como a esquizofrenia, nas quais os mecanismos subjacentes não estão elucidados. Por isso, modelos animais são utilizados para melhor entender esses mecanismos (MCGONIGLE e RUGGERI, 2014). Além disso, os modelos animais, para serem considerados confiáveis, devem atender alguns critérios, que são chamados de validades. Posposta por Willner, existem três validades que devem ser consideradas quando um novo modelo animal é desenvolvido: a validade de constructo, a validade de face e a validade preditiva (WILLNER, 1984).

A validade de constructo avalia se o modelo animal de fato modela o transtorno, incluindo aspectos biológicos e etiologia similares ao humano. A validade de face avalia se os sintomas presentes no humano também estão presentes no modelo. Já a validade preditiva farmacológica avalia o efeito do tratamento no modelo, que deve ter resposta similar para a condição clínica estudada (WILLNER, 1984; MCGONIGLE e RUGGERI, 2014). Outros tipos de validade já foram propostos também, porém, são baseadas nessas três principais e a maioria dos estudos usam essas três para validar seus modelos (BELZUNG e LEMOINE, 2011; JONES et al, 2011). Para a esquizofrenia, essas três validades também são as mais avaliadas no desenvolvimento de modelos animais (FIGURA 3; JONES et al, 2011). Com relação à validade de constructo, é importante analisar as mudanças neuroquímicas e morfológicas que ocorrem na esquizofrenia, como aumento de dopamina no mesencéfalo, aumento dos ventrículos e diminuição de espinhas dendríticas nos neurônios. Para a validade de face, o modelo animal deve apresentar sintomas positivos, negativos e cognitivos, similar aos pacientes com

esquizofrenia. Para a validade preditiva, a reversão por antipsicóticos deve ser similar ao que ocorre em humanos, ou seja, antipsicóticos típicos devem apenas reverter sintomas positivos e antipsicóticos atípicos devem ser eficazes para sintomas positivos e reverter minimamente sintomas negativos e cognitivos.

FIGURA 4 – ESQUEMATIZAÇÃO PARA AVALIAÇÃO DAS VALIDADES DE MODELOS ANIMAIS DE ESQUIZOFRENIA



FONTE: Adaptados de JONES et al, 2011

Os primeiros modelos animais de esquizofrenia se baseavam na teoria dopaminérgica, e, com o avanço no entendimento da patofisiologia, novos modelos foram surgindo. Porém, a maioria dos modelos existentes só conseguem reproduzir os sintomas positivos da esquizofrenia, dificultando o entendimento e o desenvolvimento de possíveis tratamentos para os sintomas negativos e cognitivos, tornando necessário o desenvolvimento de novos modelos animais (JONES et al, 2011). Alguns modelos utilizados para modelar esquizofrenia em roedores serão discutidos a seguir.

4.1 NEURODESENVOLVIMENTO

Os modelos de neurodesenvolvimento levam em consideração a hipótese do neurodesenvolvimento, explicada anteriormente. Ao utilizar esses modelos, é importante considerar o período certo de indução para que os efeitos possam ser observados (RAPOPORT et al, 2012).

Agentes antimitóticos, como MAM e AraC, são utilizados para modelar em animais problemas no neurodesenvolvimento (CATTANEO et al, 1995; BROWN et al, 2012). A administração desses agentes durante a gestação pode levar ao aparecimento de sintomas parecidos com a esquizofrenia. O dia gestacional no qual a substância é utilizada é essencial, pois a administração adiantada pode causar efeitos muito severos no neurodesenvolvimento, não compatíveis com a esquizofrenia. Ratas Sprague-Dawley que receberam AraC durante os dias 19 e 20 de gestação apresentaram uma diminuição de células e diminuição da plasticidade no hipocampo, aumento do nível de dopamina cortical e problemas cognitivos (BROWN et al, 2012). O uso de MAM no dia gestacional 17 também pode causar sintomas similares ao da esquizofrenia. Ratos tratados com MAM apresentaram hiperlocomoção, redução na inibição pré-pulso (IPP), que é a redução de uma resposta de sobressalto a um estímulo forte quando precedido de um estímulo pré-pulso de menor intensidade, resposta que está também diminuída em pacientes com esquizofrenia e problemas cognitivos (LODGE e GRACE, 2009; MOORE et al, 2012). Alterações na morfologia de áreas importantes na esquizofrenia, assim como diminuição da densidade neuronal (MOORE et al, 2012). Não foram encontrados estudos de reversão farmacológica desses sintomas, não podendo afirmar se esse modelo tem boa validade preditiva. Além disso, sintomas negativos não são bem modelados nesse modelo, diminuindo sua validade de face.

O isolamento social de animais após o desmame também pode desencadear sintomas semelhantes ao da esquizofrenia. Privar ratos recém-nascidos de interação social com outros ratos pode alterar o desenvolvimento neural e causar prejuízos quando adulto. Isolamento social pós-desmame induz hiperlocomoção, problemas de IPP e prejuízos cognitivos (FONE e PORKESS, 2008; MCLEAN et al, 2008; MOSER, 2014). Já

sintomas negativos não são bem representados nesse modelo, apresentado resultados controversos para a interação social (MOSER et al, 2014). A IPP tem boa validade preditiva para antipsicóticos que reduzem sintomas positivos, e possíveis novos tratamentos também reverteram os prejuízos no reconhecimento de objetos (FONE e PORKESS, 2008). Nesse modelo, também ocorre redução no volume do córtex pré-frontal e diminuição da plasticidade no hipocampo e no córtex pré-frontal. Também há aumento de dopamina no núcleo accumbens, aumentando a validade de constructo desse modelo (FONE e PORKESS, 2008).

A ativação imune materna também é utilizada como modelo de esquizofrenia em roedores. Estudos utilizando Poly-I:C, um composto que mimetiza infecção viral, encontraram que a administração desse composto durante a gestação produz sintomas similares aos vistos na esquizofrenia. Com relação aos sintomas positivos, foi visto que a ativação imune causa hiperlocomoção, estereotipia e problemas na IPP em camundongos e ratos (OZAWA et al, 2006; BITANHIRWE et al, 2010a; HADAR et al, 2015). Também foi observado diminuição da interação social entre os animais e anedonia, usados para testar sintomas negativos (BITANHIRWE et al, 2010a; MOSER et al, 2014). Sintomas cognitivos foram representados utilizando essa forma de indução (OZAWA et al, 2006; BITANHIRWE et al, 2010b). Também, foi visto que os sintomas cognitivos foram revertidos pelo uso de clozapina, mas não pelo uso de antipsicóticos típicos (OZAWA et al, 2006). Esse modelo apresenta boa validade de face, porém ainda faltam estudos para avaliar suas validades de constructo e preditiva.

O uso de modelos que envolvem o neurodesenvolvimento são bastante utilizados para estudar esquizofrenia, principalmente o MAM. Além disso, esses modelos apresentam boa validade de constructo e de face, apesar da validade preditiva ainda precisar ser melhor avaliada. Além disso, esses modelos suportam a teoria do neurodesenvolvimento da esquizofrenia. Melhorar esses modelos que já são utilizados pode ser uma solução para o desenvolvimento de modelos mais parecidos com as características da esquizofrenia.

4.2 LESÕES

O modelo de lesão mais utilizado é o de lesão hipocampal neonatal. Essa lesão pode ser causada no animal por dois métodos: pela aplicação de uma injeção local de excitotoxina ou por lesão mecânica (LIPSKA et al, 1993; YANAGI et al, 2011). Animais lesionados apresentam hiperresponsividade a estímulos que aumentam a liberação de dopamina, como a anfetamina, o que pode ser revertido com o uso de antipsicóticos (TSENG et al, 2009). Esse modelo também apresentou aumento da locomoção e déficits de IPP (CASTELLANO et al, 2013; ZHU et al, 2014). Diminuição da interação social também foi observada em ratos com lesão (SAMS-DODD et al, 1997; ZHU et al, 2014). Ainda, esses animais apresentaram problemas em tarefas que exigem memória espacial, como o labirinto aquático de Morris (TSENG et al, 2009). Outros déficits cognitivos também foram observados (MARQUIS et al, 2008; PLACEK et al, 2013; CASTELLANO et al, 2014). Neuroquimicamente, animais adultos lesionados após o nascimento apresentam alterações na interação dopamina-glutamato no córtex pré-frontal (TSENG et al, 2009). Também ocorre a diminuição de espinhas dendríticas no córtex pré-frontal, evidenciando que a comunicação entre o hipocampo e o córtex pré-frontal é importante na patologia da esquizofrenia (MARQUIS et al, 2008). Ainda, ocorre o aumento da expressão de receptores NMDA e também maior responsividade a esses receptores (YANAGI et al, 2011). Esse aspecto diminui a validade de constructo do modelo, pois acredita-se que ocorra hipofunção do receptor NMDA na esquizofrenia. Além disso, pacientes com o transtorno não apresentam lesão hipocampal, apesar de haver alterações na sua morfologia, o que também questiona a validade do modelo. (YANAGI et al, 2011).

Estudos analisando a reversão desses efeitos por antipsicóticos também foram realizados. Risperidona, um antipsicótico atípico, conseguiu reverter a hiperlocomoção nos animais, porém, nenhum efeito foi visto nos déficits cognitivos (CASTELLANO et al, 2013). Clozapina também foi utilizada e foi eficiente em reverter hiperlocomoção, contudo, não foi eficiente em reverter déficits cognitivos e de interação social (SAMS-DODD et al, 1997; LEVIN et al, 2006).

O modelo de lesão do hipocampo apresenta boa validade de face para sintomas cognitivos e boa validade preditiva. Contudo, sua validade de constructo deve ser analisada com cuidado. Ainda, o hipocampo é importante para realização de tarefas

cognitivas (EICHENBAUM, 2004), e os déficits causados pela lesão são esperados, porém, podem não ser representativos do transtorno. Além disso, outras regiões do encéfalo poderiam ser consideradas em modelos de lesão, como o córtex pré-frontal e o estriado ventral.

4.3 FARMACOLÓGICOS

A anfetamina é uma droga de abuso que tem como mecanismo de ação o aumento da liberação de dopamina e também inibe a receptação de dopamina, aumentando, assim, a concentração desse neurotransmissor na fenda sináptica (CALIPARI e FERRIS, 2013). Por causa de seu mecanismo de ação, a sensitização de animais por anfetamina é utilizada como modelo de esquizofrenia. Esse modelo reproduz sintomas positivos, como aumento da atividade locomotora, estereotipia e redução na PPI. Com relação aos sintomas cognitivos, animais tratados com anfetamina apresentaram déficits em tarefas que exigiam manutenção e mudança de foco (FEATHERSTONE et al, 2007). Porém, esse modelo só replica bem sintomas positivos, deixando de fora os sintomas cognitivos e negativos (JONES et al, 2011). Ainda, esse modelo é interessante para o desenvolvimento de novos tratamentos para sintomas positivos, mas não seria um bom modelo para o estudo da patofisiologia da doença (YANAGI et al, 2011).

Outro agonista de dopamina utilizado para induzir modelos animais de esquizofrenia é a apomorfina. Ratos Wistar podem apresentar maior sensibilidade à administração de apomorfina. Esses animais, quando tratados com apomorfina, apresentam uma forte resposta no comportamento de roer e ocorre redução na PPI. Nesses animais, também é observado alterações estruturais no hipocampo e há alteração na transmissão dopaminérgica. Também ocorre diminuição na preferência por sacarose, o que representaria sintomas negativos (ELLENBROEK e COOLS, 2002).

A fenciclidina (PCP), MK-801 e quetamina são antagonistas não-competitivos do receptor NMDA do glutamato, e o uso dessas substâncias por humanos causa sintomas tipo esquizofrênicos. Essas substâncias também são usadas em animais para modelar esquizofrenia e são muito efetivas para representar sintomas cognitivos em vários domínios, como memória de trabalho, memória de longo prazo, atenção e tomada de decisão (HE et al, 2006; AMITAI et al, 2007; GRAYSON et al, 2007; GOETGHEBEUR et

al, 2008; IDRIS et al, 2009; BASURTO et al, 2014; CASTAÑÉ et al, 2015; TANYERI et al, 2015). Hiperlocomoção também é observada em ratos tratados com antagonistas NMDA (BASURTO et al, 2014; CASTAÑÉ et al, 2015). Com relação aos sintomas negativos, ainda há resultados controversos. Anedonia foi observada em animais tratados com PCP cronicamente em um estudo (BAIRD et al, 2008), porém, em outro, esse sintoma não foi observado (JENKINS et al, 2010). Analisando os aspectos neuroquímicos e a morfológicos, foi visto diminuição de dopamina e diminuição de espinhas dendríticas córtex pré-frontal e diminuição de interneurônios no hipocampo (CASTAÑÉ et al, 2015; HAJSZAN et al, 2006; JENKINS et al, 2010). Muitos dos estudos feitos conseguiram observar reversão farmacológica de sintomas negativos utilizando antipsicóticos atípicos, porém típicos não foram capazes de reverter (HE et al, 2006; GRAYSON et al, 2007; GOETGHEBEUR et al, 2008; IDRIS et al, 2008; TANYERI et al, 2015). Porém, foi visto também não-reversão utilizando antipsicóticos atípicos (AMITAI et al, 2007). A validade preditiva desse modelo é controversa, pois antipsicóticos, mesmo os atípicos, não são tão efetivos na reversão de sintomas cognitivos. Já a validade de face para sintomas cognitivos está bem fundamentada.

Os modelos farmacológicos, principalmente os de antagonistas do receptor NMDA, são bastante utilizados em pesquisas, principalmente por representarem bem sintomas cognitivos, como mencionado anteriormente. Porém, sintomas negativos não são muito bem representados por esse modelo, havendo, então, a necessidade de encontrar outras alternativas para modelá-los.

4.4 GENÉTICOS

Muitos modelos genéticos foram propostos utilizando diferentes tipos de genes, como *BDNF*, *COMT*, dentre outros genes que já foram envolvidos na esquizofrenia (HOYLE et al, 2006; JONES et al, 2011; YANAGI et al, 2011). Nessa revisão, alguns dos modelos mais utilizados e mencionados serão discutidos.

Camundongos com mutação no gene *NRG1* apresentam comportamentos semelhantes ao da esquizofrenia. Animais heterozigotos para esse gene tiveram prejuízos no reconhecimento de novos objetos e também em condicionamento aversivo. Porém, em outras tarefas cognitivas, como no teste de esQUIVA passiva, não houve

prejuízos. Assim, esse modelo demonstra uma fraca validade de face para sintomas cognitivos. Também apresentaram hiperlocomoção e isolamento social (DUFFY et al, 2010). Entretanto, a validade de constructo de modelo ainda é questionável, pois o *NRG1* é tido como hiperfuncional na esquizofrenia (HARRISON e LAW, 2006). Além disso, em estudos mais recentes, utilizando GWAS, não foi encontrada associação entre o *NRG1* e esquizofrenia (MOSTAID et al, 2016). Por isso, é necessário revisar o modelo e também estudar outras maneiras para encontrar associação entre esse gene e a esquizofrenia.

Animais transgênicos para o gene *DISC1* apresentam alterações estruturais e de comportamento semelhante a pacientes com esquizofrenia. Foi observado nesses animais alargamento dos ventrículos e redução no volume encefálico. Também houve redução na complexidade dendrítica e diminuição de interneurônios no córtex pré-frontal. Déficits na PPI, problemas em memória espacial e hiperlocomoção foram observados em animais mutantes para *DISC1*. Menor consumo de sacarose no teste de preferência de sacarose também foi observado, porém nem todos os tipos de indução da mutação apresentaram esse comportamento (JAARO-PELED, 2009). Contudo, assim como o *NRG1*, o *DISC1* também não foi associado à esquizofrenia em GWAS (FARRELL et al, 2015), o que questiona o real papel desse gene na patofisiologia da esquizofrenia.

Com relação ao gene *DTNBP*, uma espécie de camundongo, conhecida como sandy, tem deleção natural do gene *DTNBP1*, sendo, então, usada como modelo genético de esquizofrenia. Nesses camundongos, já foi observado que ocorre uma desregulação nas transmissões dopaminérgica, glutamatérgica e GABAérgica, assim como acontece na esquizofrenia. Também foram observados problemas na interação social, na memória de longo prazo, na memória de trabalho e no reconhecimento de novos objetos. Também apresentaram déficits na IPP (YANAGI et al, 2011). Essa gama de comportamentos e mudanças neuroquímicas observados aumentam a confiabilidade desse modelo para as validades de face e constructo. Apesar de não terem sido encontradas associações em GWAS para esse gene (FARRELL et al, 2015), foi visto que ocorre hipermetilação em variantes do gene (MILL et al, 2008), evidenciando, assim, o papel desse gene na esquizofrenia.

Os modelos genéticos utilizados para estudar esquizofrenia são efetivos, com boas validades de face e certa validade de constructo. Porém, o papel desses genes

ainda não está bem elucidado e ainda é controverso se há ou não relação com a esquizofrenia. Outros genes que já foram associados à esquizofrenia, envolvidos na transmissão glutamatérgica, serotoninérgica ou na resposta imune podem ser considerados como alvos de modelos animais genéticos da esquizofrenia.

5 PROPOSTAS DOS NOVOS MODELOS

5.1 MODELO DE NEURODESENVOLVIMENTO SEGUIDO DE TRAUMA

5.1.1 Introdução

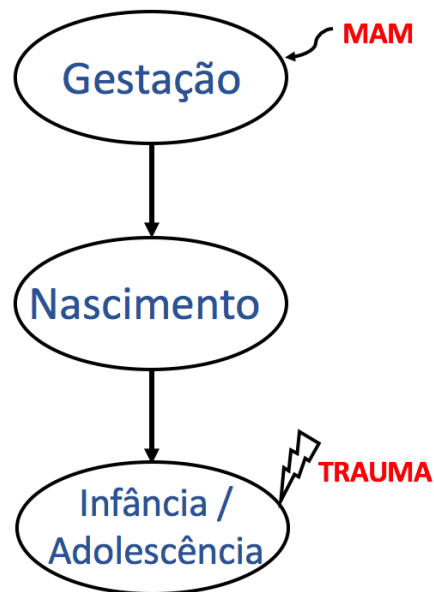
Levando em consideração a *2-hit hypothesis* (ver FIGURA 2), mudanças no neurodesenvolvimento, durante a gestação, podem ser o primeiro fator para o desenvolvimento da esquizofrenia. Após o nascimento, durante a infância e início da adolescência, um gatilho ambiental desencadearia o aparecimento de sintomas e levaria, por fim, ao desenvolvimento da doença (PINO et al, 2014). Eventos traumáticos seriam um tipo de fator ambiental gatilho para a esquizofrenia. Segundo essa hipótese, os pacientes que sofreram abusos na infância teriam também, na gestação, sofrido fatores que impactariam no neurodesenvolvimento.

Sendo assim, o modelo proposto nesse trabalho segue a linha dessa hipótese. MAM, um agente antimitótico, quando usado durante a gestação, inibe a proliferação celular, causando problemas no neurodesenvolvimento. Ele será administrado no dia gestacional 17, pois nesse dia é que se tem resultados semelhantes ao da esquizofrenia (LODGE e GRACE, 2009). Durante a infância do animal, ele será submetido a trauma pelo paradigma da derrota social. Esse paradigma representa um estresse social, e os eventos traumáticos sofridos pelos pacientes de esquizofrenia é têm caráter psicossocial, não físico (FIGURA 5). Além disso, fatores de risco da esquizofrenia, como migração e fatores socioeconômicos, podem conferir uma derrota social, pois o indivíduo se sente submetido ou subordinado a outro indivíduo (SELTEN et al, 2016).

Como descrito anteriormente, já foi visto que modelos animais que usaram MAM representam bem sintomas positivos e negativos da esquizofrenia, além de alterações neuroquímicas e morfológicas. Porém, sintomas negativos não são representados por

esse modelo. Já trauma foi associado ao aparecimento de sintomas negativos. O que se espera é que a junção desses fatores consiga representar toda a range de sintomas presentes na esquizofrenia e também alterações morfológicas e neuroquímicas.

FIGURA 5 – FLUXOGRAMA DE EVENTOS PARA A INDUÇÃO DO MODELO ANIMAL DE NEURODESENVOLVIMENTO SEGUIDO DE TRAUMA



5.1.2 Metodologia

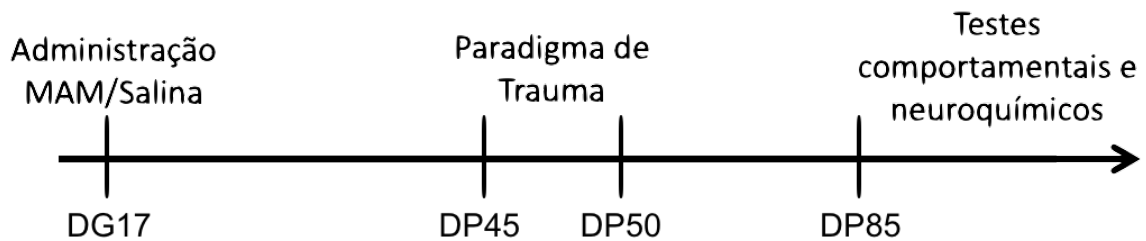
5.1.2.1 Animais

Todos os protocolos serão submetidos ao Comitê de Ética da Universidade Federal do Paraná para aprovação. Fêmeas de ratos Wistar serão engaioladas com machos para a procriação. Secreções vaginais com espermatozoides serão utilizados para caracterizar o primeiro dia de gestação (DG1). Após a confirmação da gestação, as fêmeas grávidas serão alojadas em gaiolas, mantidas a temperatura ambiente, com ciclos de luz 12h/12h e terão água e comida livres.

No DG17, fêmeas grávidas receberão 22 mg/kg de MAM ou salina i.p., seguindo protocolos já utilizados (FLAGSTAD et al, 2004; MOORE et al, 2012). No DP21, os

filhotes serão desmamados e os machos serão agrupados em gaiolas. Entre os DP45 e DP60, os animais de ambos os grupos poderão ou não receber o protocolo de trauma. Após o DP85, os animais passarão pelos testes comportamentais e análises neuroquímicas e morfológicas (FIGURA 6).

FIGURA 6 – REPRESENTAÇÃO CRONOLÓGICA DO DESENHO EXPERIMENTAL



5.1.2.2 Paradigma da Derrota Social

Os animais que receberão trauma serão retirados de suas gaiolas e colocados na gaiola de um outro rato maior que eles. Os ratos residentes serão testados previamente para comportamento dominante usando o paradigma residente-intruso (VIDAL et al, 2011), com outros ratos que não estão participando do protocolo principal. Cada residente será pareado com uma fêmea não-fértil uma semana antes do teste e removidas no começo de cada teste. Os animais experimentais serão estressados 5 vezes durante o período de DP45 e DP50. Os animais que receberão o estresse serão colocados em contato direto com o animal residente e será considerado derrotado assim que tiver apresentado 3 respostas consecutivas de submissão ao residente. Após esse período, os animais experimentais serão colocados por 35 minutos em uma barreira que impede o contato físico com o residente, porém mantém as dicas de olfato e auditórias entre os animais. Os animais que não receberão o procedimento serão colocados nas mesmas condições e pelo mesmo período de tempo, porém sem a presença do residente.

5.1.2.3 Teste de Locomoção

Os animais serão colocados em campo aberto durante 10 minutos e a locomoção será monitorada para posterior análise. A distância percorrida (em cm) será gravada por sistema computadorizado.

5.1.2.4 Teste de IPP

Os ratos serão colocados em câmaras de sobressalto e passarão por habituação na câmara com som de fundo de 65 dB por 5 minutos. O limiar de sobressalto será avaliado, com sons de 70 a 105 dB, de 20 ms cada, com acréscimo de 5 db em cada teste. Após a habituação, o protocolo de inibição pré-pulso será aplicado. Os intensidades pré-pulsos utilizadas serão de 75 e 85 dB por 4 ms de duração, seguidas após 30 ms de um pulso de 105dB. Cada teste será separado por 20 s. A %IPP será calculada utilizando a fórmula já apresentada anteriormente.

5.1.2.5 Teste de Interação Social

O teste de interação social será realizado em campo aberto. Animais não-familiares um com o outro que receberão o mesmo tratamento serão colocados no campo aberto e poderão interagir por 10 minutos. A interação dos animais será gravada para posterior análise. O tempo total de interação social será calculado a partir do somatório do tempo gasto cheirando e seguindo o animal e também o tempo gasto em interação passiva, como quando os animais ficarem um ao lado do outro, a no máximo 5 cm de distância.

5.1.2.6 Teste de Preferência por Sacarose

Anedonia será avaliada com o teste de preferência por sacarose. Os animais serão colocados individualmente em gaiolas que contém uma garrafa de água e uma garrafa de solução de sacarose 1%. O consumo de cada garrafa será acompanhado durante 5 dias. O volume total consumido de cada garrafa será determinado e a porcentagem de preferência por sacarose calculada ao final do teste.

5.1.2.7 Teste de Efeitos de Contrastes Sucessivos

Para avaliar a antecipação da recompensa, o teste de efeitos de contrastes sucessivos será utilizado. Para esse teste, os animais serão treinados a receber uma solução de sacarose de 32% ou 4% durante 10 dias. Após o treino, todos animais serão testados com uma solução de 4% de sacarose, por 8 dias. O consumo de ambas as soluções será avaliado. Para os animais que receberam a solução de 32% no treino, receber uma solução de 4% representa uma queda na expectativa da recompensa.

5.1.2.8 Labirinto Radial

O labirinto radial de 8 lados será utilizado para avaliar memória de trabalho. Os animais serão privados de comida antes do treino. Durante o treino, eles terão 5 minutos para explorar o labirinto, com comida espalhadas por todo o labirinto, para incentivar a exploração. Os ratos serão treinados por 7 dias. No dia do teste, o animal será colocado no centro do labirinto, com as portas que dão acesso aos braços fechadas. No final de cada braço terá uma recompensa. Todas as portas serão abertas simultaneamente e o rato escolherá um dos braços para explorar. Assim que o animal entrar em um dos braços, as portas dos outros serão fechadas. Quando o animal voltar para o centro, a porta do braço que ele estava também será fechada e o rato deverá ficar 5s confinado na região central do labirinto. Esse processo será repetido até todas as recompensas serem consumidas. O tempo gasto para completar a tarefa, quais braços o animal entrou em cada vez e se nesse braço havia comida ou não, o número de braços corretos (o braço continha comida na primeira entrada) e o número de braços incorretos (entrada no mesmo braço mais de uma vez) serão registrados para análise.

5.1.2.9 Teste de Reconhecimento de Novos Objetos com Dica Temporal

Nesse teste, o objetivo é avaliar memória episódica, devido ao contexto temporal. Primeiramente, os animais serão habituados em um campo aberto, sem nenhum objeto, por 10 minutos durante 4 dias. Depois, eles serão apresentados a um par de objetos idênticos (Objeto 1) por 5 minutos e poderão explorar livremente os objetos. Após uma

hora do final do primeiro treino, será apresentado aos animais mais dois objetos idênticos (Objeto 2), diferentes do Objeto 1, e também poderão explorar por 5 minutos. Três horas após o fim do segundo treino, um objeto de cada treino será apresentado para os animais e eles terão 3 minutos para explorar os objetos. O tempo que cada animal passou em cada objeto será determinado. As fases de treino e teste serão gravadas para posterior análise.

5.1.2.10 Teste de Aprendizagem Reversa

Os animais, que sofreram privação de comida, serão habituados em um labirinto em T, com as recompensas espalhadas pelo labirinto por 3 dias. Após a habituação, a recompensa será colocada em um dos braços do labirinto, na esquerda ou direita. Os animais serão treinados a virar para o lado da recompensa em 10 tentativas por dia, até atingirem ≥ 8 viradas certas das 10 tentativas em dois dias consecutivos. Quando atingido o critério, a recompensa será colocada no lado oposto e os animais devem aprender a nova regra. Os critérios de teste serão os mesmo que na fase de treino (FIGURA 7). O número total de tentativas feitas até o critério de parada ser atingido e o número de tentativas incorretas serão contabilizadas.

FIGURA 7 – REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DO PROTOCOLO DE APRENDIZADO REVERSO



5.1.2.11 Reversão dos testes por antipsicóticos

Será administrado aos animais de antipsicóticos típicos (haloperidol) e atípicos (clozapina e quetiapina). Haloperidol será administrado na dose de 0.5 mg/kg; clozapina na dose de 3.0 mg/kg; e quetiapina na dose 5.0 mg/kg. Os antipsicóticos serão administrados durante 10 dias e, após um dia após a administração os testes comportamentais serão realizados. O antidepressivo Citalopram na dose de 5 mg/kg também será administrado, para verificar se ocorre reversão de sintomas negativos. Ele será administrado em conjunto com os antipsicóticos.

5.1.2.12 Testes Neuroquímicos e Análise Morfológica

As análises neuroquímicas e morfológicas serão feitas *post-mortem*. Após o término dos testes, os animais serão eutanasiados e o encéfalo será imediatamente removido e congelado. Biópsias de perfuração serão feitas no córtex pré-frontal e no estriado. Essas regiões serão homogeneizadas em HClO₄, centrifugados e aliqüotados. Serão realizadas as dosagens de dopamina no hipocampo, no núcleo accumbens e no córtex pré-frontal e glutamato e GABA no córtex pré-frontal. As dosagens serão feitas através de HPLC e os picos serão analisados por *software*.

Para as análises morfológicas, será injetado transcardialmente uma solução fixadora contendo paraformaldeído em PBS. Após a remoção do encéfalo, este ficará *overnight* nessa mesma solução fixadora, e então o encéfalo será seccionado. As secções serão coradas pela coloração de Golgi para a determinação da complexidade dendrítica e a densidade de espinhas dendríticas no hipocampo. Primeiramente, neurônios com morfologia atípica serão encontrados. Após, em alguns desses neurônios, será realizada a contagem de espinhas dendrítica e o comprimento do dendrito analisado. A densidade de espinhas será calculada pela fórmula: $[(\text{Espinhas}/\text{Comprimento}) \times 10]$ (FOOTE et al, 2015).

5.1.3 Resultados esperados

No teste de locomoção, é esperado que os animais que do grupo MAM+trauma apresentem maior locomoção que os grupos salina+controle e salina+trauma. A diferença

entre MAM+trauma e MAM+controle pode não ser vista na hiperlocomoção, pois hiperlocomoção é vista em modelos que utilizaram apenas MAM (LODGE e GRACE, 2009; MOORE et al, 2012). Porém, já foi visto que traumas em humanos está associado ao aparecimento de sintomas positivos (JANSSEN et al, 2004), podendo, então, ocorrer uma diferença entre esses dois grupos. Para IPP, espera-se que o grupo MAM-trauma apresente menor IPP que os outros grupos. O trauma poderá ser um fator que diminua a resposta ao pré-pulso devido a sua associação com os sintomas positivos.

Com relação aos testes de sintomas negativos, espera-se que o grupo MAM-trauma apresente alterações no teste de efeitos de contrastes sucessivos e na interação social, e que essas alterações sejam mais significantes que no grupo MAM-controle. No teste de efeitos de contrastes sucessivos, o animal MAM+trauma não deverá distinguir entre as soluções de alto e baixo valor hedônico, consumindo quantidades parecidas das duas soluções. Os outros grupos deverão distingui-las. O grupo MAM-controle também não deve apresentar alterações de antecipação nesse teste, pois sintomas negativos não são bem reproduzidos pelo modelo de MAM sozinho. No teste de interação social, animais MAM-controle deverão apresentar menos interação com o outro animal que os outros três grupos. No teste de anedonia, nenhum dos grupos deveria apresentar diferenças, porque, como dito anteriormente, pacientes com esquizofrenia reportaram sentir prazer nas suas atividades e teriam problemas na antecipação de recompensas (GARD et al, 2007; WANG et al, 2015b). Contudo, como anedonia já foi vista em outros modelos animais, é possível que ocorra uma diferença entre MAM-trauma e os outros grupos.

Nos testes cognitivos, espera-se que MAM-trauma consiga resultados mais significantes que MAM-controle. Esses testes foram utilizados em modelos de MAM apenas, e foi visto que sua atividade está alterada nesse modelo. Com o trauma como gatilho poderá exacerbar os sintomas negativos. No teste do labirinto radial, espera-se que o animal entre mais vezes em braços já visitados, porque sua memória de trabalho está prejudicada. No teste de reconhecimento de novos objetos com dica temporal, uma versão modificada do reconhecimento de novos objetos, é utilizado para testar com mais confiabilidade a memória episódica. Já foi visto que recoleção está prejudicada na esquizofrenia e não a familiaridade (BUSSEY et al, 2013), então um teste que utilize

contexto para memória episódica seria mais confiável. Nesse teste, espera-se que não haja diferença de exploração entre os dois objetos. Na aprendizagem reversa, o animal deve ter mais erros de entrada durante a fase de reversão da regra. Porém, o animal deve aprender na primeira fase, na discriminação, para que o teste seja válido e apenas haja prejuízos em tomadas de decisões.

Na reversão farmacológica, espera-se que o todos os antipsicóticos utilizados consiga reverter os testes de sintomas positivos (hiperlocomoção e IPP), porém que não tenha nenhum efeito nos outros testes. Já clozapina e quetiapina podem ter resultados mais inconclusivos. Já foi visto que antipsicóticos atípicos têm pouco ou nenhuma eficácia para sintomas negativos e cognitivos. Porém, em vários modelos animais, esses antipsicóticos conseguiram reverter tanto sintomas negativos como cognitivo, principalmente a clozapina. Portanto, apesar de se esperar que não ocorra grandes reversões por esses antipsicóticos, a reversão pode acontecer. Citalopram, mesmo em conjunto com antipsicóticos, não deve reverter os testes de sintomas negativos, pois antidepressivos não são eficazes (HINKELMANN et al, 2013). Assim, a validade preditiva do modelo seria comprovada.

O grupo MAM-trauma também deve apresentar alterações neuroquímicas e morfológicas. Espera-se que dopamina esteja aumentada no estriado e diminuída no córtex pré-frontal, além da diminuição de GABA e aumento do glutamato no córtex pré-frontal. O glutamato pode estar aumentado porque ocorre hipofunção do receptor NMDA, e o aumento da liberação de glutamato aconteceria para tentar reverter a hipofuncionalidade. Também, espera-se diminuição da complexidade e densidade dendrítica no grupo MAM-trauma quando comparado com os outros grupos.

No geral, espera-se que esse modelo seja mais efetivo em representar sintomas negativos, pois modelos que utilizam apenas MAM não conseguem, além de apresentar as outras alterações vistas nos modelos de MAM (TABELA 1).

TABELA 1 – RESULTADOS ESPERADOS PARA O MODELO E TESTES DE REVERSÃO FARMACOLÓGICA

| Teste/Modelo | MAM+Trauma | MAM+Trauma+Hal | MAM+Trauma+Que | MAM+Trauma+Clo | MAM+Trauma +Cit |
|----------------------------------|----------------------------------|----------------|----------------------|----------------------|-----------------|
| Locomoção | Hiperlocomoção | Reverte | Reverte | Reverte | Não reverte |
| IPP | Diminuição | Reverte | Reverte | Reverte | Não reverte |
| Interação Social | Diminuição | Não reverte | Reverte parcialmente | Reverte parcialmente | Não reverte |
| Preferência por Sacarose | Aumento consumo | Não reverte | Reverte parcialmente | Reverte parcialmente | Não reverte |
| Efeitos de Contrastes Sucessivos | Sem diferença consumo | Não reverte | Reverte parcialmente | Reverte parcialmente | Não reverte |
| Labirinto Radial | Aumento visitas braços visitados | Não reverte | Reverte parcialmente | Reverte parcialmente | Não reverte |
| RNO Dica Temporal | Sem diferença de exploração | Não reverte | Reverte parcialmente | Reverte parcialmente | Não reverte |
| Aprendizagem Reversa | Aumento nº tentativas incorretas | Não reverte | Reverte parcialmente | Reverte parcialmente | Não reverte |

Legenda: Hal: haloperidol; Que: quetiapina; Clo: clozapina; Cit: citalopram; RNO: Reconhecimento de novos objetos

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Nesse trabalho, foi proposto um novo modelo animal de esquizofrenia usando o rato como modelo. O modelo foi proposto com base na *2-hit hypothesis*, na qual é mencionado que fatores que impactam o neurodesenvolvimento seriam o primeiro *hit* para o desenvolvimento da esquizofrenia e fatores ambientais na infância e na adolescência seriam o segundo *hit*. No modelo proposto, o primeiro *hit* é a administração de MAM em fêmeas grávidas e o segundo *hit* é a exposição a trauma psicossocial, representado pelo paradigma da derrota social. Modelos utilizando MAM são utilizados em estudos de esquizofrenia, porém, trauma intenso não é frequentemente utilizado de maneira isolada por ser modelo de outros transtornos psiquiátricos, como a depressão (HOLLIS e KABBAJ, 2014). Devido ao fator de neurodesenvolvimento associado ao trauma, acredita-se que esse modelo possa se diferenciar dos que utilizam apenas trauma. Porém, seus efeitos em conjunto com a administração de MAM são desconhecidos.

Também se espera que o modelo proposto consiga representar sintomas negativos, o que não é visto em modelos de MAM. Trauma em pacientes com esquizofrenia foi associado com a presença de sintomas negativos (VOGEL et al, 2011), o que poderia refletir no novo modelo animal proposto.

É fundamental que novos modelos de esquizofrenia sejam propostos e validados para que se consiga reproduzir sintomas negativos e cognitivos em animal. Esse passo é necessário para o desenvolvimento de novos fármacos que consigam tratar e reverter esses sintomas. Atualmente, os fármacos utilizados na clínica são pouco ou nada efetivos para o tratamento de sintomas negativos e parcialmente efetivos para o tratamento de sintomas cognitivos (BRUIJNZEEL et al, 2014). Há uma necessidade de novos tratamentos para melhorar a qualidade de vida dos pacientes que sofrem com esses sintomas. Além disso, fármacos com menos efeitos colaterais são desejáveis, já que a presença de efeitos colaterais aumenta a não-aderência ao tratamento (LIEBERMAN et al, 2005).

Para a validação do modelo, vários testes, que abrangem toda a sintomatologia da esquizofrenia, foram propostos. Uma bateria de testes sempre é o ideal quando se

testa um novo modelo animal (STUKALIN e EINAT, 2017). Realizar apenas um ou alguns testes pode não trazer resultados significativos ou ter resultados que podem não ser significativos em outros domínios. Por isso, saber os pontos fortes e fracos e saber se esses déficits podem ser revertidos farmacologicamente são fatores importantes para a validação e eficácia do modelo.

Porém, algumas limitações também podem ser listadas. Com já tido anteriormente, o paradigma da derrota social é utilizado como modelo animal de outros transtornos psiquiátricos, podendo haver alguma sobreposição entre os resultados encontrados para esquizofrenia e os outros modelos. Embora, deva-se considerar que também há sobreposição na clínica (e.g., transtorno esquizo-afetivo). Também, os testes utilizados hoje para avaliar a sintomatologia da esquizofrenia não representam muito fielmente os sintomas, principalmente se tratando de sintomas positivos. Apesar de haver hiperlocomoção e déficits de IPP em pacientes com esquizofrenia, esses não são os principais sintomas. Os principais são alucinações e delírios e atualmente não há meios de avaliar esses sintomas em animais, já que seria necessário um relato verbal dos sintomas. Além disso, muitos testes utilizados para avaliar sintomas negativos e cognitivos também são utilizados para avaliar outros transtornos psiquiátricos. Por isso, também é importante o desenvolvimento de novos testes que de alguma forma sejam exclusivos para a esquizofrenia, principalmente os de sintomas positivos. Por último, a esquizofrenia é uma doença muito complexa, que envolve vários genes e fatores ambientais. É possível que essas mudanças não sejam reprodutíveis em roedores, e um modelo que contemple toda a complexidade de sintomas e alterações neuroquímicas e morfológicas da esquizofrenia seja muito improvável de existir.

Apesar das limitações, as validações de novos modelos são essenciais para que novas descobertas tanto de etiologia quanto de tratamento sejam realizadas. O modelo proposto nesse trabalho poderá simular sintomas negativos, o que poderia ser uma alternativa para grupos de pesquisa que visam desenvolver fármacos eficazes para sintomas negativos, além de poder auxiliar em pesquisas que pretendem entender as mudanças neuroquímicas e morfológicas nos sintomas da esquizofrenia e entender melhor a patofisiologia da doença.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABEL, K. M. *et al.* Birth weight, schizophrenia, and adult mental disorder: is risk confined to the smallest babies? **Archives of general psychiatry**, v. 67, n. 9, p. 923–930, 2010. Disponível em: <<https://goo.gl/rFK9r8>>. Acesso em: 02/10/2017.
- ABRAMS, D. R.; BRUNO, J. P. Ontogeny of apomorphine-induced stereotypy and its D1 and D2 receptor mediation in rats depleted of dopamine as neonates. **Developmental Psychobiology**, v. 25, n. 7, p. 475–495, 1992. Disponível em: <<https://goo.gl/aMnQhG>>. Acesso em: 12/11/2017.
- AGERBO, E. *et al.* Polygenic Risk Score, Parental Socioeconomic Status, Family History of Psychiatric Disorders, and the Risk for Schizophrenia. **JAMA Psychiatry**, v. 72, n. 7, p. 635, 2015. Disponível em: <<https://goo.gl/bQjBZu>>. Acesso em: 20/11/2017.
- ALMEIDA, V. *et al.* Effects of cannabinoid and vanilloid drugs on positive and negative-like symptoms on an animal model of schizophrenia: The SHR strain. **Schizophrenia Research**, v. 153, n. 1–3, p. 150–159, 2014. Disponível em: <<https://goo.gl/Y1NC9N>>. Acesso em: 21/10/2017.
- AMITAI, N.; SEMENOVA, S.; MARKOU, A. Cognitive-disruptive effects of the psychotomimetic phencyclidine and attenuation by atypical antipsychotic medications in rats. **Psychopharmacology**, v. 193, n. 4, p. 521–537, 2007. Disponível em: <<https://goo.gl/dqqycw>>. Acesso em: 05/11/2017.
- ANDREASEN, N. C. Symptoms, signs, and diagnosis of schizophrenia. *The Lancet*, v. 346, n. 8973, p. 477–481, 1995. Disponível em: <<https://goo.gl/NY57QY>>. Acesso em: 16/5/2017.
- ANDREASSON, S. *et al.* CANNABIS AND SCHIZOPHRENIA A Longitudinal Study of Swedish Conscripts. **The Lancet**, v. 330, n. 8574, p. 1483–1486, 1987. Disponível em: <<https://goo.gl/DfCQrX>>. Acesso em: 20/11/2017.
- ARSENEAULT, L. *et al.* Cannabis use in adolescence and risk for adult psychosis: longitudinal prospective study. **BMJ (Clinical research ed.)**, v. 325, n. 7374, p. 1212–1213, 2002. Disponível em: <<https://goo.gl/7b8JyH>>. Acesso em: 20/11/2017.
- ARSENEAULT, L. *et al.* Childhood trauma and children's emerging psychotic symptoms: A genetically sensitive longitudinal cohort study. **American Journal of Psychiatry**, v. 168, n. 1, p. 65–72, 2011. Disponível em: <<https://goo.gl/cfVSxE>>. Acesso em: 20/11/2017.
- AYHAN, Y.; MCFARLAND, R.; PLETNIKOV, M. V. Animal models of gene–environment interaction in schizophrenia: A dimensional perspective. **Progress in Neurobiology**, v. 136, p. 1–27, 2016. Disponível em: <<https://goo.gl/PxDhs9>>. Acesso em: 08/6/2017.
- BAEK, J. H. *et al.* Association of genetic variations in DTNBP1 with cognitive function in schizophrenia patients and healthy subjects. **American journal of medical genetics. Part B, Neuropsychiatric Genetics**, v. 159B, n. 7, p. 841–9, 2012. Disponível em: <<https://goo.gl/8o4dsH>>. Acesso em: 20/11/2017.
- BAIRD, J. P. *et al.* Behavioral processes mediating phencyclidine-induced decreases in voluntary sucrose consumption. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 88, n. 3, p. 272–279, 2008. Disponível em: <<https://goo.gl/djRa5C>>. Acesso em: 04/11/2017.

BARI, A.; DALLEY, J. W.; ROBBINS, T. W. The application of the 5-choice serial reaction time task for the assessment of visual attentional processes and impulse control in rats. **Nature Protocols**, v. 3, n. 5, p. 759–767, 2008. Disponível em: < <https://goo.gl/Xzgw8>>. Acesso em: 11/11/2017.

BARNES, S. A.; DER-AVAKIAN, A.; MARKOU, A. Anhedonia, avolition, and anticipatory deficits: Assessments in animals with relevance to the negative symptoms of schizophrenia. **European Neuropsychopharmacology**, v. 24, n. 5, p. 744–758, 2014. Disponível em: <<https://goo.gl/kpp4JK>>. Acesso em: 23/10/2017.

BASURTO, E.; FLORES, O. G.; HOFFMAN, K. L. Glycinamide prevents MK-801-induced hyperactivity and deficits in object recognition memory in an animal model of positive and cognitive symptoms of schizophrenia. **Schizophrenia Research**, v. 166, n. 1, p. 349–350, 2017. Disponível em: <<https://goo.gl/9v9c9p>>. Acesso em: 21/10/2017.

BELZUNG, C.; LEMOINE, M. Criteria of validity for animal models of psychiatric disorders: focus on anxiety disorders and depression. *Biology of mood & anxiety disorders*, v. 1, n. 1, p. 9, 2011. Disponível em:<<https://goo.gl/MDIVVa>>. Acesso em: 31/5/2017.

BEVINS, R. A.; BESHEER, J. Object recognition in rats and mice: a one-trial non-matching-to-sample learning task to study “recognition memory”. **Nature Protocols**, v. 1, n. 3, p. 1306–1311, 2006. Disponível em: <<https://goo.gl/h3odxH>>. Acesso em: 05/11/2017.

BISSONETTE, G. B.; POWELL, E. M. Reversal learning and attentional set-shifting in mice. **Neuropharmacology**, v. 62, n. 3, p. 1168–1174 2012. Disponível em: <<https://goo.gl/JH9dzD>>. Acesso em: 05/11/2017.

BITANHIRWE, B. K. *et al.* Late Prenatal Immune Activation in Mice Leads to Behavioral and Neurochemical Abnormalities Relevant to the Negative Symptoms of Schizophrenia. **Neuropsychopharmacology**, v. 35, n. 12, p. 2462–2478, 2010a. Disponível em: < <https://goo.gl/9J11aN>>. Acesso em: 04/11/2017.

BITANHIRWE, B. Y. *et al.* Cognitive impairment following prenatal immune challenge in mice correlates with prefrontal cortical AKT1 deficiency. **International Journal of Neuropsychopharmacology**, v. 13, n. 8, p. 981–996, 2010b. Disponível em: <<https://goo.gl/M7SnN3>>. Acesso em: 30/11/2017.

BRENT, B. K. *et al.* Gray matter alterations in schizophrenia high-risk youth and early onset schizophrenia: a review of structural MRI findings. *Child and adolescent psychiatric clinics of North America*, v. 22, n. 4, p. 689–714, 2013. Disponível em: < <https://goo.gl/IA4sR0>>. Acesso em: 4/6/2017.

BROBERG, B. V. *et al.* A schizophrenia rat model induced by early postnatal phencyclidine treatment and characterized by Magnetic Resonance Imaging. **Behavioural Brain Research**, v. 250, p. 1–8, 2013. Disponível em: <<https://goo.gl/3jK9za>>. Acesso em: 09/11/2017.

BROWN, A. S. *et al.* Serologic Evidence of Prenatal Influenza in the Etiology of Schizophrenia. **Obstetrical & Gynecological Survey**, v. 60, n. 2, p. 77–78, 2004a. Disponível em: <<https://goo.gl/1Hpf4L>>. Acesso em: 19/10/2017.

BROWN, A. S. *et al.* Elevated Maternal Interleukin-8 Levels and Risk of Schizophrenia in Adult Offspring. **American Journal of Psychiatry**, v. 161, n. 5, p. 889–895, 2004b. Disponível em: <<https://goo.gl/CMcMEE>>. Acesso em: 19/10/2017.

BROWN, A. S. *et al.* Elevated Prenatal Homocysteine Levels as a Risk Factor for Schizophrenia. **Archives of General Psychiatry**, v. 64, n. 1, p. 31, 2007. Disponível em: <<https://goo.gl/HoouZb>>. Acesso em: 19/10/2017.

BROWN, A. S. *et al.* Maternal exposure to toxoplasmosis and risk of schizophrenia in adult offspring. **American Journal of Psychiatry**, v. 162, n. 4, p. 767–773, 2005. Disponível em: <<https://goo.gl/CWbNXZ>>. Acesso em: 19/10/2017.

BROWN, A. S. *et al.* No evidence of relation between maternal exposure to herpes simplex virus type 2 and risk of schizophrenia. **The American journal of psychiatry**, v. 163, n. 12, p. 2178–2180, 2006. Disponível em: <<https://goo.gl/hUxkSp>>. Acesso em: 19/10/2017.

BROWN, A. S. *et al.* Nonaffective psychosis after prenatal exposure to rubella. **American Journal of Psychiatry**, v. 157, n. 3, p. 438–443, 2000. Disponível em: <<https://goo.gl/uZpVEM>>. Acesso em: 19/10/2017.

BROWN, P. L. *et al.* Altered spatial learning, cortical plasticity and hippocampal anatomy in a neurodevelopmental model of schizophrenia-related endophenotypes. **European Journal of Neuroscience**, v. 36, n. 6, p. 2773–2781, 2012. Disponível em: <<https://goo.gl/hH1JB8>>. Acesso em: 05/11/2017.

BUIJNZEEL, D.; SURYADEVARA, U.; TANDON, R. Antipsychotic treatment of schizophrenia: An update. **Asian Journal of Psychiatry**, v. 11, p. 3-7, 2014. Disponível em <<https://goo.gl/p8W4SB>>. Acesso em: 16/11/2017.

BUSSEY, T. J.; BARCH, D. M.; BAXTER, M. G. Testing long-term memory in animal models of schizophrenia: Suggestions from CNTRICS. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, v. 37, n. 9, p. 2141-2148, 2013. Disponível em: <<https://goo.gl/Y1TAWA>>. Acesso em: 21/10/2017.

BUUSE, M. *et al.* Importance of animal models in schizophrenia research. **The Australian and New Zealand journal of psychiatry**, v. 39, n. 7, p. 550–7, 2005. Disponível em: <<https://goo.gl/5jnsjT>>. Acesso em: 23/10/2017.

BUUSE, M.; GARNER, B.; KOCH, M. Neurodevelopmental Animal Models of Schizophrenia: Effects on Prepulse Inhibition. **Current Molecular Medicine**, v. 3, n. 5, p. 459–471, 2003. Disponível em: <<https://goo.gl/jjUALW>>. Acesso em: 03/11/2017.

CALIPARI, E. S.; FERRIS, M. J. Amphetamine mechanisms and actions at the dopamine terminal revisited. **The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience**, v. 33, n. 21, p. 8923–5, 2013. Disponível em: <<https://goo.gl/vYdCDN>>. Acesso em: 7/6/2017.

CALLAGHAN, R. C. *et al.* Methamphetamine use and schizophrenia: A population-based cohort study in California. **American Journal of Psychiatry**, v. 169, n. 4, p. 389–396, 2012. Disponível em: <<https://goo.gl/zf95rH>>. Acesso em: 20/11/2017.

CALZAVARA, M. B. *et al.* Effects of antipsychotics and amphetamine on social behaviors in spontaneously hypertensive rats. **Behavioural Brain Research**, v. 225, n. 1, p. 15–22, 2011. Disponível em: <<https://goo.gl/Fpg8n9>>. Acesso em: 23/10/2017.

CANNON, M.; JONES, P. B.; MURRAY, R. M. Obstetric Complications and Schizophrenia: Historical and Meta-Analytic Review. **American Journal of Psychiatry**, v. 159, n. 7, p. 1080–1092, 2002. American Psychiatric Publishing. Disponível em: <<https://goo.gl/gyfH8C>>. Acesso em: 17/5/2017.

CANTOR-GRAAE, E. *et al.* Migration as a risk factor for schizophrenia: a Danish population-based cohort study. **The British journal of psychiatry**, v. 182, p. 117–22, 2003. Disponível em: <<https://goo.gl/pcNuDt>>. Acesso em: 20/11/2017.

CARBONI, G. *et al.* Enhanced dizocilpine efficacy in heterozygous reeler mice relates to GABA turnover downregulation. **Neuropharmacology**, v. 46, n. 8, p. 1070–1081, 2004. Disponível em: <<https://goo.gl/YXNTiw>>. Acesso em: 05/11/2017.

CARRUTHERS, S. P.; GURVICH, C. T.; ROSSELL, S. L. The muscarinic system, cognition and schizophrenia. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, 2015. Disponível em: <<https://goo.gl/7PRqaP>>. Acesso em: 23/11/2017.

CASADIO, P. *et al.* Cannabis use in young people: The risk for schizophrenia. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, 2011. Disponível em: <<https://goo.gl/YQAPqb>>. Acesso em: 16/11/2017.

CASTAÑÉ, A.; SANTANA, N.; ARTIGAS, F. PCP-based mice models of schizophrenia: Differential behavioral, neurochemical and cellular effects of acute and subchronic treatments. **Psychopharmacology**, v. 232, n. 21–22, p. 4085–4097, 2015. Disponível em: <<https://goo.gl/e57Tft>>. Acesso em: 02/11/2017.

CASTELLANO, O. *et al.* Chronic administration of risperidone in a rat model of schizophrenia: A behavioural, morphological and molecular study. **Behavioural Brain Research**, v. 242, n. 1, p. 178–190, 2013. Disponível em: <<https://goo.gl/5dVqjD>>. Acesso em: 06/11/2017.

CATTANEO, E. *et al.* Selective in vitro blockade of neuroepithelial cells proliferation by methylazoxymethanol, a molecule capable of inducing long lasting functional impairments. **Journal of Neuroscience Research**, v. 41, n. 5, p. 640–647, 1995. Disponível em: <<https://goo.gl/Pk2gJR>>. Acesso em: 15/6/2017.

CHEAH, S. Y. *et al.* Dysbindin (DTNBP1) variants are associated with hallucinations in schizophrenia. **European Psychiatry**, v. 30, n. 4, p. 486–491, 2015. Disponível em: <<https://goo.gl/ph1GyJ>>. Acesso em: 6/6/2017.

CHEN, Y. H. *et al.* Increased risk of schizophrenia following traumatic brain injury: a 5-year follow-up study in Taiwan. **Psychological Medicine**, v. 41, n. 6, p. 1271–1277, 2011. Disponível em: <<https://goo.gl/52pTL5>>. Acesso em: 16/11/2017.

CLASS, Q. A. *et al.* Offspring psychopathology following preconception, prenatal and postnatal maternal bereavement stress. **Psychological Medicine**, v. 44, n. 1, p. 71–84, 2014. Disponível em: <<https://goo.gl/MJpGFe>>. Acesso em: 16/10/2017.

DALMAN, C. *et al.* Obstetric complications and the risk of schizophrenia: a longitudinal study of a national birth cohort. **Archives of general psychiatry**, v. 56, n. 3, p. 234–240, 1999. Disponível em: <<https://goo.gl/c1J5dB>>. Acesso em: 16/11/2017.

DEMPSTER, E. *et al.* Epigenetic studies of schizophrenia: Progress, predicaments, and promises for the future. **Schizophrenia Bulletin**, v. 39, n. 1, p. 11–16, 2013. Disponível em: <<https://goo.gl/9ubYD9>>. Acesso em: 20/11/2017.

DENNISON, U. *et al.* Schizophrenia patients with a history of childhood trauma have a pro-inflammatory phenotype. **Psychological Medicine**, v. 42, n. 9, p. 1865–1871, 2012. Disponível em: <<https://goo.gl/irNMBc>>. Acesso em: 16/11/2017.

DEROSSE, P. *et al.* Dysbindin genotype and negative symptoms in schizophrenia. **American Journal of Psychiatry**, v. 163, n. 3, p. 532–534, 2006. Disponível em: <<https://goo.gl/MAz74U>>. Acesso em: 21/11/2017.

DOWD, E. C.; BARCH, D. M. Pavlovian reward prediction and receipt in schizophrenia: Relationship to anhedonia. **PLoS ONE**, v. 7, n. 5, 2012. Disponível em: <<https://goo.gl/wD1SwS>>. Acesso em: 04/11/2017.

DUFFY, L. *et al.* Cognition in transmembrane domain neuregulin 1 mutant mice. **Neuroscience**, v. 170, p. 800–807, 2010. Disponível em: <<https://goo.gl/QPvQtA>>. Acesso em: 8/6/2017.

EICHENBAUM, H. Hippocampus. **Neuron**, v. 44, n. 1, p. 109–120, 2004. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.neuron.2004.08.028>>. Acesso em: 08/01/2018.

EGERTON, A. *et al.* Elevated Striatal Dopamine Function in Immigrants and Their Children: A Risk Mechanism for Psychosis. **Schizophrenia bulletin**, v. 43, n. 2, p. 293–301, 2017. Disponível em: <<https://goo.gl/3aLPed>>. Acesso em: 20/11/2017.

EGGERS, A. E. A serotonin hypothesis of schizophrenia. **Medical Hypotheses**, v. 80, n. 6, p. 791–794, 2013. Disponível em: <<https://goo.gl/DCh4ER>>. Acesso em: 23/11/2017.

EIDE, M. G. *et al.* Degree of fetal growth restriction associated with schizophrenia risk in a national cohort. **Psychological Medicine**, v. 43, n. 10, p. 2057–2066, 2013. Disponível em: <<https://goo.gl/UCHfHg>>. Acesso em: 16/11/2017.

ELLENBROEK, B. A.; COOLS, A. R. Apomorphine Susceptibility and Animal Models for Psychopathology: Genes and Environment. **Behavior Genetics**, v. 32, n. 5, p. 349–361, 2002. Disponível em: <<https://goo.gl/mXcqdt>>. Acesso em: 13/6/2017.

ERHART, S. M.; MARDER, S. R.; CARPENTER, W. T. Treatment of Schizophrenia Negative Symptoms: Future Prospects. **Schizophrenia Bulletin**, v. 32, n. 2, p. 234–237, 2006. Disponível em: <<https://goo.gl/MFfjN9>>. Acesso em: 22/5/2017.

EUROPE PMC FUNDERS GROUP. Biological Insights From 108 Schizophrenia-Associated Genetic Loci. **Nature**, v. 511, n. 7510, p. 421–427, 2014. Disponível em: <<https://goo.gl/6Lxs53>>. Acesso em: 21/11/2017.

EVERETT, J. *et al.* Performance of patients with schizophrenia on the Wisconsin Card Sorting Test (WCST). **Journal of Psychiatry & Neuroscience**, v. 26, n. 2, p. 123–30, 2001. Disponível em: <<https://goo.gl/zesCCG>>. Acesso em: 12/11/2017.

FAKRA, E.; AZORIN, J. M. Clozapine for the treatment of schizophrenia. **Expert Opinion on Pharmacotherapy**, v. 13, n. 13, p. 1923–1935, 2012. Disponível em: <<https://goo.gl/JavDQp>>. Acesso em: 5/6/2017.

FALUDI, G.; MIRNICS, K. Synaptic changes in the brain of subjects with schizophrenia. **International journal of developmental neuroscience**, v. 29, n. 3, p. 305–9, 2011. Disponível em: <<https://goo.gl/up2S9Q>>. Acesso em: 8/6/2017.

FARRELL, M. S. *et al.* Evaluating historical candidate genes for schizophrenia. **Molecular Psychiatry**, v. 20, n. 5, p. 555–562, 2015. Disponível em: <<https://goo.gl/bJZLmf>>. Acesso em: 21/11/2017.

FATEMI, S. H.; FOLSOM, T. D. The neurodevelopmental hypothesis of Schizophrenia, revisited. **Schizophrenia Bulletin**, v. 35, n. 3, p. 528–548, 2009. Disponível em: <<https://goo.gl/nxfQ4z>>. Acesso em: 23/11/2017.

FEATHERSTONE, R. E.; KAPUR, S.; FLETCHER, P. J. The amphetamine-induced sensitized state as a model of schizophrenia. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, v. 31, n. 8, p. 1556–1571, 2007. Disponível em: <<https://goo.gl/VuWCNW>>. Acesso em: 7/6/2017.

FLAGSTAD, P.; GLENTHOJ, B. Y.; DIDRIKSEN, M. Cognitive Deficits Caused by Late Gestational Disruption of Neurogenesis in Rats: A Preclinical Model of Schizophrenia. **Neuropsychopharmacology**, v. 30, n. 2, p. 250–260, 2005. Disponível em: <<https://goo.gl/zgZPGE>>. Acesso em: 05/11/2017.

FLETCHER, P. J. *et al.* A sensitizing regimen of amphetamine impairs visual attention in the 5-choice serial reaction time test: reversal by a D1 receptor agonist injected into the medial prefrontal cortex. **Neuropsychopharmacology**, v. 32, n. 5, p. 1122–32, 2007. Disponível em: <<https://goo.gl/K7LNtz>>. Acesso em: 05/11/2017.

FONE, K. C. F.; PORKESS, M. V. Behavioural and neurochemical effects of post-weaning social isolation in rodents—Relevance to developmental neuropsychiatric disorders. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 32, n. 6, p. 1087–1102, 2008. Disponível em: <<https://goo.gl/etbzZV>>. Acesso em: 15/6/2017.

FOOTE, M. *et al.* Inhibition of 14-3-3 Proteins Leads to Schizophrenia-Related Behavioral Phenotypes and Synaptic Defects in Mice. **Biological Psychiatry**, v. 78, n. 6, p. 386–395, 2015. Disponível em: <<https://goo.gl/4qSS86>>. Acesso em: 06/11/2017.

GARD, D. E. *et al.* Anhedonia in schizophrenia: Distinctions between anticipatory and consummatory pleasure. **Schizophrenia Research**, v. 93, n. 1–3, p. 253–260, 2007. Disponível em: <<https://goo.gl/39DLKB>>. Acesso em: 12/11/2017.

GEJMAN, P. V.; SANDERS, A. R.; DUAN, J. The role of genetics in the etiology of schizophrenia. **Psychiatric Clinics of North America**, v. 33, n. 1, p. 35-66, 2010. Disponível em: <<https://goo.gl/SXYMCn>>. Acesso: 20/11/2017.

GLAHN, D. C. *et al.* Meta-analysis of gray matter anomalies in schizophrenia: application of anatomic likelihood estimation and network analysis. **Biological psychiatry**, v. 64, n. 9, p. 774–81, 2008. Disponível em: <<https://goo.gl/pRXjo9>>. Acesso em: 31/5/2017.

GOETGHEBEUR, P.; DIAS, R. Comparison of haloperidol, risperidone, sertindole, and modafinil to reverse an attentional set-shifting impairment following subchronic PCP administration in the rat—a back translational study. **Psychopharmacology**, v. 202, n. 1–3, p. 287–293, 2009. Disponível em: <<https://goo.gl/3g2Ujr>>. Acesso em: 05/11/2017.

GOMES, F. V.; GUIMARAES, F. S.; GRACE, A. A. Effects of pubertal cannabinoid administration on attentional set-shifting and dopaminergic hyper-responsivity in a developmental disruption model of schizophrenia. **International Journal of Neuropsychopharmacology**, v. 18, n. 2, p. 1–10, 2015. Disponível em: <<https://goo.gl/GfCRwW>>. Acesso em: 05/11/2017.

GRAYSON, B.; IDRIS, N. F.; NEILL, J. C. Atypical antipsychotics attenuate a sub-chronic PCP-induced cognitive deficit in the novel object recognition task in the rat. **Behavioural Brain Research**, v. 184, n. 1, p. 31–38, 2007. Disponível em: <<https://goo.gl/kUEDe2>>. Acesso em: 11/11/2017.

GUNNELL, D. *et al.* The association of fetal and childhood growth with risk of schizophrenia. Cohort study of 720,000 Swedish men and women. **Schizophrenia Research**, v. 79, n. 2–3, p. 315–322, 2005. Disponível em: <<https://goo.gl/PtnU2f>>. Acesso em: 18/09/2017.

GURURAJAN, A. *et al.* Drugs of abuse and increased risk of psychosis development. **Australian & New Zealand Journal of Psychiatry**, v. 46, n. 12, p. 1120–1135, 2012. Disponível em: <<https://goo.gl/pmvsus>>. Acesso em: 17/5/2017.

HADAR, R. *et al.* Using a maternal immune stimulation model of schizophrenia to study behavioral and neurobiological alterations over the developmental course. **Schizophrenia Research**, v. 166, n. 1–3, p. 238–247, 2015. Disponível em: <<https://goo.gl/MMP6mv>>. Acesso em: 19/10/2017.

HAJSZAN, T.; LERANTH, C.; ROTH, R. H. Subchronic Phencyclidine Treatment Decreases the Number of Dendritic Spine Synapses in the Rat Prefrontal Cortex. **Biological Psychiatry**, v. 60, n. 6, p. 639–644, 2006. Disponível em: <<https://goo.gl/6FcRw6>>. Acesso em: 06/11/2017.

HALLMAYER, J. The Epidemiology of the Genetic Liability for Schizophrenia. **Australian and New Zealand Journal of Psychiatry**, v. 34, p. S47–S55, 2000. Disponível em: <<https://goo.gl/aKtTB8>>. Acesso em: 20/11/2017.

HARRISON, P. J.; LAW, A. J. Neuregulin 1 and Schizophrenia: Genetics, Gene Expression, and Neurobiology. **Biological Psychiatry**, v. 60, n. 2, p. 132–140, 2006. Disponível em: <<https://goo.gl/LF7sFP>>. Acesso em: 8/6/2017.

HARTBERG, C. B. *et al.* Subcortical brain volumes relate to neurocognition in schizophrenia and bipolar disorder and healthy controls. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, v. 35, n. 4, p. 1122–1130, 2011. Disponível em: <<https://goo.gl/yhyppyk>>. Acesso em: 31/05/2017.

HE, J. *et al.* The effects of chronic administration of quetiapine on the phencyclidine-induced reference memory impairment and decrease of Bcl-XL/Bax ratio in the posterior cingulate cortex in rats. **Behavioural Brain Research**, v. 168, n. 2, p. 236–242, 2006. Disponível em: <<https://goo.gl/ggktyP>>. Acesso em: 05/11/2017.

HEISLER, J. M. *et al.* The Attentional Set Shifting Task: A Measure of Cognitive Flexibility in Mice. **Journal of Visualized Experiments**, n. 96, 2015. Disponível em: <<https://goo.gl/nfwfuE>>. Acesso em: 05/11/2017.

HENQUET, C. *P* Prospective cohort study of cannabis use, predisposition for psychosis, and psychotic symptoms in young people. **BMJ**, v. 330, n. 7481, p. 11, 2005. Disponível em: <<https://goo.gl/ChGyQL>>. Acesso em: 20/11/2017.

HERMAN, D. B. *et al.* Does unwantedness of pregnancy predict schizophrenia in the offspring? Findings from a prospective birth cohort study. **Social Psychiatry and Psychiatric Epidemiology**, v. 41, n. 8, p. 605–610, 2006. Disponível em: <<https://goo.gl/DYYcmU>>. Acesso em: 14/10/2017.

HINKELMANN, K. *et al.* No Effects of Antidepressants on Negative Symptoms in Schizophrenia. **Journal of Clinical Psychopharmacology**, v. 33, n. 5, p. 686–690, 2013. Disponível em: <<https://goo.gl/P8xQjB>>. Acesso em: 23/11/2017.

HOEK, H. *et al.* Schizoid personality disorder after prenatal exposure to famine. **American Journal of Psychiatry**, v. 153, n. 12, p. 1637–1639, 1996. Disponível em: <<https://goo.gl/Hp4ugD>>. Acesso em: 02/10/2017.

HOLLANDER, A. C. *et al.* Refugee migration and risk of schizophrenia and other non-affective psychoses: cohort study of 1.3 million people in Sweden. **BMJ**, p. i1030, 2016. Disponível em: <<https://goo.gl/B1NgY8>>. Acesso em: 20/11/2017.

HOLLIS, F.; KABBAJ, M. Social defeat as an animal model for depression. **ILAR Journal**, v. 55, n. 2, p. 221–232, 2014. Disponível em: <<https://goo.gl/DRCgQj>>. Acesso em: 05/12/2017.

HOLLISTER, J. M.; LAING, P.; MEDNICK, S. A. Rhesus incompatibility as a risk factor for schizophrenia in male adults. **Archives of General Psychiatry**, v. 53, n. 1, p. 19–24, 1996. Disponível em: <<https://goo.gl/Xge3sT>>. Acesso em: 22/09/2017.

HORAN, W. P.; KRING, A. M.; BLANCHARD, J. J. Anhedonia in schizophrenia: A review of assessment strategies. *Schizophrenia Bulletin*. **Schizophrenia Bulletin**, v. 32, p.259–273, 2006. Disponível em: <<https://goo.gl/6RGvjQ>>. Acesso em: 04/11/2017.

HOWES, O. D. *et al.* The nature of dopamine dysfunction in schizophrenia and what this means for treatment. **Archives of general psychiatry**, v. 69, n. 8, p. 776–86, 2012. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22474070>>. Acesso em: 4/6/2017.

HOWES, O. D. *et al.* The Role of Genes, Stress, and Dopamine in the Development of Schizophrenia. **Biological Psychiatry**, v. 81, n. 1, p. 9–20, 2017. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0006322316326634>>. Acesso em: 4/6/2017.

HOWES, O.; MCCUTCHEON, R.; STONE, J. Glutamate and dopamine in schizophrenia: An update for the 21st century. **Journal of Psychopharmacology**, v. 29, n. 2, p. 97–115, 2015. Disponível em: <<https://goo.gl/gr4RX7>>. Acesso em: 23/11/2017.

HOYLE, E. *et al.* Impaired performance of alpha7 nicotinic receptor knockout mice in the five-choice serial reaction time task. **Psychopharmacology**, v. 189, n. 2, p. 211–223, 2006. Disponível em: <<https://goo.gl/7Jjhof>>. Acesso em: 05/11/2017.

HUBL, D. *et al.* Pathways that make voices: white matter changes in auditory hallucinations. **Archives of general psychiatry**, v. 61, n. 7, p. 658–68, 2004. Disponível em: <<https://goo.gl/zdsjuo>>. Acesso em: 07/06/2017.

IDRIS, N. *et al.* Sertindole improves sub-chronic PCP-induced reversal learning and episodic memory deficits in rodents: Involvement of 5-HT6 and 5-HT2A receptor mechanisms. **Psychopharmacology**, v. 208, n. 1, p. 23–36, 2010. Disponível em: <<https://goo.gl/5rWtCh>>. Acesso em: 05/11/2017.

INSEL, B. J. *et al.* Maternal Iron Deficiency and the Risk of Schizophrenia in Offspring. **Archives of General Psychiatry**, v. 65, n. 10, p. 1136, 2008. Disponível em: <<https://goo.gl/N3cw76>>. Acesso em: 13/10/2017.

INSEL, B. J. *et al.* Maternal-fetal blood incompatibility and the risk of schizophrenia in offspring. **Schizophrenia Research**, v. 80, n. 2–3, p. 331–342, 2005. Disponível em: <<https://goo.gl/XiDJiY>>. Acesso em: 18/09/2017.

INSEL, T. R. Rethinking schizophrenia. **Nature**, v. 468, n. 7321, p. 187–193, 2010. Disponível em: <<https://goo.gl/wzuigu>>. Acesso em: 21/11/2017.

JAARO-PELED, H. Gene models of schizophrenia: DISC1 mouse models. **Progress in Brain Research**. p.75–86, 2009. Disponível em: <<https://goo.gl/ZYNdyJ>>. Acesso em: 8/6/2017.

JANHUNEN, S. K. *et al.* The subchronic phencyclidine rat model: Relevance for the assessment of novel therapeutics for cognitive impairment associated with schizophrenia. **Psychopharmacology**, 2015. Disponível em: <<https://goo.gl/S7HB3d>>. Acesso em: 11/11/2017.

JANSSEN, I. *et al.* Childhood abuse as a risk factor for psychotic experiences. **Acta Psychiatrica Scandinavica**, v. 109, n. 1, p. 38–45, 2004. Disponível em: <<https://goo.gl/nPbTPd>>. Acesso em: 20/11/2017.

JAVITT, D. C. Glutamatergic theories of schizophrenia. **Israel Journal of Psychiatry**, v. 47, n. 1, 2010. Disponível em: <<https://goo.gl/4nbyNs>>. Acesso em: 4/6/2017.

JENKINS, T. A.; HARTE, M. K.; REYNOLDS, G. P. Effect of subchronic phencyclidine administration on sucrose preference and hippocampal parvalbumin immunoreactivity in the rat. **Neuroscience Letters**, v. 471, n. 3, p. 144–147, 2010. Disponível em: <<https://goo.gl/kDnKbx>>. Acesso em: 04/11/2017.

JIN, L.; LLOYD, R. V. In situ hybridization: methods and applications. **Journal of clinical laboratory analysis**, v. 11, n. 1, p. 2–9, 1997. Disponível em: <<https://goo.gl/zCUL5A>>. Acesso em: 06/11/2017.

JONES, C. A.; WATSON, D. J. G.; FONE, K. C. F. Animal models of schizophrenia. **British journal of pharmacology**, v. 164, n. 4, p. 1162–94, 2011. Disponível em: <<https://goo.gl/qW39gZ>>. Acesso em: 31/05/2017.

KARLSGODT, K. H. *et al.* Reduced dysbindin expression mediates N-methyl-D-aspartate receptor hypofunction and impaired working memory performance. **Biological psychiatry**, v. 69, n. 1, p. 28–34, 2011. Disponível em: <<https://goo.gl/bKXDS3>>. Acesso em: 6/6/2017.

KEEFE, R. S. E. *et al.* Neurocognitive Effects of Antipsychotic Medications in Patients With Chronic Schizophrenia in the CATIE Trial. **Archives of General Psychiatry**, v. 64, n. 6, p. 633, 2007. American Medical Association. Disponível em: <<https://goo.gl/dhjbjB>>. Acesso em: 22/5/2017.

KHASHAN, A. S. *et al.* Higher Risk of Offspring Schizophrenia Following Antenatal Maternal Exposure to Severe Adverse Life Events. **Archives of General Psychiatry**, v. 65, n. 2, p. 146, 2008. Disponível em: <<https://goo.gl/UHuvSP>>. Acesso em: 16/10/2017.

KIRKBRIDE, J. B. *et al.* Prenatal nutrition, epigenetics and schizophrenia risk: can we test causal effects? **Epigenomics**, v. 4, n. 3, p. 303–315, 2012. Disponível em: <<https://goo.gl/QPZaQ1>>. Acesso em: 20/11/2017.

KIRKPATRICK, B. *et al.* The NIMH-MATRICES consensus statement on negative symptoms. *Schizophrenia Bulletin*. v. 32, p.214–219, 2006. Disponível em: <<https://goo.gl/TAkPwL>>. Acesso em: 17/05/2017.

KISHI, T.; IWATA, N. Meta-analysis of noradrenergic and specific serotonergic antidepressant use in schizophrenia. **The International Journal of Neuropsychopharmacology**, v. 17, n. 2, p. 343–354, 2014. Disponível em: <<https://goo.gl/PV8zir>>. Acesso em: 23/11/2017.

KITTIRATTANAPAIBOON, P. *et al.* Long-term outcomes in methamphetamine psychosis patients after first hospitalisation. **Drug and Alcohol Review**, v. 29, n. 4, p. 456–461, 2010. Disponível em: <<https://goo.gl/kgQh4G>>. Acesso em: 20/11/2017.

KOHL, S. *et al.* Prepulse inhibition in psychiatric disorders - Apart from schizophrenia. **Journal of Psychiatric Research**, 2013. Disponível em: <<https://goo.gl/MHRjc2>>. Acesso em: 04/11/2017.

KRABBENDAM, L.; VAN OS, J. Schizophrenia and urbanicity: A major environmental influence - Conditional on genetic risk. *Schizophrenia Bulletin*. v. 31, p.795–799, 2005. Disponível em: <<https://goo.gl/exhi7q>>. Acesso em: 20/11/2017.

KROCHER, T. *et al.* Schizophrenia-like phenotype of polysialyltransferase ST8SIA2-deficient mice. **Brain Structure and Function**, v. 220, n. 1, p. 71–83, 2013. Acesso em: 06/11/2017.

LALLY, J.; MACCABE, J. H.; E, W. Antipsychotic medication in schizophrenia: a review. **British Medical Bulletin**, v. 114, n. 1, p. 169–179, 2015. Oxford University Press. Disponível em: <<https://goo.gl/V48b1i>>. Acesso em: 22/5/2017.

LALONDE, R. The neurobiological basis of spontaneous alternation. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, v. 26, n. 1, p. 91-104, 2002. Disponível em: <<https://goo.gl/wfSGQo>>. Acesso em: 05/11/2017.

LARSSON, S. *et al.* High prevalence of childhood trauma in patients with schizophrenia spectrum and affective disorder. **Comprehensive Psychiatry**, v. 54, n. 2, p. 123–127, 2013. Disponível em: <<https://goo.gl/1zM9Xx>>. Acesso em: 20/11/2017.

LARUELLE, M. *et al.* Single photon emission computerized tomography imaging of amphetamine-induced dopamine release in drug-free schizophrenic subjects. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 93, n. 17, p. 9235–9240, 1996. Disponível em: <<https://goo.gl/mhUiQz>>. Acesso em: 11/11/2017.

LE PEN, G. *et al.* Phencyclidine exacerbates attentional deficits in a neurodevelopmental rat model of schizophrenia. **Neuropsychopharmacology : official publication of the American College of Neuropsychopharmacology**, v. 28, n. 10, p. 1799–1809, 2003. Disponível em: <<https://goo.gl/kmuy7y>>. Acesso em: 05/11/2017.

LEITÃO, R. J. *et al.* Cost of schizophrenia: direct costs and use of resources in the State of São Paulo. **Revista de Saúde Pública**, v. 40, n. 2, p. 304–309, 2006. Disponível em: <<https://goo.gl/vSvRki>>. Acesso em: 16/5/2017.

LEVIN, E. D.; CHRISTOPHER, N. C. Effects of clozapine on memory function in the rat neonatal hippocampal lesion model of schizophrenia. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, v. 30, n. 2, p. 223–229, 2006. Disponível em: <<https://goo.gl/KwnTsB>>. Acesso em: 05/11/2017.

LEWIS, D. A.; HASHIMOTO, T.; VOLK, D. W. Cortical inhibitory neurons and schizophrenia. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 6, n. 4, p. 312–324, 2005. Disponível em: <<https://goo.gl/iZpV5v>>. Acesso em: 5/6/2017.

LI, W. *et al.* Specific developmental disruption of disrupted-in-schizophrenia-1 function results in schizophrenia-related phenotypes in mice. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 104, n. 46, p. 18280–18285, 2007. Disponível em: <<https://goo.gl/PTSoER>>. Acesso em: 06/11/2017.

LI, Z. *et al.* Effect of repeated administration of phencyclidine on spatial performance in an eight-arm radial maze with delay in rats and mice. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 75, n. 2, p. 335–340, 2003. Disponível em: <<https://goo.gl/DG24ir>>. Acesso em: 05/11/2017.

LIAURY, K. *et al.* Minocycline improves recognition memory and attenuates microglial activation in Gunn rat: A possible hyperbilirubinemia-induced animal model of schizophrenia. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, v. 50, p. 184–190, 2014. Disponível em: <<https://goo.gl/8U8wK4>>. Acesso em: 06/11/2017.

LIEBERMAN, J. A. *et al.* Effectiveness of Antipsychotic Drugs in Patients with Chronic Schizophrenia. **New England Journal of Medicine**, v. 35312353, p. 1209–23, 2005. Disponível em: <<https://goo.gl/AGM8Aa>>. Acesso em: 22/5/2017.

LIPSKA, B. K.; JASKIW, G. E.; WEINBERGER, D. R. Postpubertal Emergence of Hyperresponsiveness to Stress and to Amphetamine after Neonatal Excitotoxic Hippocampal Damage: A Potential Animal Model of Schizophrenia. **Neuropsychopharmacology**, v. 9, n. 1, 1993. Disponível em: <<https://goo.gl/eZzRPa>>. Acesso em: 7/6/2017.

LIU, F. *et al.* Minocycline supplementation for treatment of negative symptoms in early-phase schizophrenia: A double blind, randomized, controlled trial. **Schizophrenia Research**, v. 153, n. 1–3, p. 169–176, 2014. Disponível em: <<https://goo.gl/xswECY>>. Acesso em: 15/11/2017.

LODGE, D. J.; GRACE, A. A. Gestational methylazoxymethanol acetate administration: a developmental disruption model of schizophrenia. **Behavioural brain research**, v. 204, n. 2, p. 306–12, 2009. NIH Public Access. Disponível em: <<https://goo.gl/Znf8xS>>. Acesso em: 7/6/2017.

MAEDA, K. *et al.* Brexpiprazole II: Antipsychotic-Like and Procognitive Effects of a Novel Serotonin-Dopamine Activity Modulator. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 350, n. 3, p. 605–614, 2014. Disponível em: <<https://goo.gl/4ZV3xY>>. Acesso em: 11/11/2017.

MALASPINA, D. *et al.* Acute maternal stress in pregnancy and schizophrenia in offspring: A cohort prospective study. **BMC Psychiatry**, v. 8, n. 1, p. 71, 2008. Disponível em: <<https://goo.gl/DtnRMm>>. Acesso em: 16/10/2017.

MARQUIS, J. P.; GOULET, S.; DORÉ, F. Y. Neonatal ventral hippocampus lesions disrupt extra-dimensional shift and alter dendritic spine density in the medial prefrontal cortex of juvenile rats. **Neurobiology of Learning and Memory**, v. 90, n. 2, p. 339–346, 2008. Disponível em: <<https://goo.gl/N2b3Zi>>. Acesso em: 05/11/2017.

MCGONIGLE, P.; RUGGERI, B. Animal models of human disease: Challenges in enabling translation. **Biochemical Pharmacology**, v. 87, n. 1, p. 162–171, 2014. Disponível em: <<https://goo.gl/Pm4Wh3>>. Acesso em: 6/6/2017.

MCGRATH, J. *et al.* A systematic review of the incidence of schizophrenia: the distribution of rates and the influence of sex, urbanicity, migrant status and methodology. **BMC medicine**, v. 2, p. 13, 2004. Disponível em: <<https://goo.gl/5RmZTj>>. Acesso em: 15/6/2017.

MCGRATH, J. *et al.* Association Between Cannabis Use and Psychosis-Related Outcomes Using Sibling Pair Analysis in a Cohort of Young Adults. **Archives of General Psychiatry**, v. 67, n. 5, p. 440, 2010b. Disponível em: <<https://goo.gl/jEVZsP>>. Acesso em: 20/11/2017.

MCGRATH, J. *et al.* Schizophrenia: A Concise Overview of Incidence, Prevalence, and Mortality. **Epidemiological Reviews**, v. 30, p. 67–86, 2008. Disponível em: <<https://goo.gl/RsZrbN>>. Acesso em: 15/6/2017.

MCGRATH, J. J. *et al.* Neonatal Vitamin D Status and Risk of Schizophrenia. **Archives of General Psychiatry**, v. 67, n. 9, p. 889, 2010a. Disponível em: <<https://goo.gl/9XhquZ>>. Acesso em: 5/6/2017.

MCLEAN, S. *et al.* Isolation rearing impairs novel object recognition and attentional set shifting performance in female rats. **Journal of Psychopharmacology**, v. 24, n. 1, p. 57–63, 2010. Disponível em: <<https://goo.gl/5QMWvP>>. Acesso em: 05/11/2017.

MELI, G. *et al.* Prenatal and perinatal risk factors of schizophrenia. **The journal of maternal-fetal & neonatal medicine**, v. 25, n. 12, p. 2559–2563, 2012. Disponível em: <<https://goo.gl/d3D3YR>>. Acesso em: 19/09/2017.

MILL, J. *et al.* Epigenomic Profiling Reveals DNA-Methylation Changes Associated with Major Psychosis. **American Journal of Human Genetics**, v. 82, n. 3, p. 696–711, 2008. Disponível em: <<https://goo.gl/Qunr2B>>. Acesso em: 21/11/2017.

MIYAMOTO, Y.; NITTA, A. Behavioral Phenotypes for Negative Symptoms in Animal Models of Schizophrenia. **Journal of Pharmacological Sciences**, v. 126, n. 4, p. 310–320, 2014. Disponível em: <<https://goo.gl/EazyEE>>. Acesso em: 21/10/2017.

MOLLOY, C. *et al.* Is traumatic brain injury a risk factor for schizophrenia? A meta-analysis of case-controlled population-based studies. **Schizophrenia bulletin**, v. 37, n. 6, p. 1104–10, 2011. Oxford University Press. Disponível em: <<https://goo.gl/W5xfQG>>. Acesso em: 15/6/2017.

MOORE, H. *et al.* A Neurobehavioral Systems Analysis of Adult Rats Exposed to Methylazoxymethanol Acetate on E17: Implications for the Neuropathology of Schizophrenia. **Biological Psychiatry**, v. 60, n. 3, p. 253–264, 2006. Disponível em: <<https://goo.gl/FZbBK1>>. Acesso em: 05/11/2017.

MORRIS, R. Developments of a water-maze procedure for studying spatial learning in the rat. **Journal of Neuroscience Methods**, v. 11, n. 1, p. 47–60, 1984. Disponível em: <<https://goo.gl/1HBoLX>>. Acesso em: 05/11/2017.

MOSER, P. Evaluating negative-symptom-like behavioural changes in developmental models of schizophrenia. **European Neuropsychopharmacology**, v. 24, n. 5, p. 774–787, 2014. Disponível em: <<https://goo.gl/m1HpAe>>. Acesso em: 21/10/2017.

MOSTAID, M. *et al.* Neuregulin-1 and schizophrenia in the genome-wide association study era. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, 2016. Disponível em: <<https://goo.gl/3eZMhX>>. Acesso em: 21/11/2017.

MUSCAT, R.; WILLNER, P. Effects of dopamine receptor antagonists on sucrose consumption and preference. **Psychopharmacology**, v. 99, n. 1, p. 98–102, 1989. Disponível em: <<https://goo.gl/RFCPhh>>. Acesso em: 05/11/2017.

MYHRMAN, A. *et al.* Unwantedness of a pregnancy and schizophrenia in the child. **British Journal of Psychiatry**, v. 169, n. 5, p. 637–640, 1996. Disponível em: <<https://goo.gl/4d6cFb>>. Acesso em: 14/10/2017.

NAGAI, T. *et al.* Effects of antipsychotics on the behavioral deficits in human dominant-negative DISC1 transgenic mice with neonatal polyI:C treatment. **Behavioural Brain Research**, v. 225, n. 1, p. 305–310, 2011. Disponível em: <<https://goo.gl/bC6sFu>>. Acesso em: 11/11/2017.

NEILL, J. C. *et al.* Animal models of cognitive dysfunction and negative symptoms of schizophrenia: focus on NMDA receptor antagonism. **Pharmacology & therapeutics**, v. 128, n. 3, p. 419–32, 2010. Disponível em: <<https://goo.gl/ZHTZGq>>. Acesso em: 23/10/2017.

NIELSEN, P. R.; MEYER, U.; MORTENSEN, P. B. Individual and combined effects of maternal anemia and prenatal infection on risk for schizophrenia in offspring. **Schizophrenia Research**, v. 172, n. 1–3, p. 35–40, 2016. Disponível em: <<https://goo.gl/yzRhg2>>. Acesso em: 19/10/2017.

NUECHTERLEIN, K. H. *et al.* Identification of separable cognitive factors in schizophrenia. **Schizophrenia Research**, v. 72, n. 1, p. 29–39, 2004. Disponível em: <<https://goo.gl/Z8Tymy>>. Acesso em: 16/5/2017.

O'TUATHAIGH, C. M. P. *et al.* Schizophrenia-related endophenotypes in heterozygous neuregulin-1 “knockout” mice. **European Journal of Neuroscience**, v. 31, n. 2, p. 349–358, 2010. Disponível em: <<https://goo.gl/54qkJS>>. Acesso em: 23/10/2017.

OKADA, N. *et al.* Abnormal asymmetries in subcortical brain volume in schizophrenia. **Molecular Psychiatry**, v. 21, n. 10, p. 1460–1466, 2016. Disponível em: <<https://goo.gl/4NXyiR>>. Acesso em: 31/5/2017.

ORLOVSKA, S. *et al.* Head injury as risk factor for psychiatric disorders: A nationwide register-based follow-up study of 113,906 persons with head injury. **American Journal of Psychiatry**, v. 171, n. 4, p. 463–469, 2014. Disponível em: <<https://goo.gl/EYXvxL>>. Acesso em: 16/11/2017.

OZAWA, K. *et al.* Immune activation during pregnancy in mice leads to dopaminergic hyperfunction and cognitive impairment in the offspring: A neurodevelopmental animal model of schizophrenia. **Biological Psychiatry**, v. 59, n. 6, p. 546–554, 2006. Disponível em: <<https://goo.gl/6qGm9Q>>. Acesso em: 27/11/2017.

PAPALEO, F. *et al.* Behavioral, Neurophysiological, and Synaptic Impairment in a Transgenic Neuregulin1 (NRG1-IV) Murine Schizophrenia Model. **The Journal of Neuroscience**, v. 36, n. 17, p. 4859–4875, 2016. Disponível em: <<https://goo.gl/kZz9yZ>>. Acesso em: 11/11/2017.

PEDERSEN, C. B.; MORTENSEN, P. B. Urbanization and traffic related exposures as risk factors for Schizophrenia. **BMC Psychiatry**, v. 6, n. 1, p. 2, 2006. Disponível em: <<https://goo.gl/gZrWhg>>. Acesso em: 20/11/2017.

PICKER, J. D.; COYLE, J. T. Do maternal folate and homocysteine levels play a role in neurodevelopmental processes that increase risk for schizophrenia? **Harvard Review of Psychiatry**, 2005. Disponível em: <<https://goo.gl/pmWvJo>>. Acesso em: 12/10/2017.

PINO, O. *et al.* Neurodevelopment or neurodegeneration: Review of theories of schizophrenia. **Actas Espanolas de Psiquiatria**, v. 42, n. 4, p. 185-195, 2014. Disponível em: <<https://goo.gl/ZTtqiv>>. Acesso em: 23/11/2017.

PLACEK, K. *et al.* Impairments in set-shifting but not reversal learning in the neonatal ventral hippocampal lesion model of schizophrenia: Further evidence for medial prefrontal deficits. **Behavioural Brain Research**, v. 256, p. 405–413, 2013. Disponível em: <<https://goo.gl/2G3CwQ>>. Acesso em: 05/11/2017.

POWELL, C. M.; MIYAKAWA, T. Schizophrenia-Relevant Behavioral Testing in Rodent Models: A Uniquely Human Disorder? **Biological Psychiatry**, 2006. Disponível em: <<https://goo.gl/2JvRjF>>. Acesso em: 21/10/2017.

PURCELL, S. M. *et al.* Common polygenic variation contributes to risk of schizophrenia and bipolar disorder. **Nature**, v. 460, n. 7256, p. 748–752, 2009. Disponível em: <<https://goo.gl/bjez3j>>. Acesso em: 21/11/2017.

RAMOS-VARA, J. A.; MILLER, M. A. When tissue antigens and antibodies get along: revisiting the technical aspects of immunohistochemistry-the red, brown, and blue technique. **Veterinary pathology**, v. 51, n. 1, p. 42–87, 2014. Disponível em: <<https://goo.gl/VWsKUw>>. Acesso em: 06/11/2017.

RAPOPORT, J. L.; GIEDD, J. N.; GOGTAY, N. Neurodevelopmental model of schizophrenia: update 2012. **Molecular psychiatry**, v. 17, n. 12, p. 1228–38, 2012. Disponível em: <<https://goo.gl/PzZnCE>>. Acesso em: 15/6/2017.

READ, J. *et al.* Childhood trauma, psychosis and schizophrenia: a literature review with theoretical and clinical implications. **Acta Psychiatrica Scandinavica**, v. 112, n. 5, p. 330–350, 2005. Disponível em: <<https://goo.gl/NGUzuL>>. Acesso em: 17/5/2017.

RICHARDSON, N. R.; ROBERTS, D. C. S. Progressive ratio schedules in drug self-administration studies in rats: a method to evaluate reinforcing efficacy. **Journal of Neuroscience Methods**, v. 66, n. 1, p. 1–11, 1996. Disponível em: <<https://goo.gl/Yzngpz>>. Acesso em: 11/11/2017.

ROSS, C. A. *et al.* Neurobiology of Schizophrenia. **Neuron**, v. 52, p. 139–153, 2006. Disponível em: <<https://goo.gl/eS8eSa>>. Acesso em: 1/6/2017.

RUBY, E. *et al.* Pathways Associating Childhood Trauma to the Neurobiology of Schizophrenia. **Frontiers in psychological and behavioral science**, v. 3, n. 1, p. 1–17, 2014. Disponível em: <<https://goo.gl/mx46fw>>. Acesso em: 5/6/2017.

SALAMONE, J. D. *et al.* Nucleus Accumbens Dopamine and the Regulation of Effort in Food-Seeking Behavior: Implications for Studies of Natural Motivation, Psychiatry, and Drug Abuse. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 305, n. 1, p. 1 LP-8, 2003. Disponível em: <<https://goo.gl/zNSbiw>>. Acesso em: 04/11/2017.

SAMS-DODD, F. Phencyclidine in the social interaction test: an animal model of schizophrenia with face and predictive validity. **Reviews in the Neurosciences**, v. 10, n. 1, p. 59–90, 1999. Disponível em: <<https://goo.gl/yR7MP7>>. Acesso em: 21/10/2017.

SAMS-DODD, F.; LIPSKA, B. K.; WEINBERGER, D. R. Neonatal lesions in the rat ventral hippocampus result in hyperlocomotion and deficits in social behaviour in adulthood. **Psychopharmacology**, v. 132, n. 3, p. 303–310, 1997. Disponível em: <<https://goo.gl/Biia4s>>. Acesso em: 21/10/2017.

SCHAEFER, J. *et al.* The global cognitive impairment in schizophrenia: consistent over decades and around the world. **Schizophrenia research**, v. 150, n. 1, p. 42–50, 2013. Disponível em: <<https://goo.gl/3fGG58>>. Acesso em: 3/6/2017.

SCHUBART, C. D. *et al.* Cannabis use at a young age is associated with psychotic experiences. **Psychological Medicine**, v. 41, n. 6, p. 1301–1310, 2011. Disponível em: <<https://goo.gl/SkRxmF>>. Acesso em: 20/11/2017.

SELTEN, J. P. *et al.* Schizophrenia and 1957 pandemic of influenza: Meta-analysis. **Schizophrenia Bulletin**, v. 36, n. 2, p. 219–228, 2010. Disponível em: <<https://goo.gl/fX8Xyp>>. Acesso em: 19/10/2017.

SELTEN, J. P.; VAN OS, J.; CANTOR-GRAAE, E. The social defeat hypothesis of schizophrenia: issues of measurement and reverse causality. **World Psychiatry**, v. 15, n. 3, p. 294–295, 2016. Disponível em: <<https://goo.gl/AheGVB>>. Acesso em: 05/12/2017.

SELTEN, J.-P.; CANTOR-GRAAE, E.; KAHN, R. S. Migration and schizophrenia. **Current Opinion in Psychiatry**, v. 20, n. 2, 2007. Disponível em: <<https://goo.gl/7MvePr>>. Acesso em: 20/11/2017.

SHENTON, M. E.; WHITFORD, T. J.; KUBICKI, M. Structural neuroimaging in schizophrenia: from methods to insights to treatments. **Dialogues in clinical neuroscience**, v. 12, n. 3, p. 317–32, 2010. Les Laboratoires Servier. Disponível em: <<https://goo.gl/QzWeqJ>>. Acesso em: 3/6/2017.

SIMPSON, E. H. *et al.* Pharmacologic rescue of motivational deficit in an animal model of the negative symptoms of schizophrenia. **Biological Psychiatry**, v. 69, n. 10, p. 928–935, 2011. Disponível em: <<https://goo.gl/3svJEH>>. Acesso em: 04/11/2017.

SIMPSON, E. H. *et al.* Schizophrenia in translation: Dissecting motivation in schizophrenia and rodents. **Schizophrenia Bulletin**, 2012. Disponível em: <<https://goo.gl/QRRn6Y>>. Acesso em: 04/11/2017.

SOLMI, M. *et al.* Systematic review and meta-analysis of the efficacy and safety of minocycline in schizophrenia. **CNS Spectrums**, v. 22, n. 5, p. 415–426, 2017. Disponível em: <<https://goo.gl/9QNHcx>>. Acesso em: 15/11/2017.

SORENSEN, H. J. *et al.* Association between prenatal exposure to analgesics and risk of schizophrenia. **British Journal of Psychiatry**, v. 185, n. NOV., p. 366–371, 2004. Disponível em: <<https://goo.gl/RfAE36>>. Acesso em: 19/10/2017.

SORENSEN, H. J. *et al.* Association between prenatal exposure to bacterial infection and risk of Schizophrenia. **Schizophrenia Bulletin**, v. 35, n. 3, p. 631–637, 2009. Disponível em: <<https://goo.gl/enmFMp>>. Acesso em: 19/10/2017.

SORENSEN, H. J. *et al.* Do hypertension and diuretic treatment in pregnancy increase the risk of schizophrenia in offspring? **American Journal of Psychiatry**, v. 160, n. 3, p. 464–468, 2003. Disponível em: <<https://goo.gl/fXrAX1>>. Acesso em: 21/10/2017.

STILO, S. A.; MURRAY, R. M. The epidemiology of schizophrenia: replacing dogma with knowledge. **Dialogues in Clinical Neuroscience**, v. 12, n. 3, p. 305–315, 2010. Disponível em: <<https://goo.gl/Ws64R8>>. Acesso em: 18/05/2017.

STUKALIN, Y.; EINAT, H. Analyzing test batteries in animal models of psychopathology with multivariate analysis of variance (MANOVA): One possible approach to increase external validity. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, 2017. Disponível em: <<https://goo.gl/DLmRHF>>. Acesso em: 05/12/2017.

SULLIVAN, P. F. *et al.* The Genetics of Schizophrenia. **PLoS Medicine**, v. 2, n. 7, p. e212, 2005. Disponível em: <<https://goo.gl/rd4p5u>>. Acesso em: 17/5/2017.

SULLIVAN, P. F.; KENDLER, K.; NEALE, M. Schizophrenia as a complex trait: Evidence from a meta-analysis of twin studies. *Archives of General Psychiatry*, v. 60, n. 12, p. 1187–1192, 2003. Disponível em: <<https://goo.gl/RHS6SP>>. Acesso em: 18/5/2017.

SUSSER, E. Schizophrenia After Prenatal Famine. *Archives of General Psychiatry*, v. 53, n. 1, p. 25, 1996. Disponível em: <<https://goo.gl/XTfk1C>>. Acesso em: 02/10/2017.

SUSSMANN, J. E. *et al.* White matter abnormalities in bipolar disorder and schizophrenia detected using diffusion tensor magnetic resonance imaging. *Bipolar Disorders*, v. 11, n. 1, p. 11–18, 2009. Disponível em: <<https://goo.gl/MvcAx6>>. Acesso em: 8/6/2017.

SVRAKIC, D. M. *et al.* Risk architecture of schizophrenia. *Current Opinion in Psychiatry*, v. 26, n. 2, p. 188–195, 2013. Disponível em: <<https://goo.gl/ekY8YS>>. Acesso em: 20/11/2017.

SZESZKO, P. R. *et al.* Clinical and Neuropsychological Correlates of White Matter Abnormalities in Recent Onset Schizophrenia. *Neuropsychopharmacology*, v. 33, p. 976–984, 2008. Disponível em: <<https://goo.gl/L4oeTY>>. Acesso em: 3/6/2017.

TANDON, R. *et al.* Definition and description of schizophrenia in the DSM-5. *Schizophrenia Research*, v. 150, n. 1, p. 3–10, 2013. Disponível em: <<https://goo.gl/xarJsK>>. Acesso em: 1/6/2017.

TANYERI, P. *et al.* Effects of ziprasidone, SCH23390 and SB277011 on spatial memory in the Morris water maze test in naive and MK-801 treated mice. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, v. 138, p. 142–147, 2015. Disponível em: <<https://goo.gl/2EWNNE>>. Acesso em: 05/11/2017.

TAYLOR, S. F.; TSO, I. F. GABA abnormalities in schizophrenia: A methodological review of in vivo studies. *Schizophrenia Research*, 2015. Disponível em: <<https://goo.gl/unXfT8>>. Acesso em: 23/11/2017.

TEREVNIKOV, V.; JOFFE, G.; STENBERG, J. H. Randomized controlled trials of add-on antidepressants in schizophrenia. *International Journal of Neuropsychopharmacology*, 2015. Disponível em: <<https://goo.gl/eeMWJv>>. Acesso em: 23/11/2017.

TSENG, K. Y.; CHAMBERS, R. A.; LIPSKA, B. K. The neonatal ventral hippocampal lesion as a heuristic neurodevelopmental model of schizophrenia. *Behavioural brain research*, v. 204, n. 2, p. 295–305, 2009. Disponível em: <<https://goo.gl/Eugpok>>. Acesso em: 7/6/2017.

URIGÜEN, L. *et al.* Behavioral, neurochemical and morphological changes induced by the overexpression of munc18-1a in brain of mice: relevance to schizophrenia. *Translational Psychiatry*, v. 3, n. 1, p. e221, 2013. Disponível em: <<https://goo.gl/BJZgUJ>>. Acesso em: 06/11/2017.

VAN ERP, T. G. M. *et al.* Remember and know judgments during recognition in chronic schizophrenia. *Schizophrenia Research*, v. 100, n. 1–3, p. 181–190, 2008. Disponível em: <<https://goo.gl/ysV45K>>. Acesso em: 12/11/2017.

VAN OS, J.; SELTEN, J. P. Prenatal exposure to maternal stress and subsequent schizophrenia. The May 1940 invasion of The Netherlands. **British Journal of Psychiatry**, v. 172, n. APR., p. 324–326, 1998. Disponível em: <<https://goo.gl/Q7c53V>>. Acesso em: 14/10/2017.

VARESE, F. *et al.* Childhood adversities increase the risk of psychosis: A meta-analysis of patient-control, prospective-and cross-sectional cohort studies. **Schizophrenia Bulletin**, v. 38, n. 4, p. 661–671, 2012. Disponível em: <<https://goo.gl/jh4hL9>>. Acesso em: 20/11/2017.

VASSOS, E. *et al.* Meta-analysis of the association of urbanicity with schizophrenia. **Schizophrenia Bulletin**, v. 38, n. 6, p. 1118–1123, 2012. Disponível em: <<https://goo.gl/w5Z5TC>>. Acesso em: 20/11/2017.

VERNON, J. A. *et al.* Antidepressants for cognitive impairment in schizophrenia--a systematic review and meta-analysis. **Schizophrenia research**, v. 159, n. 2–3, p. 385–94, 2014. Disponível em: <<https://goo.gl/oBD3By>>. Acesso em: 23/11/2017.

VIDAL, J.; BUWALDA, B.; KOOLHAAS, J. M. Male Wistar rats are more susceptible to lasting social anxiety than Wild-type Groningen rats following social defeat stress during adolescence. **Behavioural Processes**, v. 88, n. 2, p. 76–80, 2011. Disponível em: <<https://goo.gl/dAomt6>>. Acesso em: 02/12/2017.

VITA, A. *et al.* Progressive loss of cortical gray matter in schizophrenia: a meta-analysis and meta-regression of longitudinal MRI studies. **Translational psychiatry**, v. 2, n. 11, p. e190, 2012. Disponível em: <<https://goo.gl/Dr7jec>>. Acesso em: 31/5/2017.

VOGEL, M. *et al.* Differential effects of childhood abuse and neglect: Mediation by posttraumatic distress in neurotic disorder and negative symptoms in schizophrenia? **Psychiatry Research**, v. 189, n. 1, p. 121–127, 2011. Disponível em: <<https://goo.gl/61aJRN>>. Acesso em: 30/11/2017.

WANG, L. *et al.* A methionine-induced animal model of schizophrenia: Face and predictive validity. **International Journal of Neuropsychopharmacology**, v. 18, n. 12, p. 1–11, 2015a. Disponível em: <<https://goo.gl/UJDp9R>>. Acesso em: 02/11/2017.

WANG, J. *et al.* Anhedonia in schizophrenia: Deficits in both motivation and hedonic capacity. **Schizophrenia Research**, v. 168, n. 1–2, p. 465–474, 2015b. Disponível em: <<https://goo.gl/C9g491>>. Acesso em: 04/11/2017.

WARD, R. D. *et al.* Dissociation of Hedonic Reaction to Reward and Incentive Motivation in an Animal Model of the Negative Symptoms of Schizophrenia. **Neuropsychopharmacology**, v. 37, n. 7, p. 1699–1707, 2012. Nature Publishing Group. Disponível em: <<https://goo.gl/b8LWmP>>. Acesso em: 04/11/2017.

WERNER, S.; MALASPINA, D.; RABINOWITZ, J. Socioeconomic status at birth is associated with risk of schizophrenia: population-based multilevel study. **Schizophrenia bulletin**, v. 33, n. 6, p. 1373–8, 2007. Disponível em: <<https://goo.gl/mkkPRP>>. Acesso em: 15/6/2017.

WILLNER, P. The validity of animal models of depression. **Psychopharmacology**, v. 83, n. 1, p. 1–16, 1984. Disponível em: <<https://goo.gl/Sdjad7>>. Acesso em: 6/6/2017.

- WOCKNER, L. F. *et al.* Brain-specific epigenetic markers of schizophrenia. **Translational Psychiatry**, v. 5, n. 11, 2015. Disponível em: <<https://goo.gl/jrERxe>>. Acesso em: 20/11/2017.
- XU, M. Q. *et al.* Prenatal malnutrition and adult Schizophrenia: Further evidence from the 1959-1961 chinese famine. **Schizophrenia Bulletin**, v. 35, n. 3, p. 568–576, 2009. Disponível em: <<https://goo.gl/uXNn7t>>. Acesso em: 02/10/2017.
- YANAGI, M. *et al.* Animal Models of Schizophrenia: Emphasizing Construct Validity. **Progress in Molecular Biology and Translational Science**. v. 105, p.411–444, 2012. Disponível em: <<https://goo.gl/eSER7u>>. Acesso em: 22/5/2017.
- YOUNG, J. W. *et al.* Using the MATRICS to guide development of a preclinical cognitive test battery for research in schizophrenia. **Pharmacology and Therapeutics**, 2009. Disponível em: <<https://goo.gl/3AFB3V>>. Acesso em: 02/11/2017.
- ZAMMIT, S. Self-reported cannabis use as a risk factor for schizophrenia in Swedish conscripts of 1969: historical cohort study. **BMJ**, v. 325, n. 7374, p. 1199–1199, 2002. Disponível em: <<https://goo.gl/TJRwCn>>. Acesso em: 20/11/2017.
- ZHU, F. *et al.* Neonatal intrahippocampal injection of lipopolysaccharide induces deficits in social behavior and prepulse inhibition and microglial activation in rats: Implication for a new schizophrenia animal model. **Brain, Behavior, and Immunity**, v. 38, n. Supplement C, p. 166–174, 2014. Disponível em: <<https://goo.gl/tBzKix>>. Acesso em: 06/11/2017.