



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
FACULDADE DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE FISIOLOGIA E FARMACOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FARMACOLOGIA

MANUEL ALVES DOS SANTOS JÚNIOR

**MODELO DE ESQUIZOFRENIA INDUZIDO PELO *PRIMING* DE RECEPTORES
D2: INFLUÊNCIA DO SEXO E DO ESTRESSE PERIPUBERAL**

FORTALEZA
2018

MANUEL ALVES DOS SANTOS JÚNIOR

MODELO DE ESQUIZOFRENIA INDUZIDO PELO *PRIMING* DE RECEPTORES D2:
INFLUÊNCIA DO SEXO E DO ESTRESSE PERIPUBERAL

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Farmacologia. Área de concentração: Neurofarmacologia.

Orientadora: Profa. Dra. Silvânia Maria Mendes Vasconcelos

Co-orientador: Prof. Dr. Fabio Miyajima

FORTALEZA

2018

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Universitária

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

- S236m Santos Júnior, Manuel Alves dos.
MODELO DE ESQUIZOFRENIA INDUZIDO PELO PRIMING DE RECEPTORES D2:
INFLUÊNCIA DO SEXO E DO ESTRESSE PERIPUBERAL / Manuel Alves dos Santos Júnior. – 2018.
91 f. : il. color.
- Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, Fortaleza, 2018.
Orientação: Prof. Dr. Silvânia Maria Mendes Vasconcelos.
Coorientação: Prof. Dr. Fábio Miyajima.
1. esquizofrenia. 2. quinpirole. 3. receptor D2. 4. estresse peripuberal. 5. neurodesenvolvimento. I.
Título.

CDD 615.1

MANUEL ALVES DOS SANTOS JÚNIOR

MODELO DE ESQUIZOFRENIA INDUZIDO PELO *PRIMING* DE RECEPTORES D2:
INFLUÊNCIA DO SEXO E DO ESTRESSE PERIPUBERAL

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Farmacologia. Área de concentração: Neurofarmacologia.

Orientadora: Profa. Dra. Silvânia Maria Mendes Vasconcelos

Co-orientador: Prof. Dr. Fabio Miyajima

Aprovada em: ___/___/_____.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Fabio Miyajima (Co-orientador)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof^a. Dr^a. Danielle Silveira Macedo
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof^a. Dr^a. Rita Neuma Dantas Cavalcante de Abreu
Universidade de Fortaleza (UNIFOR)

Aos meus pais, Manoel e Geralda.

AGRADECIMENTOS

À minha mãe Geralda Ribeiro (in memoriam) e ao meu pai, Manoel Alves, pelo exemplo de homem corajoso, determinado, destemido e altruísta que sempre foi e será para mim. Pelo contínuo apoio em todas as decisões da minha vida. Minha eterna gratidão pelo Pai e porto seguro que és para mim. À minha família excepcional. Tenho vários motivos para ser grato a cada um de vocês. Às minhas sobrinhas, Lorena e Emmanuely, que são como irmãs e melhores amigas para mim. Gratidão!

À Profa. Silvânia Vasconcelos pela orientação durante o mestrado, pelo aprendizado, conquistas e paciência. Grato pelo exemplo de profissionalismo e de ser humano gentil e altruísta.

À professora Danielle Macêdo, ao Prof. Fábio e à Profa. Rita Neuma, pelas valiosas colaborações e sugestões.

Aos meus amigos do Laboratório de Neuropsicofarmacologia, em especial a Germana Vasconcelos, Naiara Ximenes, Ingridy, Luna, por todo o apoio nos experimentos realizados e conselhos intelectuais. Eliclécio, Aline, Tatiane, Caren Soares, Giovana, Rafaela, pela amizade, e pelos momentos de descontração.

A minha gratidão a todos!

“Escrever é uma forma socialmente aceitável
de esquizofrenia.”

Edgar Lawrence Doctorow

RESUMO

MODELO DE ESQUIZOFRENIA INDUZIDO PELO *PRIMING* DE RECEPTORES

D2: INFLUÊNCIA DO SEXO E DO ESTRESSE PERIPUBERAL

A esquizofrenia é um transtorno mental grave, crônico e incapacitante que afeta o pensamento, percepção e comportamento do indivíduo acometido. É um transtorno poligênico com contribuições de fatores desenvolvimentais e ambiental. Um dos principais achados fisiopatológicos em pacientes com esquizofrenia é o aumento da sensibilidade do receptor de dopamina D2, sem alteração na densidade desses receptores. Para um melhor entendimento da heterogeneidade e complexidade dos sintomas da esquizofrenia, é necessário desenvolver modelos experimentais com maior validade translacional. O objetivo do presente estudo foi investigar a influência do sexo e do estresse peripuberal em um modelo de esquizofrenia induzida pelo *priming* de receptores D2 em camundongos. Camundongos *Swiss* machos e fêmeas foram tratados com quinpirole (QNP 1 mg/kg; i.p.) durante os dias pós-natais (DPN) 3 ao 13. Seguidos de exposição a eventos estressante na infância (DPN 22-30). Os animais foram divididos nos seguintes grupos: salina (Sal); QNP; salina+estresse na infância (EST); QNP+EST para animais machos e fêmeas. No DPN 60 os animais foram submetidos aos testes de comportamento de campo aberto, labirinto em cruz elevado, sociabilidade e preferência por novidade social e inibição pré-pulso. Após a realização dos testes, as áreas do córtex pré-frontal, hipocampo e estriado foram dissecadas para análise dos níveis de monoaminas. Os resultados mostraram que os animais machos e fêmeas quando submetidos ao *priming* de receptor D2 apresentaram hipolocomoção quando comparados aos controles. Apenas os machos expostos ao estresse na infância apresentaram um aumento da atividade locomotora quando comparado aos animais controle. A sensibilização por QNP afetou a atividade exploratória nas fêmeas em relação ao grupo salina. O *priming* de receptor D2 não alterou o perfil de comportamento estereotipados de *self-grooming* em ambos os sexos. Somente no grupo dos machos houve uma diminuição desses comportamentos quando expostos ao estresse somado ao *priming* de D2. Ambos os sexos, os animais tratados com QNP neonatal apresentaram um aumento na defecação comparado com os grupos salina. As fêmeas apresentaram um perfil de hipolocomoção e aumento de defecação, sugerindo que as fêmeas submetidas ao *priming* de D2 apresentam um aumento na resposta emocional. Além disso, os animais submetidos ao *priming* de D2 apresentaram menos comportamento tipo-ansioso (machos mais que as fêmeas). Ambos se demonstraram menos sociáveis e com déficit de IPP. Quando expostos tanto ao *priming* de receptor D2 quanto estresse na infância, os animais não apresentaram o mesmo conjunto de alterações ou uma exacerbação dos mesmos. As fêmeas continuaram apresentaram hipolocomoção (os machos uma menor atividade exploratória). As fêmeas apresentaram menor sociabilidade e déficits de memória social, enquanto os machos não apresentaram déficit social. Ambos não apresentaram déficits de IPP. O *priming* de receptor D2 produz um aumento de dopamina estriatal. Em conjunto, nossos achados sugerem que o *priming* de receptor D2 induz alterações comportamentais semelhantes a esquizofrenia quando adultos e houve uma influência do sexo. As fêmeas apresentaram um perfil mais semelhante ao componente afetivo da esquizofrenia. Os machos submetidos ao *priming* de receptor D2 e exposto aos eventos estressantes na infância apresentam sintomas tipo-esquizofrenia, enquanto as fêmeas não apresentaram. Faz-se necessário a idealização de experimentos adicionais para se avaliar os mecanismos neurobiológicos alterados utilizando-se este modelo animal.

Palavras-chave: esquizofrenia; quinpirole; receptor D2; estresse; neurodesenvolvimento.

ABSTRACT

MODEL OF SCHIZOPHRENIA INDUCED BY DOPAMINE D2 RECEPTORS

PRIMING: INFLUENCE OF SEX AND PERIPUBERTAL STRESS

Schizophrenia is a severe and chronic mental disorder that affects the thinking, feeling and behavior of the patients. Characterized as a complex syndrome with a combination of heterogenous symptoms, is widely acknowledged to be a polygenic disorder with developmental and environmental factors mediating the probability of becoming a schizophrenic. One of the major pathophysiological findings in patients with schizophrenia is the increased sensitivity of the dopamine D2 receptor, with no change in the density of these receptors. Postnatal exposure to psychological trauma is a risk factor for developments in psychiatric disorders such as schizophrenia. Consistent evidence from several studies has identified childhood trauma as a putative risk factor for the development of schizophrenia. For a better understanding of the heterogeneity and complexity of the symptoms of schizophrenia, it is necessary to develop experimental models with greater translational validity. We aimed to investigate the behavioral and neurochemical changes in adult mice submitted to D2 receptor priming induced by neonatal quinpirole administration in addition to exposure to childhood stressful events. Male and female *Swiss* mice were treated with quinpirole (QNP 1 mg / kg; i.p.) during the postnatal day (PND) 3 to 13. Following exposure to stressful events in childhood (PND 22-32). The animals were divided into the following groups: saline (Sal); QNP; saline + stress in childhood (EST); QNP + EST for both male and female animals. In the DPN 50 the animals were submitted to tests of open field, elevated plus-maze, sociability and preference for social novelty and pre-pulse inhibition. After the tests were performed, the areas of the prefrontal cortex, hippocampus and striatum were dissected for analysis of the levels of monoamines. The results showed that the male and female animals submitted to D2 receptor priming presented hypolocomotion when compared to controls. Only males exposed to stress in childhood showed an increase in locomotor activity when compared to control animals. Sensitization by QNP affected the exploratory activity in females in relation to the saline group. The D2 receptor priming did not alter the stereotyped behavior profile of self-grooming in both sexes. Only in the group of males was there a decrease in these behaviors when exposed to stress added to the priming of D2. Both sexes, animals treated with neonatal QNP showed an increase in defecation compared to saline groups. The females showed a profile of hypolocomotion and increased defecation, suggesting that females submitted to D2 priming showed an increase in emotional response. In addition, animals submitted to D2 priming showed less anxiety-like behavior (males than females). Both were less sociable and had a PPI deficit. When exposed to both D2 receptor priming and childhood stress, the animals did not present the same set of changes or an exacerbation of the same. The females continued to exhibit hypolocomotion (the males had a lower exploratory activity). Females presented lower sociability and social memory deficits, while males did not present social deficit. Both had no PPI deficits. Taken together, our findings suggest that D2 receptor priming induces behavioral changes like schizophrenia when adults and there was an influence of gender. The females presented a behavioral profile similar to the affective component of schizophrenia. Males subjected to D2 receptor priming and exposed to stressful events in childhood presented schizophrenia-like symptoms, while females did not present. It is necessary to perform additional experiments to evaluate the neurobiological mechanisms studying this animal model.

Keywords: schizophrenia; quinpirole; D2 receptor; stress; neurodevelopment.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 Sintomas da esquizofrenia.....	13
Figura 2 Vias dopaminérgicas e suas regiões específicas	18
Figura 3 Características estruturais dos receptores de dopamina D1 e D2 em humanos	20
Figura 4 Vias de sinalização reguladas pelo receptor de dopamina D2	22
Figura 5 Modelos animais de esquizofrenia	24
Figura 6 Representação esquemática do desenho experimental.....	33
Figura 7 Representação real e esquemática do teste de campo aberto e os parâmetros analisados	36
Figura 8 Representação do teste de labirinto em cruz elevado.....	37
Figura 9 Representação do teste de interação social e preferência por novidade social.	39
Figura 10 Representação didática de inibição pré-pulso	40
Figura 11 Imagem explicativa do aparelho para teste de inibição pré-pulso	41
Figura 12 Efeito do quinpirole neonatal, estresse na infância e quinpirole associado ao estresse na média do número de cruzamentos em camundongos machos e fêmeas.....	46
Figura 13 Efeito do quinpirole neonatal, estresse e quinpirole somado ao estresse na média do número de rearings em camundongos machos e fêmeas.....	47
Figura 14 Efeito do quinpirole neonatal, estresse e quinpirole somado ao estresse na média do número de eventos de self-grooming em camundongos machos e fêmeas.	48
Figura 15 Efeito do quinpirole neonatal, estresse e quinpirole somado ao estresse na média do número de bolos fecais em camundongos machos e fêmeas.....	49
Figura 16 Efeito do quinpirole neonatal, estresse e quinpirole associado ao estresse na média do número entrada nos braços abertos, tempo de permanência nos braços abertos, número de entrada nos braços fechados e tempo de permanência nos braços fechados em camundongos machos e fêmeas.....	52
Figura 17 Efeito do quinpirole neonatal, estresse e quinpirole associado ao estresse na razão de exploração dos braços fechados em relação aos braços abertos em camundongos machos e fêmeas.....	53
Figura 18 Efeito do quinpirole neonatal, estresse e quinpirole associado ao estresse na porcentagem de interação social em camundongos machos e fêmeas.	55
Figura 19 Efeito do quinpirole neonatal, estresse e quinpirole associado ao estresse na porcentagem de preferência social por novidade em camundongos machos e fêmeas.	56

Figura 20 Efeito do quinpirole neonatal, estresse e quinpirole associado ao estresse na porcentagem de inibição pré-pulso em camundongos machos e fêmeas.	57
Figura 21 Efeito do quinpirole neonatal, estresse e quinpirole associado ao estresse níveis de dopamina e serotonina no corpo estriado de camundongos machos e fêmeas.....	59
Figura 22 Resumo gráfico dos resultados obtidos nos testes comportamentais.....	60

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 Organização dos grupos experimentais33

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

5-HIAA	Ácido 5-indolacético
5-HT1	Receptor 1 da 5-hidroxitriptamina ou serotonina
8-OH-DPAT	8-hidroxi-2-(di-n-amino-propilamina) tetralina
ACC	Córtex Cingulado Anterior
ANOVA	Análise de variância
CETC	Córtico-estriado-tálamo-cortical
COMT	Catecol-o-metiltransferase
DA	Dopamina
DOPAC	Ácido 3,4-di-hidroxifenilacético
DPN	Dia pós-natal
DSM-V	Manual de Diagnóstico de Doenças Mentais 5ª edição
EST	Estresse
GABA	Ácido γ -aminobutírico
GPe	Globo pálido externo
GPi	Globo pálido interno
HVA	Ácido homovanílico
IL-1 β	Interleucina 1 β
IL-6	Interleucina 6
IPP	Inibição pré-pulso
mCPP	m-clorofenilpiperazina
NE	Norepinefrina
OFC	Córtex orbito-frontal
QNP	Quinpirole
SAL	Salina
SNr	Substância negra
STN	Núcleo subtalâmico
TOC	Transtorno Compulsivo-Obsessivo

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
1.1 Esquizofrenia	11
1.2 Aspectos epidemiológicos atuais da esquizofrenia.....	12
1.3 Sintomatologia da esquizofrenia	13
1.4 Neurobiologia da Esquizofrenia	15
1.5 Neurobiologia da dopamina na Esquizofrenia.....	16
1.6 Uso de modelos animais para estudo da esquizofrenia	22
1.6.1 Modelos animais de Esquizofrenia	23
1.7 Modelo de <i>priming</i> de receptor de dopamina D2.....	24
1.8 Eventos estressores e a etiologia da Esquizofrenia	26
2 RELEVÂNCIA E JUSTIFICATIVA	28
3 OBJETIVOS	30
3.1. GERAL	30
3.2. ESPECÍFICOS	30
4 MATERIAIS E MÉTODOS	31
4.1 Animais	31
4.2 Substâncias utilizadas	31
4.3 Protocolo experimental	32
4.4. Exposição a estressores ambientais.....	34
4.5 Testes comportamentais.....	35
4.5.1 Teste de campo aberto	35
4.5.2 Teste de labirinto em cruz elevado	36
4.5.3 Teste de sociabilidade e preferência por novidade social.....	37
4.5.5 Teste de Inibição Pré-pulso (IPP).....	39
4.6 Testes neuroquímicos	42
4.6.1 Dissecção das regiões cerebrais	42
4.6.2 Determinação de neurotransmissores por HPLC	42
5 ANÁLISE ESTATÍSTICA	44
6 RESULTADOS	45
6.1 Resultados das alterações comportamentais.....	45

<i>6.1.1 Teste do campo aberto</i>	45
<i>6.1.2 Teste de labirinto em cruz elevado</i>	49
<i>6.1.3 Teste de sociabilidade e preferência por novidade social</i>	54
<i>6.1.4 Teste de inibição pré-pulso</i>	56
<i>6.1.5 Determinação dos níveis de dopamina e serotonina no corpo estriado</i>	58
7 DISCUSSÃO	61
8 CONCLUSÃO	70
REFERÊNCIAS	71

1 INTRODUÇÃO

1.1 Esquizofrenia

Descrições sobre a loucura, no seu sentido mais amplo – como um comportamento incontrolável, ininteligível e irracional – podem ser encontradas na Bíblia, na Mesopotâmia, Grécia, Literatura Latim e, também, em escrituras de várias culturas orientais (ELLARD, 1987; HALDIPUR, 1984; SCODEL, 1996). Os desafios acerca da esquizofrenia não estão limitados as causas da doença, mas também das origens histórias desse transtorno. A história da esquizofrenia é um quebra-cabeça. Distorções graves do pensamento e dos sentimentos podem definir esquizofrenia, sendo um dos transtornos mentais mais sérios e incapacitantes. Os critérios de diagnóstico atuais especifica uma desordem que pode ser diretamente relacionada com as descrições clínicas detalhadas de Kraepelin e Breuler no final do século XIX (HEINRICHS, 2003). Entretanto, os relatos de Haslam e Pintel são comumente considerados como os casos mais antigos de esquizofrenia da literatura médica e psiquiátrica (GOTTESMAN; I.; GOTTESMAN, 1991).

Em contraste, relatos histórico mostram que doenças semelhantes ao diagnóstico atual de esquizofrenia sempre esteve presente ao longo de vários períodos históricos e diferentes culturas (TURNER, 1992). Antes do conceito introduzido na literatura psiquiátrica por Kraepelin em 1893, existiam relatos médicos, biográficos, religiosos sobre o que se conhecia na época como “loucura” que não distinguiam a esquizofrenia de outros tipos de insanidade (GORDON, 2013).

Considerando *dementia praecox* (demência precoce), as suas definições e delimitações clínicas tem mudado ao longo desse século, sendo sua etiologia e fisiopatologia ainda elusiva (TANDON et al., 2013). Apesar de atualmente existir um diagnóstico definido confiável, a esquizofrenia essencialmente permanece sendo uma ampla síndrome clínica definida por relato de experiências subjetivas (sintomas), perda de função, incapacitante (prejuízos comportamentais) e uma progressão com padrão variável (JABLENSKY, 2010).

Até o presente momento o melhor entendimento sobre esse transtorno, é que a esquizofrenia apresenta uma expressão fenotípica variável e pouco compreendida, com uma etiologia complexa, envolvendo uma forte contribuição genética (variando entre 60-80%),

assim como, fatores ambientais e sua interação com a susceptibilidade genética (JABLENSKY, 2010; SALLEH, 2004).

1.2 Aspectos epidemiológicos atuais da esquizofrenia

A esquizofrenia está entre as principais doenças incapacitantes e com impacto negativo na economia, sendo classificada pela Organização Mundial de Saúde (OMS) uma das principais 10 doenças com maior impacto para saúde mundialmente (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2008). Esse transtorno tem ocorrência distribuída por todo o globo. A prevalência da esquizofrenia na população mundial é estimada em 1% internacionalmente. E sua incidência, ou seja, o número de casos novos anualmente, gira em torno de 1,5 por 10.000 habitantes. Todavia, existem variabilidade populacional associada com endogamia (MCGRATH et al., 2008).

O início precoce e a tendência à cronicidade da esquizofrenia fazem com que ela seja uma desordem de prevalência relativamente alta (AYANO, 2016). Frequentemente o início dos sintomas desse transtorno ocorre durante adolescência; o início durante a infância ou tardio (após 45 anos) são raros (GIBSON et al., 2014). A esquizofrenia precoce, definida como ocorrendo antes dos 18 anos de idade, e a esquizofrenia infantil, antes dos 13 anos, compartilham os mesmos sintomas de diagnóstico com a esquizofrenia de início adulto, mas seus prognósticos e comorbidades diferem. Ainda não está claro por que o transtorno de início precoce frequentemente tem sintomas mais severos (DRIVER; GOGTAY; RAPOPORT, 2013).

No geral a incidência é maior no sexo masculino do que no feminino (MCGRATH et al., 2004), com uma razão de 1,4:1 (KRABBENDAM; ALEMAN, 2003). As mulheres tendem a ter um diagnóstico mais tardio ao longo da vida que o homem. A idade média de início é entre 18-25 para os homens e entre 25-35 para as mulheres, com um segundo pico ocorrendo perto da menopausa (ABEL; DRAKE; GOLDSTEIN, 2010). Alguns indícios mostram que o prognóstico é pior para homens (USALL et al., 2003).

A esquizofrenia está associada com problemas sociais, econômicos e, primariamente, de saúde. Está alencada como uma das 15 principais causas de incapacidade ao redor do mundo (VOS et al., 2017). Os indivíduos com esquizofrenia têm um risco aumentado de morte prematura em relação a população geral. Nos Estados Unidos, a idade média de mortalidade dos pacientes com esquizofrenia gira em torno de 28,5 anos. A ocorrência de

comorbidade como doença cardiovascular, doença hepática e diabetes, são fatores que contribuem para a mortalidade prematura entre esses pacientes (SIMON et al., 2018;OLFSON et al., 2015). Uma estimativa de 4,9% dos indivíduos com esquizofrenia morrem por suicídio, uma taxa maior que a população em geral, tendo esse risco aumentado nos primeiros anos da doença (PALMER; PANKRATZ; BOSTWICK, 2005).

1.3 Sintomatologia da esquizofrenia

A esquizofrenia é um transtorno mental grave e crônico que afeta o pensamento, sentimento e comportamento do indivíduo acometido. Indivíduos com esquizofrenia parecem perder o contato com a realidade. Caracterizada como uma complexa síndrome com uma combinação de sintomas heterogêneos (KAHN et al., 2015). Os sintomas que caracterizam a esquizofrenia, mas não exclusivos, podem ser divididos em categorias como “positivos”, “negativos” e “cognitivos” (Figura 1). Sintomas “positivos” são caracterizados por comportamentos e pensamentos que não são normalmente presentes, como, por exemplo, psicose recorrente, alucinações e discurso e comportamento desorganizados. Além desses sintomas, a síndrome amotivacional é caracterizada por sintomas “negativos”, os quais incluem déficit social, embotamento afetivo, anedonia (a incapacidade de sentir prazer) e energia e iniciativa diminuídas. Por fim, os sintomas “cognitivos” são expressos como um vasto conjunto de disfunções cognitivas (KAHN et al., 2015).

Figura 1 Sintomas da esquizofrenia

Sintomas “positivos”	Sintomas “negativos”	Sintomas cognitivos
<p>Sintomas aberrantes: Indicam que os indivíduos perderam a ligação com a realidade</p> <ul style="list-style-type: none"> • Alucinações • Ilusões • Pensamento e discursos desorganizados 	<p>Sintomas deficitários: Refletem a ausência de características normais.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Anedonia • Associabilidade • Apatia • Avolição 	<p>Prejuízo cognitivo generalizado Anormalidades de pensamentos e habilidades</p> <ul style="list-style-type: none"> • Aprendizado • Memória • Cognição social

Figura representando as classificações dos sintomas da esquizofrenia. Fonte: próprio autor.

O conceito de um *continuum* ou *spectrum* de fenótipos relacionados à esquizofrenia origina-se nas observações de diferentes transtornos que tendem a ser classificados em um grupo transtornos relativos clínicos semelhantes a indivíduos com esquizofrenia (SULLIVAN, 2005). Quando se considera as primeiras investigações sobre a categorização dos sintomas da esquizofrenia, o conceito de “enfraquecimento” geral de processos neuronais que resultam em um “defeito” ou “imperfeição” no funcionamento neuronal foi considerado como o pilar da *dementia praecox* de Kraepelin. Cujo principais estudos sugeriram que os precursores de “defeitos neuronais” podem ser detectados no início da doença, ocorrendo simultaneamente com sintomas “produtivos” ou “aflorados” (ADITYANJEE et al., 1999). A partir dos anos 1970, os termos como sintomas “produtivos” e “defeituosos” foram substituídos por sintomas “positivos” e “negativos”, respectivamente (STRAUSS; CARPENTER; BARTKO, 1974).

Os sintomas “positivos” compreendem alucinações (vozes que conversam com ou sobre o paciente), ilusões (por exemplo, paranoia) e distúrbio do pensamento. Esses sintomas são principalmente tratados pelos antipsicóticos “típicos” (ROSS et al., 2006). Muitos pacientes com esquizofrenia apresentam os sintomas “negativos”, que incluem reação e expressão emocional diminuída (embotamento afetivo), redução do interesse e das interações sociais (associabilidade), redução da capacidade de sentir prazer (anedonia), disfunção da comunicação (alogia) e redução do desejo, da motivação e da persistência (apatia ou avolição) (BLANCHARD; COHEN, 2006). Os sintomas “negativos” podem ser mais debilitantes e menos responsivos aos tratamentos.

Os sintomas “cognitivos” são considerados entidades distintas dos sintomas “negativos”, apesar de haver de sobreposição entre os conceitos. A esquizofrenia é caracterizada por um prejuízo cognitivo generalizado. Os principais domínios cognitivos disfuncionais na esquizofrenia são a atenção ou vigilância, velocidade de processamento de informações, memória de trabalho, aprendizado e memória verbal, memória e aprendizado virtual, resolução de problemas e cognição social (KAHN; KEEFE, 2013).

1.4 Neurobiologia da Esquizofrenia

A esquizofrenia é um transtorno poligênico com fatores desenvolvimentais e ambientais mediando a probabilidade de um indivíduo em se tornar esquizofrênico (LEWIS; LIEBERMAN, 2000). Esse transtorno é altamente hereditário (taxa de hereditariedade de 0,8), entretanto a genética e a interpretação dos estudos genéticos são complexas e difíceis. Contudo, atualmente, os avanços nas análises fenotípicas, neuroimagem, genética, epigenética e patologia molecular formam a base para compreensão da neurobiologia e fisiopatologia da doença. (ROSS et al., 2006). A esquizofrenia pode ser entendida, ao menos em parte, como um transtorno sutil do desenvolvimento do cérebro, que pode superar os fatores genéticos da doença (ARNOLD; TALBOT; HAHN, 2004; RAPOPORT; GIEDD; GOGTAY, 2012). Assim como, um papel etiológico de mutações e polimorfismos em uma porção de genes nos sintomas e subtipos da doença (CHEN; LIPSKA; WEINBERGER, 2006; CRADDOCK; OWEN; O'DONOVAN, 2006).

Estudos de neuroimagem permitiram investigar a função e estruturas das vias neuronais implicadas na esquizofrenia. As principais anormalidades encontradas incluem alargamento do terceiro ventrículo e do lateral; redução do volume do lobo temporal médio (formação hipocampal, giro parahipocampal); redução do volume do giro temporal superior. Além de redução do volume do lobo frontal, particularmente as regiões do pré-frontal e orbito-frontal e anormalidades do lobo parietal. Também são evidentes anormalidades no tálamo, corpo caloso, núcleos basais (ANTONOVA et al., 2004; HONEA et al., 2005).

A compreensão da neurobiologia da esquizofrenia avançou no último século, evoluindo da teoria etiológica unicausal para modelos mais complexos (ARARIPE NETO; BRESSAN; BUSATTO FILHO, 2007). Sendo relacionada, mas não limitada a: i) alterações nos sistemas neurotransmissores, tais como dopaminérgicos e glutamatérgicos (BUCKLEY; STAHL, 2007); ii) alterações nas neurotrofinas (FAVALLI et al., 2012); iii) desequilíbrio oxidativo (ZHANG et al., 2010) e iv) alterações em óxido nítrico (ON) (BERNSTEIN; BOGERTS; KEILHOFF, 2005).

Achados neuropatológicos e neuroanatômicos em pacientes com esquizofrenia propuseram que o surgimento de disfunção da organização estrutural durante o desenvolvimento cerebral precoce ocorre devido uma maturação sináptica alterada no período pós-natal (BAYER *et al.*, 1999). Muitos estudos mostram a associação entre a incidência de

processos inflamatórios durante o período vulnerável de desenvolvimento do SNC e o risco aumentado de desordens psiquiátricas como a esquizofrenia (TEJKALOVÁ *et. al.*, 2012).

Várias hipóteses, incluindo hipofunção glutamatérgica, déficit gabaérgico, níveis de dopamina alterados e prejuízos neurodesenvolvimentais têm sido propostas para contribuir para a fisiopatologia da esquizofrenia (VAN OS; KAPUR, 2009). Evidências clínicas e experimentais sugerem uma teoria neurodesenvolvimental da esquizofrenia, esta postula que anormalidades no desenvolvimento neuropsicomotor precoce é uma possível causa da doença (MURRAY; LEWIS, 1987; WEINBERGER, 1987). Durante o período pré-natal o feto está altamente sensível aos efeitos nocivos induzidos por insultos ambientais que podem levar a alterações biológicas persistentes ao longo da vida do indivíduo (MEYER, 2014).

Atualmente há estudos que demonstram anormalidades neurodesenvolvimentais em pacientes com esquizofrenia: redução do volume de neurópilo do córtex cerebral sem perda neuronal aparente (SELEMON; GOLDMAN-RAKIC, 1999). Estudos neuropatológicos, imunohistoquímicos, e estruturais sugerem a ocorrência de déficits qualitativos e quantitativos no processo neuronal e conectividade sináptica na esquizofrenia (GLAUSIER; LEWIS, 2013).

1.5 Neurobiologia da dopamina na Esquizofrenia

A hipótese dopaminérgica da esquizofrenia foi inicialmente baseada nos estudos de Arvid Carlsson (CARLSSON *et al.*, 2001; CARLSSON; LINDQVIST; MAGNUSSON, 1957; CREESE; BURT; SNYDER, 1976; SNYDER *et al.*, 1970). Estudos *post-mortem* de pacientes com Esquizofrenia geram suporte para a hipótese de alterações de vários neurotransmissores como, dopamina, glutamato, serotonina e GABA (HOWES *et al.*, 2013; SELVARAJ *et al.*, 2014). A análise com marcadores moleculares da função dopaminérgica no *post-mortem* de pacientes reportam que há uma expressão aumentada na população de receptores de dopamina no corpo estriado (KAALUND *et al.*, 2014).

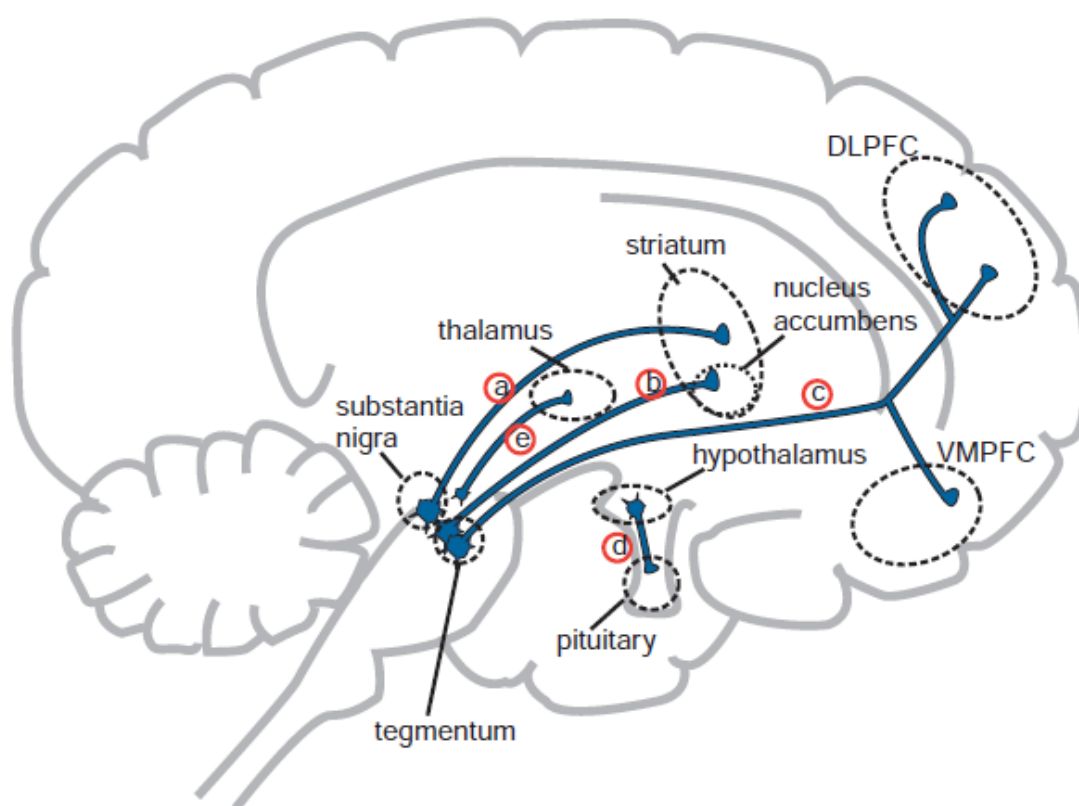
Evidência farmacológicas sugerem que fármacos dopaminomiméticos induzem estados de paranoia e comportamento bizarro, enquanto fármacos dopaminolíticos são bons agentes antipsicóticos (ROSS *et al.*, 2006). Estudos de ativação região-específico por neuroimagem molecular funcional têm revelado que há um aumento da recaptação de dopamina no estriado em indivíduos com esquizofrenia, psicose ou em estado prodromico;

além disso, esse aumento de recaptação pré-sináptica de dopamina está ligado com a atividade do pré-frontal (FUSAR-POLI et al., 2013; MEYER-LINDENBERG et al., 2002).

A hipótese dopaminérgica da esquizofrenia foi proposta na década de 60 quando o primeiro antipsicótico, clorpromazina, tratou com sucesso os sintomas “positivos” de pacientes esquizofrênicos. A hipótese da hiperatividade dopaminérgica baseia-se em evidências de que neurolépticos que antagonizam receptores de dopamina (DA) do tipo D2, os quais são pertencentes à classe dos receptores acoplados à proteína G, são eficazes no tratamento de sintomas “positivos” (CARLSSON; LINDQVIST, 1963). Além disso, fármacos que aumentam a atividade da dopamina, como anfetaminas, pioram os sintomas positivos da esquizofrenia (ANGRIST; KAMMEN, 1984)

A neurotransmissão dopaminérgica no Sistema Nervoso Central é mediada por cinco principais vias (Figura 2), que são: (a) A via nigroestriatal, com os corpos celulares na substância nigra *pars compacta* (SNc) e as projeções dopaminérgicas vão para o estriado dorsal; (b) A via mesolímbica, com fibras que se projetam da área tegmentar ventral (ATV) para o estriado ventral, o que inclui o núcleo accumbens, o núcleo caudado e estruturas do sistema límbico como o hipocampo e a amígdala (LUO; HUANG, 2016); (c) a via mesocortical que tem projeções da ATV para o córtex pré-frontal; (d) a via tuberoinfundibular, cujas fibras nervosas se projetam do hipotálamo para a hipófise anterior; e (e) a via incerto-hipotalâmica, caracterizada como projeções curtas que saem da zona incerta para o hipotálamo. Acredita-se que essa via tenha um papel no comportamento sexual (ALBANESE; ALTAVISTA; ROSSI, 1986; SITA; ELIAS; BITTENCOURT, 2007).

Figura 2 Vias dopaminérgicas e suas regiões específicas



As cinco principais vias dopaminérgicas cerebrais. a) via dopaminérgica nigro-estriatal; b) mesolímbica; c) mesocortical; d) tuberoinfundibular; e) incerto-hipotalâmica. Abreviaturas: DLPC – córtex pré-frontal dorsolateral; VMPFC - córtex pré-frontal ventro-medial. (STAHL, 2014)

Nessa teoria dopaminérgica acredita-se que os sintomas “positivos” da doença ocorrem como resultado da hiperfunção dopaminérgica no corpo estriado (ABI-DARGHAM; MOORE, 2003), enquanto os sintomas “negativos” e déficits cognitivos ocorrem devido a uma diminuição de dopamina pré-frontal provavelmente causada por uma hipofunção glutamatérgica (ANDREASEN et al., 1999). Esses fatores são resultantes de um desequilíbrio entre o sistema dopaminérgico cortical e subcortical que são relacionados funcionalmente via sistema glutamatérgico, sugerindo que sua disfunção poderia também precipitar sintomas psicóticos (WARDAS et al., 2003).

Tem sido proposto que pacientes com esquizofrenia apresentam um déficit funcional de dopamina no córtex pré-frontal. Uma consideração sobre a disfunção dopaminérgica nesse transtorno é a relação oposta entre liberação de dopamina no estriado e o córtex pré-frontal. Diversos estudos têm mostrado que a atividade do córtex pré-frontal diminuída pode estar

correlacionada com a liberação exagerada de DA no estriado (MEYER-LINDENBERG et al., 2002).

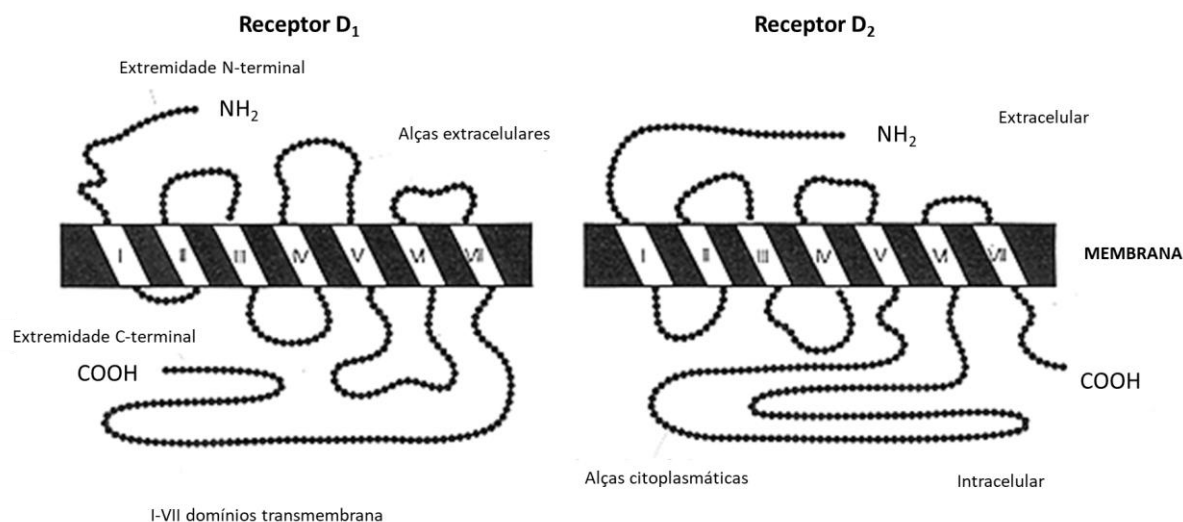
Uma alteração neuronal geralmente proposta é a hiperatividade dopaminérgica, particularmente através do aumento da função do receptor de dopamina D₂, assim como uma disfunção serotoninérgica (SELVARAJ et al., 2014) e uma hipofunção do receptor de glutamato *N*-metil-*D*-aspartato (NMDA) (COHEN et al., 2015). O aumento da ativação do receptor de dopamina D₂ (RD₂) parece desempenhar um papel majoritário nos comportamentos anormais observados na esquizofrenia (NIKAM; AWASTHI, 2008).

1.6 Dopamina e seus receptores

Em 1957, o farmacologista Arvid Carlsson mostrou que a dopamina ou 5-hidroxitiramina, um metabólito do aminoácido tirosina, era mais que uma molécula precursora da norepinefrina e funcionava como um neurotransmissor (CARLSSON, 1993). Atualmente, sabe-se que a dopamina tem um papel importante para diversas funções cerebrais (por exemplo, processo de aprendizagem, recompensa, controle motor, resposta emocional e funções executivas), e está envolvida na patogênese de várias doenças psiquiátricas e neurológicas (KO; STRAFELLA, 2012).

A variedade de funções fisiológicas controladas pela DA no cérebro e órgãos periféricos é mediada pelos receptores D1, D2, D3, D4 e D5. Esses receptores são divididos em dois grandes grupos, a classe de receptores D1 e D2 com diferenças estruturais bem definidas (Figura 3). Os receptores de dopamina são receptores de sete domínios transmembrana (7DT), também conhecidos como receptores acoplados a proteína G. Essa classificação é geralmente baseada em evidências bioquímicas que mostram que a dopamina é capaz de modular a atividade da adenilil ciclase (AC) (BEAULIEU; GAINETDINOV, 2011). Os receptores D1 e D5 fazem parte da classe de receptores D1, que são capazes de acoplar-se à proteína G α_s (estimulatória) induzindo assim a produção do segundo mensageiro AMP cíclico. Enquanto que os receptores D2, D3 e D4 fazem parte da classe de receptores D2, os quais podem acoplar-se à proteína G α_i (inibitória) inibindo a produção de AMPc (KEBABIAN, 1978; SPANO; GOVONI; TRABUCCHI, 1978).

Figura 3 Características estruturais dos receptores de dopamina D1 e D2 em humanos



Fonte: Adaptado de (CROCKER, 1993).

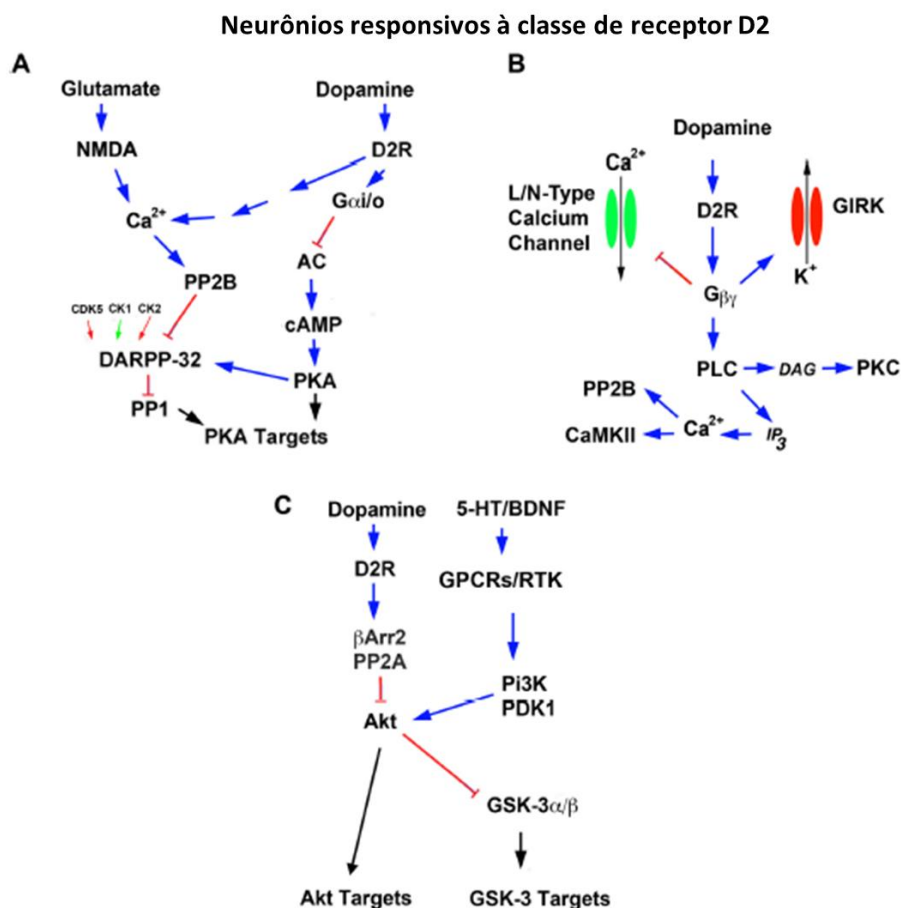
Os receptores dopaminérgicos possuem um amplo perfil de expressão no cérebro e na periferia. No cérebro, os receptores D1 são expressos em uma alta densidade nas áreas que compreendem as vias mesolímbicas, mesocortical e nigroestriatal; assim como, o caudado-putamen no estriado, núcleo accumbens, substância nigra, bulbo olfatório, amígdala e no córtex frontal. Também são expressos em menor densidade no hipocampo, cerebelo, áreas talâmicas e hipotalâmicas (SIBLEY; MONSMA, 1992). Levando em consideração os receptores D2, os níveis mais altos de receptores D2 são encontrados no estriado, no núcleo accumbens, e no tubérculo olfatório. Também são expressos em níveis significantes em áreas corticais, substância nigra, área tegmental ventral, septo, amígdala, hipotálamo e hipocampo (GERFEN, 2000; MISSALE et al., 1998; SEEMAN, 2006; VALLONE; PICETTI; BORRELLI, 2000). Os receptores D3 possuem um padrão de distribuição mais limitado sendo observado em áreas límbicas, como a parte externa no núcleo accumbens (*shell*), tubérculo olfatório e nas ilhas de Calleja. Em menores proporções, podem ser encontrado no *striatum*, na substância nigra *pars compacta*, ATV, hipocampo, área septal e várias áreas corticais (SOKOLOFF et al., 1992).

O papel funcional dos diferentes receptores de dopamina tem sido extensivamente estudado. As funções mais discutidas nesse presente estudo foram as desempenhadas pelo receptor D2/D3. As principais funções do receptor D2 parecem estar mais relacionadas com a predominância do tipo de autoreceptores que estão envolvidos com a regulação pré-sináptica do disparo de potencial de ação, síntese e liberação de dopamina. Existem duas variantes

splice de receptor D2, uma longa e uma curta (denominados como D2L *long* e D2S *short*). Tendo diferentes distribuições nos neurônios, o D2S está localizado predominantemente no terminal pré-sináptico e o D2L no terminal pós-sináptico (USIELLO et al., 2000).

Muitas funções são exercidas pela ativação de receptores de dopamina. Os receptores D1, D2 e em menor proporção, o D3 estão intimamente envolvidos com recompensa e mecanismos reforçadores (KOOB; VOLKOW, 2010). Tanto D1 quanto D2 parecem ter um papel crítico para mecanismos de memória, memória de trabalho, que são mediadas pelo córtex pré-frontal. De outra forma, D3 e D4 têm uma influência modulatória em aspectos específicos nas funções cognitivas mediadas pela formação hipocampal (MISSALE et al., 1998; RONDOU; HAEGEMAN; VAN CRAENENBROECK, 2010; SOKOLOFF et al., 1992). A resposta fisiológica celular desencadeada pela ativação dos receptores D2 é mediada pelos mecanismos de sinalização dos receptores de sete domínios transmembranas. As vias de sinalização ativadas pelos neurônios que expressam receptores D2 estão resumidas na figura 4.

Figura 4 Vias de sinalização reguladas pelo receptor de dopamina D2



Vias de sinalização reguladas pela dopamina em neurônios que respondem ao receptor de dopamina de classe D2. A) regulação da sinalização G_s/AMPC/PKA por receptores da classe D2; B) regulação da sinalização G_{βγ} por receptores da classe D2. C) regulação da sinalização da β-arrestina 2/Akt/GSK-3 pelo receptor de dopamina D2 e D3. A ação de outros neurotransmissores, fatores de crescimento e neurotrofina foi incluída para ilustrar o papel de muitos deles com intermediadores de sinal. Setas azuis indicam ativação, setas vermelhas indicam inibição e setas verdes indicam a amplificação de uma função já ativada. Setas pretas indicam ações que podem ser ativadoras ou inibitórias na função de substratos específicos. Abreviatura: 5-HT – 5-hidroxitriptamina; BDNF – fator neurotrófico derivado do cérebro; PDK1 - quinase 1 dependente de fosfatidilinositol; Pi3K - fosfatidilinositol 3-quinase; RTK - receptor tirosina quinase; PKA – fosfoquinase A; AC: adenilil ciclase; GSK3 – quinase de glicogênio sintase 3. Traduzido de (BEAULIEU; GAINETDINOV, 2011).

1.6 Uso de modelos animais para estudo da esquizofrenia

Um direcionamento estimulado pela pesquisa em Neurociências e pelo Instituto Nacional de Saúde têm sido a formação de novos modelos animais de doenças em humanos

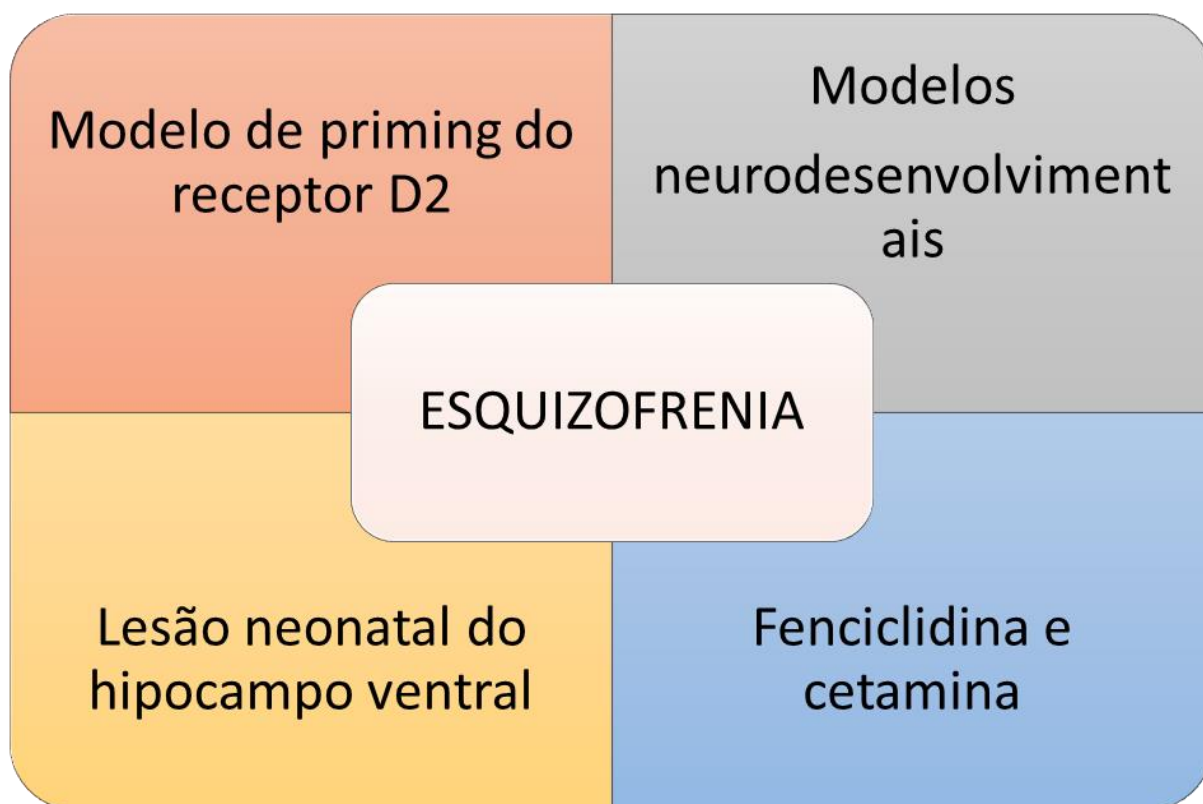
com valor translacional. De modo geral, os modelos animais agregam valores na pesquisa básica ou pré-clínica, permitindo que pesquisadores compreendam aspectos fisiopatológicos ou vias mecanísticas. Os modelos animais podem ser úteis para o desenvolvimento e descoberta de tratamentos novos e mais efetivos para doenças neurológicas e transtornos psiquiátricos. Apesar do modelo animal não replicar a doença no humano por completa, este pode contribuir bastante para compreensão de anormalidades comportamentais e neuroquímicas (VARGA et al., 2010).

Nesse contexto, a esquizofrenia se encaixa como um transtorno que ainda permanece elusivo e necessidade de novas abordagens em modelos animais para melhor compreensão dos aspectos neurobiológicos. A prioridade é adicionar valor translacional aos modelos para melhorar ainda mais, combinando com abordagens translacionais emergentes (DENAYER; STÖRN; VAN ROY, 2014).

1.6.1 Modelos animais de Esquizofrenia

Desenvolver um modelo de esquizofrenia apresenta um desafio com várias dificuldades por conta da heterogeneidade dos sintomas desse transtorno. A maioria dos modelos de esquizofrenia estudam a psicose como um aspecto dessa desordem, por exemplo, como a indução de psicose por substâncias. Novos modelos buscam entender os aspectos “negativos” e cognitivos da esquizofrenia. Além de buscar apresentar os principais comportamentos semelhantes no humano, vários modelos de esquizofrenia mostram alterações fisiopatológicas como as apresentadas nos humanos (por exemplo, alterações nos níveis de neurotransmissores) (JONES; WATSON; FONE, 2011). Todos os modelos possuem relevância clínica para o estudo da esquizofrenia, ao mimetizar anormalidade neuroquímicas e biológicas presentes no transtorno (Figura 5).

Figura 5 Modelos animais de esquizofrenia



Representação de alguns dos principais modelos não genéticos da esquizofrenia.

Fonte: elaboração do próprio autor.

1.7 Modelo de *priming* de receptor de dopamina D2

Na década de 1990 Kostrzewa e colaboradores realizaram experimentos em animais demonstraram que o tratamento neonatal com quinpirole (QNP) (Figura 4), um agonista dopaminérgico D₂/D₃, administrado entre os dias pós-natais (DPN) 1-11, 1-21, ou 21-35 produz um aumento na sensibilidade do RD2 que é persistente ao longo da vida, e que independe da mudança na quantidade de RD2 (BROWN; PETERSON, 2016; KOSTRZEWA, 1995; KOSTRZEWA et al., 1993, 2008; KOSTRZEWA; BRUS; KALBFLEISCH, 1991). Os efeitos induzidos pela administração neonatal de QNP são consistentes com os mecanismos subjacentes à neuropatologia da esquizofrenia (BROWN et al., 2008).

Como já mencionado, o tratamento neonatal com quinpirole em ratos aumenta a sensibilidade do RD2 que persiste durante a vida do animal, esse fenômeno é conhecido como “*priming*” de D₂ (KOSTRZEWA et al., 1993; THACKER et al., 2006). A supersensibilidade

do receptor D₂ é comum em diversos transtornos psiquiátricos como, esquizofrenia, transtorno bipolar e transtorno obsessivo-compulsivo (SEEMAN et al., 2006; SKOLNICK, 2005).

Estudos prévios demonstraram que o tratamento com antipsicóticos como olanzapina ameniza o prejuízo cognitivo e diminui os níveis de proteína do fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) induzidos pelo tratamento neonatal com QNP (THACKER et al., 2006). Os achados pré-clínicos sugerem que os comportamentos e as alterações neurobiológicas induzidos pela administração neonatal com QNP são semelhantes aos sintomas e fisiopatologia da esquizofrenia, além de responder ao tratamento com antipsicóticos. Com isso, fornece uma validade preditiva e de constructo ao modelo.

Uma das principais características da esquizofrenia é o déficit cognitivo do filtro sensorio-motor. Em estudos prévios foi demonstrado que a administração neonatal de QNP em ratos induz um déficit no filtro sensorio-motor testado pelo teste de inibição pré-pulso (MAPLE et al., 2015). O tratamento com QNP durante o período neonatal demonstra produzir efeitos a longo prazo comprometimento cognitivo tanto em adolescentes quanto em adultos (BROWN et al., 2004; BROWN; GASS; KOSTRZEWA, 2002; MEYER-LINDENBERG et al., 2005). O comprometimento cognitivo está presente na esquizofrenia e tem sido sugerido o "núcleo" de déficits comportamentais presentes no transtorno (ELVEVAG; GOLDBERG, 2000). Essa sugestão corrobora com a descoberta de que 94% dos pacientes com esquizofrenia têm déficits neurocognitivos nas áreas de memória, atenção e função executiva e pode ajudar a prever o resultado funcional na esquizofrenia (GREEN, 1996; WALDO et al., 1994). Muitas vezes, esses déficits constituem uma das principais do diagnóstico da esquizofrenia (PEUSKENS; DEMILY; THIBAUT, 2005).

Possivelmente um dos mais importantes achados neurofisiológicos consistente com a esquizofrenia é que o tratamento quinpirole neonatal produz uma diminuição significativa na expressão de RGS9 no núcleo accumbens, estriado e córtex frontal de ratos adultos (MAPLE et al., 2007). O RGS9 é um regulador da sinalização da proteína G no receptor D₂ e quando o RGS9 é ativado aumenta a taxa de terminação de eventos no receptor D₂, em última análise, resultando em uma menor atividade no receptor D₂ (RAHMAN; ZHANG; CORRIGALL, 2003). Assim, uma diminuição na expressão de RGS9 é consistente com uma sinalização aumentada no receptor D₂. É importante ressaltar que diminuições significativas no RGS9 foram mostradas nessas mesmas áreas do cérebro *post-mortem* em pacientes psicóticos humanos (SEEMAN; HALL; UHL, 2007)

Nesse modelo os achados neuroquímicos mimetizam as anormalidades no fator neurotrófico comparável aos observados em pacientes esquizofrênicos humanos. Pesquisas demonstraram uma diminuição significativa no fator de crescimento de nervo (NGF) e fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) no hipocampo de animais tratados com QNP neonatal. Essas alterações foram revertidas com a administração de olanzapina (BROWN et al., 2008).

1.8 Eventos estressores e a etiologia da Esquizofrenia

Mais recentemente, os modelos de esquizofrenia vêm investigando a implicação de eventos estressores em sua etiologia. Algumas observações dão suporte a ideia de que a esquizofrenia tem sua origem no início da vida (HOWES; MURRAY, 2014). Interessantemente, muitos genes que têm sido associados com a esquizofrenia expressam-se preferencialmente durante o desenvolvimento fetal (GULSUNER et al., 2013; JAFFE et al., 2015).

A exposição pós-natal a traumas psicológicos é um fator de risco para desenvolvimentos de transtornos psiquiátricos como, síndrome do espectro autista, esquizofrenia e transtorno bipolar (BROWN, 2011; HERBERT, 2010; TSUCHIYA; BYRNE; MORTENSEN, 2003). O impacto de estressores durante o desenvolvimento, como, por exemplo, infecções e experiências traumatizantes podem se revelar como fatores neuropatológicos primários em sujeitos geneticamente predispostos (CLARKE et al., 2009). Em um estudo prospectivo e longitudinal no qual os pesquisadores testaram como experiências estressantes aumentaria o risco de depressão, eles demonstraram que um polimorfismo na região promotora do gene de transportador de serotonina modula o efeito de eventos de vida estressantes no desenvolvimento de depressão. Dessa forma, esse estudo epidemiológico gera suporte para a teoria de interação gene por ambiente, no qual estabelece que a resposta de um indivíduo a um insulto ambiental é moderado por sua genética (CASPI et al., 2003).

Diversos estudos têm identificado os traumas durante a infância como um fator de risco putativo para o desenvolvimento da esquizofrenia (MORGAN; FISHER, 2007). Um estudo reportou uma prevalência aumentada de traumas na infância entre indivíduos com algumas psicoses. De uma outra forma, pacientes com estresse pós-traumático apresenta também sintomas “positivos”. Consequentemente, os traumas na infância têm e mostrado um

fator de risco plausível para o desenvolvimento de psicoses e esquizofrenia, contudo ainda não há como estabelecer uma relação causal entre eles (BROWN, 2011).

Como já mencionado, eventos estressantes durante a vida estão associados com experiências psicóticas, podendo agir como um fator de risco ambiental (SHAKOOR et al., 2016). Estudos que investigam a etiologia de experiências psicóticas durante a adolescência reportaram um fator hereditário (33-58%) (HUR; CHERNY; SHAM, 2012), sendo as outras variáveis atribuíveis a influências ambientais. Estudos populacionais com crianças e adolescentes vêm demonstrando que eventos estressantes na vida, como traumas na infância são preditivos de experiências psicóticas (ARSENEAULT et al., 2011). Eventos estressantes durante a vida são considerados como sendo eventos que exigem que o indivíduo experiencie uma mudança ou se reajuste na vida por conta de uma experiência impactante (CODDINGTON, 1972).

A sugestão de que os eventos estressantes que ocorrem durante a vida possam aumentar o risco de desenvolvimento de psicoses é reforçada pelo surgimento de mecanismos plausíveis que podem explicar como a exposição externa a estressores podem afetar os indivíduos de maneiras que aumentam risco de desenvolver esquizofrenia. Por exemplo, considerando modelos cognitivos de esquizofrenia, é possível que a exposição a eventos ameaçadores e intrusivos influenciem na percepção do ambiente social desses indivíduos, talvez levando a uma percepção mais hostil do mundo ao redor (BEARDS et al., 2013). O período da infância tardia e peri-adolescência compreendem períodos de maior sensibilidade no que diz respeito as alterações endócrinas, neuroanatômicas e comportamentais a longo-prazo induzidas pela exposição a eventos de vida estressantes em roedores (FISHER et al., 2010).

2 RELEVÂNCIA E JUSTIFICATIVA

Investigar novos modelos de esquizofrenia mostra-se desafiador ao considerar heterogeneidade dos sintomas desse transtorno. A maioria dos modelos de esquizofrenia estudam a psicose como um aspecto dessa desordem, por exemplo, como a indução de esquizofrenia por cetamina e fenciclidina, sendo os principais achados semelhantes aos sintomas “positivos”. Novos modelos buscam entender os aspectos “negativos” e cognitivos da esquizofrenia, que são mais complexos de se entender a fisiopatologia e de se tratar.

O modelo de administração neonatal com quinpirole tem sido utilizado como uma ferramenta experimental na investigação de alterações comportamentais, neuroquímicas e neurobiológicas que se assemelham aos achados em pacientes com esquizofrenia (BROWN; GASS; KOSTRZEWA, 2002; KOSTRZEWA et al., 1993). Entretanto, todos os estudos prévios que investigam as consequências a longo prazo da sensibilização de receptor de dopamina D2 foram realizados em ratos. É importante que modelos animais demonstrem diferenças entre espécies e estirpes e esse modelo já apresenta validade de face, preditiva e de constructo (MAPLE et al., 2007; THACKER et al., 2006).

O receptor de dopamina D2, originalmente denotado como receptor antipsicótico, foi examinado para mudanças na densidade após vários tratamentos, mais comumente deservação do neostriatum e longo prazo administração de antipsicóticos (SCHWARTING; HUSTON, 1996; SEEMAN, 1987). Mais importante ainda, o aumento da sensibilidade do receptor D2 gera suporte para a teoria dopaminérgica da esquizofrenia, como todos os fármacos antipsicóticos são capazes de bloquear o receptor D2 ou agir como agonista parcial.

Mais recentemente, os modelos de esquizofrenia têm investigado a implicação de eventos estressores em sua etiologia. Algumas observações dão suporte a ideia de que a esquizofrenia tem sua origem no início da vida (HOWES; MURRAY, 2014). A exposição pós-natal a traumas psicológicos é um fator de risco para desenvolvimentos de transtornos psiquiátricos como, síndrome do espectro autista, esquizofrenia e transtornos bipolar (BROWN, 2011; HERBERT, 2010; TSUCHIYA; BYRNE; MORTENSEN, 2003). O impacto de estressores durante o desenvolvimento, como, por exemplo, infecções e experiências traumatizantes podem se revelar como moduladores neuropatológicos primários em sujeitos geneticamente predispostos (CLARKE et al., 2009).

Para um melhor entendimento da heterogeneidade e complexidade dos sintomas da esquizofrenia, é necessário desenvolver modelos experimentais com maior validade translacional. O modelo do *priming* de receptores de dopamina D2 e a exposição a eventos estressantes seria abordagem combinada interessante, no sentido de se evidenciar interações entre alterações de sensibilidade do receptor D2, mimetizando um polimorfismo funcional desses receptores em humanos, e a resposta a um fator de risco envolvido com o desenvolvimento da esquizofrenia. Desta forma, auxiliando na compreensão da hipótese neurodesenvolvimental, além de se gerar evidências primárias em modelos animais, e a possibilidade de influência do sexo e do estresse peripuberal associados as alterações comportamentais e neuroquímicas encontradas neste processo.

3 OBJETIVOS

3.1. GERAL

Investigar a influência do sexo e do estresse peripuberal em um modelo de esquizofrenia induzida pelo *priming* de receptores D2 em camundongos.

3.2. ESPECÍFICOS

- Verificar as alterações comportamentais relacionadas as atividades locomotora e exploratória, emocionalidade, estado de ansiedade, sociabilidade e memória social, assim como a função sensório-motor atencional.
- Investigar as alterações nos níveis de dopamina e serotonina no corpo estriado de camundongos adultos submetidos ao *priming* de receptores D2 e ao estresse na infância.
- Verificar as diferenças entre os sexos no que se diz respeito as alterações comportamentais e neuroquímicas induzidas pelo *priming* de receptor D2 combinado com eventos estressantes.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Animais

Foram utilizados camundongos *Swiss* machos e fêmeas adultos (peso: 25-30 g), provenientes do biotério do Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento de Medicamentos, da Universidade Federal do Ceará (UFC). Os animais foram mantidos em condições controladas de temperatura ($25 \pm 2^\circ\text{C}$), com exaustão de ar e controle do fotoperíodo de 12 horas de claro e 12 horas de escuro. Após o recebimento das matrizes, estas foram ambientadas por uma semana e, posteriormente, colocadas para acasalamento (1 macho para cada 5 fêmeas). Aquelas que ficaram prenhas foram separadas em caixas individuais. Quando os filhotes dos camundongos fêmeas completaram 1 dia após o nascimento, começaram os experimentos. Os métodos utilizados estão de acordo com a Legislação Brasileira e Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA).

O projeto foi aprovado da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal do Ceará (CEUA – UFC) sob o protocolo nº 5233310118 e os experimentos foram conduzidos de acordo com o Guia de Cuidados e Usos de Animais de Laboratório do Departamento de Saúde e Serviços Humanos dos Estados Unidos da América (INSTITUTE FOR LABORATORY ANIMAL RESEARCH, 2011).

4.2 Substâncias utilizadas

(-) Cloridrato de quinpirole (Sigma-Aldrich®) foi dissolvido em solução fisiológica 0,9% na concentração de 1 mg/ml e será administrada na dose de 1 mg/kg por via intraperitoneal.

Solução salina 0,9% foi utilizada como veículo e administrada na proporção de 0,1 mL para cada 10 g de peso de animal.

4.3 Protocolo experimental

As soluções com quinpirole ou salina foram administradas durante o período neonatal de camundongos começando no dia pós-natal (DPN) 3 até o DPN 13, uma injeção intraperitoneal por dia (considerando DPN como um dia após o nascimento). Todas as injeções de QNP durante o período neonatal foram administradas na dose de 1m/kg (1% do peso do animal) (Adaptado de COPE et al., 2010). Considerando os eventos chaves no desenvolvimento cerebral, o período de DPN 3-13 representaria o período da 23 até 40 semana de gestação em humanos (SEMPLE et al., 2013). A administração de QNP durante esse período teve o intuito de induzir o *priming* de receptor de dopamina D2 tornando-o supersensível durante toda vida dos animais.

No dia DPN22 as proles foram desmamadas, separados aleatoriamente de acordo com o gênero e tratamento de forma que cada grupo contivesse 10 animais oriundos de pelo menos cinco ninhadas diferentes. Os animais foram mantidos em uma média de 10 animais por gaiola até o DPN 60, quando foram conduzidas as avaliações comportamentais.

Além da administração neonatal de quinpirole, os animais foram expostos a um protocolo de eventos estressores durante infância, começando no DPN 22 até o DPN 30 com intervalo de um dia entre os estressores. Os eventos estressantes na infância geram maior validade translacional para o estudo, considerando que eventos estressantes ou traumáticos podem ser fatores envolvidos no início precoce e duração dos sintomas da esquizofrenia. Além disso, houve o intuito de se avaliar os animais com receptor D2 “sensibilizado” respondem de forma distinta a estressores precoces. O procedimento de exposição aos estressores ambientais foi adaptado de Giovanoli et al., (2013). Nesse modelo, os eventos estressores foram expostos no período DPN22-30 pois representa ao período de aproximadamente 4-11 anos em humanos (SEMPLE et al., 2013). Estes eventos estressores são discriminados a seguir na seção 4.4 Os animais foram divididos em oito grupos discriminados na tabela 1.

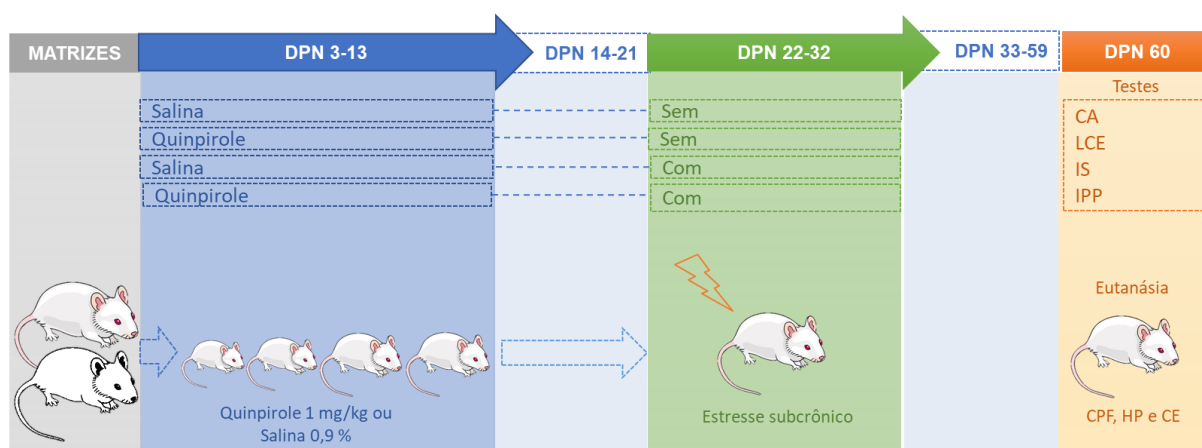
Tabela 1 Organização dos grupos experimentais

Nº	Sexo	Tratamento	Estresse	Testes
1	M	Salina	Não	TC+TN
2	M	Quinpirole	Não	TC+TN
3	M	Salina	Sim	TC+TN
4	M	Quinpirole	Sim	TC+TN
5	F	Salina	Não	TC+TN
6	F	Quinpirole	Não	TC+TN
7	F	Salina	Sim	TC+TN
8	F	Quinpirole	Sim	TC+TN

Abreviaturas: F = fêmeas; M = machos; TC = testes comportamentais; TN = testes neuroquímicos.

Previamente a realização dos testes comportamentais os animais submetidos ao *priming* por quinpirole receberam uma dose de QNP 1 mg/kg (intraperitoneal). Posteriormente aos testes comportamentais, os camundongos foram eutanasiados por decapitação para realização das análises de dopamina e serotonina. As análises foram realizadas na região corpo estriado (CE) dissecadas logo após a eutanásia, rapidamente congeladas e armazenadas a -80°C . O desenho experimental está representado na figura 6.

Figura 6 Representação esquemática do desenho experimental



A figura representa a organização dos grupos de machos e fêmeas tratados durante o período neonatal (DPN 3-13) com QNP ou SAL e, posteriormente, expostos ou não ao protocolo de estresse subcrônico (DPN 22-32). No DPN 60, os animais foram eutanasiados e o corpo estriado foi dissecado para análise neuroquímica. Abreviaturas: CE = corpo estriado; CPF = córtex pré-frontal; DPN = dia pós-natal; QNP = Quinpirole; SAL = salina.

4.4. Exposição a estressores ambientais

1. *Choque elétrico nas patas*: no DPN 22 os camundongos sofreram 3 estímulos de choques de intensidade de 3mA durante 1 segundo, separados por 3 minutos de descanso, no aparelho de Esquiva Passiva (INSIGHT equipamentos científicos – Brasil modelo EP- 104-MC). A sessão terminou com um período adicional de 3 minutos, no qual não houve estímulo de choque.
2. *Imobilização física*: no DPN 24 cada animal foi mantido em tubo plástico transparente (diâmetro de 6 cm e comprimento de 13 cm) por 45 minutos. Os tubos contensores possuem furos com 2 mm de diâmetros que permitem a passagem de ar e facilita a oxigenação do animal. Após decorrido o tempo, os animais foram imediatamente retirados dos tubos e realocados em suas gaiolas.
3. *Nado forçado*: no DPN 26 foram submetidos a duas sessões de nado forçado com duração de cinco minutos cada. Cada sessão consistia em colocar individualmente os animais em cilindros de acrílico transparente (50 cm de altura e 18 cm de diâmetro) contendo água na temperatura ambiente (em uma altura de 30 centímetros, não permitindo que o animal tocasse a calda no fundo do cilindro). Foi dado um intervalo de cinco minutos entre cada sessão. Ao final das sessões, os camundongos foram secos em uma caixa com maravalha limpa e, logo após, realocados em suas gaiolas de origem.
4. *Privação de oferta de água*: no DPN 28 os animais foram expostos à privação de água durante um período de 16 horas. Com essa finalidade, no DPN 28 as gaiolas que os animais estavam alocados tinham suas garrafas de água retiradas às 17:00 horas. As garrafas eram colocadas novamente nas suas gaiolas às 09:00 do dia seguinte (DPN 29). Durante a privação de água os animais tiveram livre acesso à comida.
5. *Imobilização física*: no DPN 30 cada animal foi mantido em tubo plástico transparente (diâmetro de 6 cm e comprimento de 13 cm) por 45 minutos. Os tubos contensores possuem furos com 2 mm de diâmetros que permitem a passagem de ar e facilita a oxigenação do animal. Após decorrido o tempo, os animais foram imediatamente retirados dos tubos e realocados em suas gaiolas (GIOVANOLI et al., 2013).

4.5 Testes comportamentais

Anteriormente a realização dos testes comportamentos os animais foram transportados cuidadosamente até a sala do teste para uma prévia ambientação. Todos os testes foram realizados entre 09:00 e 17:00 horas em salas com iluminação artificial, respeitando o ciclo claro-escuro desses animais. No período de intervalo entre o teste de cada animal, o aparato foi limpo com álcool etílico 10% para prevenir o viés de pistas olfatórias deixadas pelos outros animais.

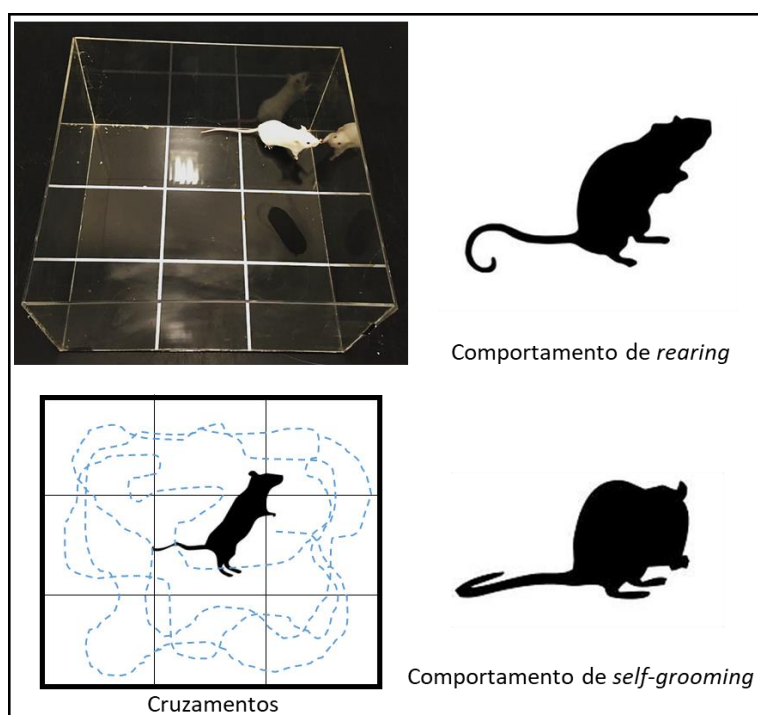
4.5.1 Teste de campo aberto

O teste de campo aberto (TCA) é uma das plataformas mais usualmente utilizadas para mensurar comportamentos em modelos animais. Foi inicialmente desenvolvido em 1934 para testar a emocionalidade em roedores (HALL, 1934). Este teste fornece uma variedade de informações comportamentais desde a atividade ambulatoria geral até dados sobre a emocionalidade e estado de ansiedade dos animais (TANAKA et al., 2012). Além disso, o TCA serve como uma técnica de investigação de substâncias ansiolíticas, ansiogênicas e comportamentos do tipo-ansiedade (SEIBENHENER; WOOTEN, 2015).

Como representado na figura 7, a plataforma de campo aberto consiste em uma arena fechado com paredes de acrílico e piso preto fosco. Quatro variáveis foram registradas no TCA: a atividade ambulatoria geral, o comportamento de *rearing*, o comportamento de autolimpeza ou *self-grooming* e a quantidade de bolos fecais. Avaliando assim, a atividade locomotora, exploratória, comportamento repetitivo e emocionalidade dos sujeitos, respectivamente. Os eventos de *rearing* foram considerados todas as vezes que os animais ficaram em pé apoiados nas duas patas traseiras em uma posição vertical sem tocar nas paredes de acrílico (SEIBENHENER; WOOTEN, 2015).

A atividade locomotora foi avaliada através do número de cruzamentos (ARCHER, 1973a). Durante o teste, os animais foram cuidadosamente alocados no centro do campo e foi permitido que eles explorassem livremente a plataforma por um minuto (período de habituação). Considerou-se como cruzamento o evento no qual o animal entrava em um dos quadrados com as quatro patas. Com relação ao comportamento de *self-grooming*, foram registrados os números de eventos nos quais os animais realizaram sinais de autolimpeza espontaneamente em qualquer parte do corpo (Figura 7).

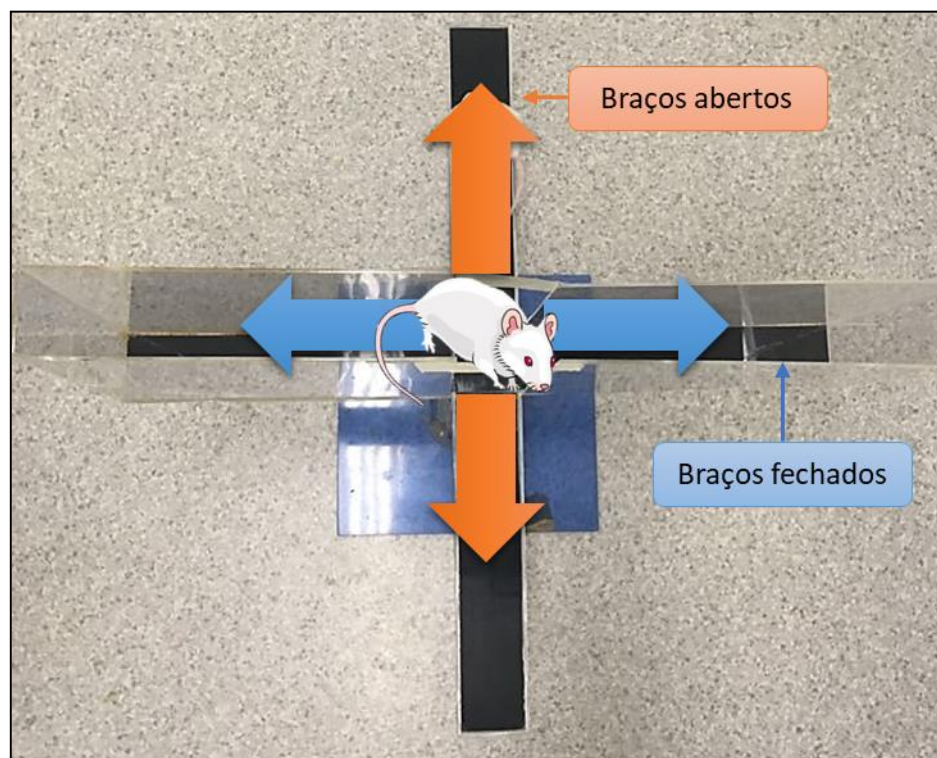
Figura 7 Representação real e esquemática do teste de campo



4.5.2 Teste de labirinto em cruz elevado

O labirinto em cruz elevado é um teste comportamental amplamente utilizado para avaliar comportamento tipo-ansiedade em roedores, assim como efeito ansiolítico de substâncias (PELLOW; FILE, 1986) (Figura 8). O método foi primeiramente descrito por (PELLOW et al., 1985). No procedimento utilizado um aparato de acrílico de cor preta fosca e quatro braços (dois braços sem paredes e dois braços com paredes de 15,50 cm de altura. Cada braço do labirinto é preso a pernas de acrílico robustas elevados 40 cm da base de suporte. Cada camundongo testado foi alocado na área central do labirinto na junção entre os quatro braços com sua cabeça direcionada para o braço aberto. O número de entradas dentro de cada braço e o tempo gasto explorando os braços abertos e fechados foi gravado manualmente durante cinco minutos. Esses parâmetros etológicos indicam um comportamento tipo-ansiedade (WALF; FRYE, 2007).

Figura 8 Representação do teste de labirinto em cruz elevado.



4.5.3 Teste de sociabilidade e preferência por novidade social

Os comportamentos de interações sociais são componentes adaptativos e fundamentais da biologia de várias espécies de animais. Considerando animais como os roedores, o reconhecimento social de coespecíficos é importante para manutenção da hierarquia social e escolha de parceiros para o acasalamento.

Uma ampla variedade de transtornos neuropsiquiátricos são caracterizadas por um determinado prejuízo na sociabilidade e reconhecimento social como, por exemplo, esquizofrenia, depressão, síndrome do espectro autista, transtorno obsessivo-compulsivo e transtorno bipolar (KAIDANOVICH-BEILIN et al., 2011; WILSON; KOENIG, 2014; WOLMARANS; STEIN; HARVEY, 2017).

O teste de interação social é caracterizado por um paradigma padrão para estudar o comportamento social geral, além de ser uma ferramenta valiosa nos testes de *screening* de substâncias ansiolíticas e antipsicóticas (SAMS-DODD, 1995). O aparato para o teste de sociabilidade e preferência por novidade social consiste em uma caixa retangular com três compartimentos. Como representado na figura 8, os animais testados foram alocados no compartimento central do aparato, podendo explorar livremente as outras câmaras. O teste foi

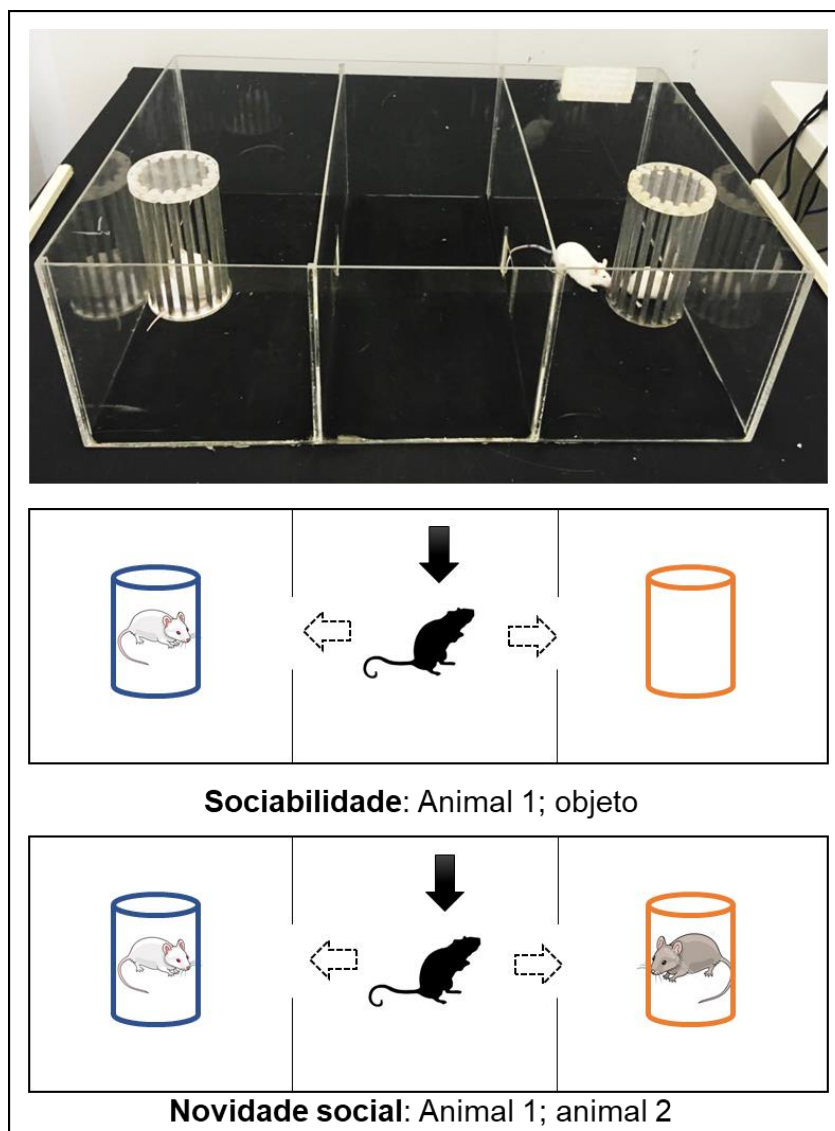
dividido em duas sessões: sessão 1 para avaliar o aspecto de afiliação social ou sociabilidade; e uma segunda sessão para avaliar preferência por novidade social, assim como a memória social.

Na primeira sessão, o compartimento da esquerda continha um objeto de contenção com um animal, sendo assim denominado como “compartimento social” e no compartimento oposto continha um objeto de contenção vazio, chamado de “compartimento não-social”. O animal não-familiar colocado no objeto de contenção é um congênere do mesmo sexo que o animal analisado. Após alocação do sujeito testado, o tempo de interação com o objeto de contenção com animal e sem animal foi registrado durante um período de cinco minutos. Na segunda sessão, o animal contido no compartimento social permanecia e, no objeto de contenção que estava vazio na sessão 1, era colocado um animal estranho 2. Sendo assim, um compartimento continha um animal familiar e o outro um animal novo. O animal testado era alocado novamente no compartimento central, o tempo de interação com o objeto de contenção com animal familiar e com animal estranho foi registrado durante um período de cinco minutos. Esse protocolo foi adaptado de (MOY et al., 2004).

Foi calculado o percentual de tempo gasto interagindo com o objeto com animal e sem animal. Os resultados de sociabilidade foram expressos em % de interação social que representa a subtração entre o % de tempo interagindo com animal e o % de tempo interagindo com o objeto vazio. Enquanto que os resultados de preferência por novidade social ou memória social foi calculado a partir da subtração entre a % de tempo gasto interagindo com o animal novo e a % de tempo interagindo com o animal familiar.

Mensurou-se o tempo gasto em cada uma das três câmaras, e a interação social foi definida como: $(\% \text{ o tempo gasto na câmara social}) - (\% \text{ o tempo gasto na câmara oposta})$. Logo em seguida, foi alocado um novo animal do mesmo sexo na câmara oposta. O tempo gasto na câmara com animal familiar, já conhecido, e o animal novo foi mensurado durante cinco minutos. A porcentagem de preferência por novidade social foi calculada diminuindo a porcentagem de tempo gasto interagindo com o animal novo pelo tempo explorando a câmara com animal familiar (Figura 9).

Figura 9 Representação do teste de interação social e preferência por novidade social.



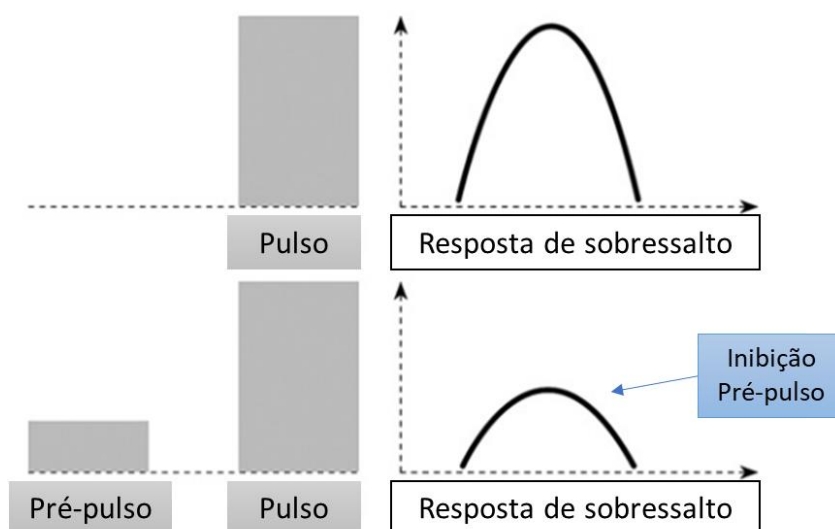
Fonte: Próprio autor.

4.5.5 Teste de Inibição Pré-pulso (IPP)

O reflexo de sobressalto é uma resposta primitiva e protetora do corpo a um estímulo acústico intenso e repentino. Esse reflexo é caracterizado por uma ativação de músculos esqueléticos e faciais que ocorre dentro de poucos milissegundos, acarretando em um recuo do corpo inteiro em roedores (DAVIS, 1984). A Inibição Pré-Pulso (IPP) é caracterizada pela redução do reflexo de sobressalto a um estímulo acústico intenso (pulso), quando imediatamente precedido por um estímulo de menor intensidade (pré-pulso) (Figura 10) (HOFFMAN; ISON, 1980; SWERDLOW et al., 2008). A reação corporal (sobressalto) dos roedores a um estímulo acústico, no presente trabalho, foi monitorada em uma câmara

(INSIGHT equipamentos científicos – Brasil modelo EP-175) conectada a um tubo (diâmetro 8,2 cm, comprimento 20 cm) montada em uma caixa isolada acusticamente e ventilada.

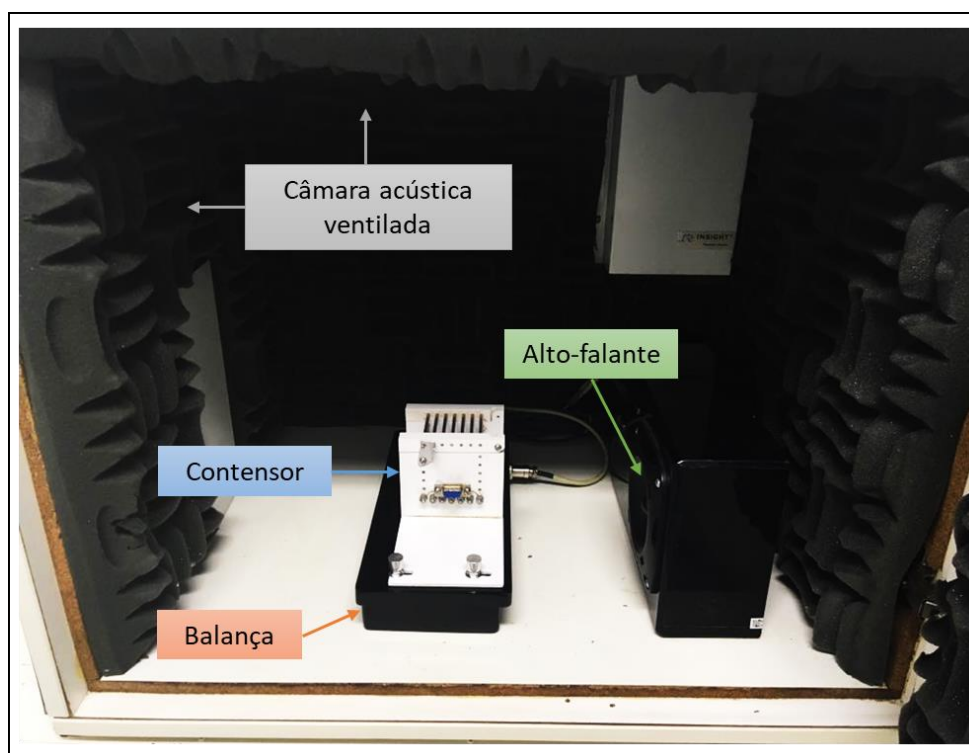
Figura 10 Representação didática de inibição pré-pulso



Fonte: Adaptado de (KOHL et al., 2013)

Os camundongos foram colocados em um contensor ($4,5 \times 5,0 \times 5,5$ cm) que consiste em barras de aço inoxidável de 3,0 mm de diâmetro com espaçamento de 0,8 centímetros de distância. O contensor foi mantido preso sobre uma balança, chamada de plataforma de resposta, através de quatro miniaturas parafusos. Um alto-falante localizado a 15 cm do contensor, foi usado para fornecer os estímulos de pulso, pré-pulso e ruído de fundo. O contensor, a plataforma e o alto-falante estão localizados dentro de uma câmara acústica ventilada ($64 \times 60 \times 40$ cm). Procedimentos de calibração são necessários antes dos experimentos para garantir sensibilidades equivalentes das plataformas de resposta ao longo do período de teste (Figura 11).

Figura 11 Imagem explicativa do aparelho para teste de inibição pré-pulso



A sessão de testes começa ao colocar um animal no contêncor para a aclimatação, este procedimento consisti em uma exposição de cinco minutos ao ruído de fundo (65 dB). Após o período de aclimatação os camundongos são apresentados a uma série de 10 estímulos de treino (pulso sozinho - 120 dB, 50 ms de duração), com um ensaio de intervalo de 20s. Esta fase tem como objetivo permitir a habituação da resposta de sobressalto do animal. Posteriormente, a modulação de inibição pré-pulso (IPP) de sobressalto foi testada no seguinte protocolo: consistiu de 74 ensaios pseudorandomizados dividido em oito categorias diferentes, apresentados com um intervalo inter-estímulos de 20s: 20 apresentações de pulso sozinho (120 dB, 50 ms de duração), 8 apresentações de cada intensidade de pré-pulso sozinho (70, 75 e 80 dB, frequência 3000 Hz, 20 ms de duração), 10 apresentações de cada intensidade de pré-pulso + intensidade de pulso (com intervalo de 50ms entre pré-pulso e pulso) e ausência de estímulo, nesse bloco o animal só recebe o estímulo de ruído de fundo (LEVIN et al., 2011). São utilizadas três intensidades de pré-pulso diferentes para que o teste tenha maior veracidade, como se o mesmo fosse feito em triplicata.

A média da amplitude de resposta de sobressalto aos ensaios de pulso sozinho (P) e pré-pulso + pulso (PP + P) foi calculada para cada animal. O nível de IPP em cada

camundongo foi definido como a porcentagem da redução da amplitude do sobressalto nos ensaios de PP + P em comparação com a amplitude do sobressalto nos ensaios de P, de acordo com a seguinte fórmula: $\% \text{ PPI} = 100 - [100 \times (\text{PP} + \text{P} / \text{P})]$. Usando esta fórmula, um valor de IPP de 0% denota que não houve diferença entre a amplitude da resposta de sobressalto do pulso sozinho e do pré-pulso + pulso, conseqüentemente, não houve IPP (LEVIN et al., 2011).

4.6 Testes neuroquímicos

4.6.1 Dissecação das regiões cerebrais

Seguindo as avaliações comportamentais, os camundongos foram eutanasiados por decapitação e tiveram o encéfalo rapidamente removidos, colocado sobre uma superfície limpa e resfriada para retirada das regiões. Para dissecação do córtex pré-frontal a porção anterior dos lobos frontais (em torno de 1,5 mm a partir do bulbo olfatório) foi removida e realizada um corte bilateral utilizando uma pinça de microdissecação (FRANKLIN, K.B., PAXINOS, 1997).

Posteriormente a retirada do córtex pré-frontal, tendo como ponto de referência a fissura sagital mediana, a camada cortical cerebral foi retirada cuidadosamente com auxílio de uma pinça curvada de microdissecação, progredindo tangencialmente aos ventrículos laterais e lobos occipitais, divulsionando o córtex em toda a extensão fronto-occipital. Ao colocar o córtex para os lados, parte do hipocampo ficou exposta, e dessa forma, permitiu a delimitação, deslocação e retirada bilateral do hipocampo.

O corpo estriado foi retirado das estruturas adjacentes por divulsionamento. Após retirada do hipocampo, a visualização do corpo estriado e sua porção tuberosa ficou mais evidente. A delimitação dessa região foi feita com base nas características macroscópicas desses núcleos.

Após a dissecação as regiões foram identificadas e armazenadas em micro tubos para determinação dos níveis de dopamina e serotonina. As amostras foram congeladas a -80°C até a realização dos ensaios.

4.6.2 Determinação de neurotransmissores por HPLC

Os níveis cerebrais de monoaminas foram estudados em homogenatos, das áreas cerebrais retiradas. Os homogenatos foram preparados em ácido perclórico 1% (1:5 p/v), e

submetidos a centrifugação por 15 minutos a 14.000 rpm (4 °C). O sobrenadante foi retirado e uma alíquota foi injetada no equipamento de HPLC para análise eletroquímica. Para a determinação dos neurotransmissores (DA, NE e 5-HT) e metabólitos (DOPAC, HVA, 5HIAA) foi utilizado um equipamento de HPLC (Modelo L-ECD-6^a da Shimadzu, Japão) com detecção eletroquímica (Shim-Pak CLC- ODS, 25cm). A fase móvel foi preparada com ácido cítrico monohidratado 150mM, octil sulfato de sódio 67mM, tetrahydrofurano 2%, acetonitrila 4%, preparados em água deionizada com pH 3,0. A quantificação dos picos obtidos foi realizada com o auxílio de uma curva padrão. Os valores absolutos foram corrigidos quanto à recuperação das cânulas e expressões de variações com relação aos valores basais (BELLÍSSIMO *et al.* 2004).

5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para análise estatística dos dados foi utilizado o *software* SPSS (Versão 23 para Windows). Inicialmente os resultados foram testados se a sua distribuição era normal pelo teste de Shapiro-Wilk, assim como foram testadas com relação a homogeneidade das variâncias pelo teste de Levene. Todos os dados que não apresentaram distribuição normal, foi-se assumida a normalidade considerando o teorema central do limite. As variáveis dependentes do estudo foram consideradas contínuas. Considerando essas suposições, os resultados foram analisados por ANOVA de três vias seguida por análise de *post-hoc* de comparações múltiplas o teste de Bonferroni para revelar as interações significativas entre os grupos estudados. As três variáveis independentes ou fatores estabelecidos foram “sexo” (fêmea ou macho), “tratamento neonatal” (salina ou quinpirole) e “estresse” (com ou sem exposição ao estresse subcrônico). Valores significativos foram considerados apenas quando $P < 0.05$, taxa de erro α de 5% e intervalo de confiança de 95%.

6 RESULTADOS

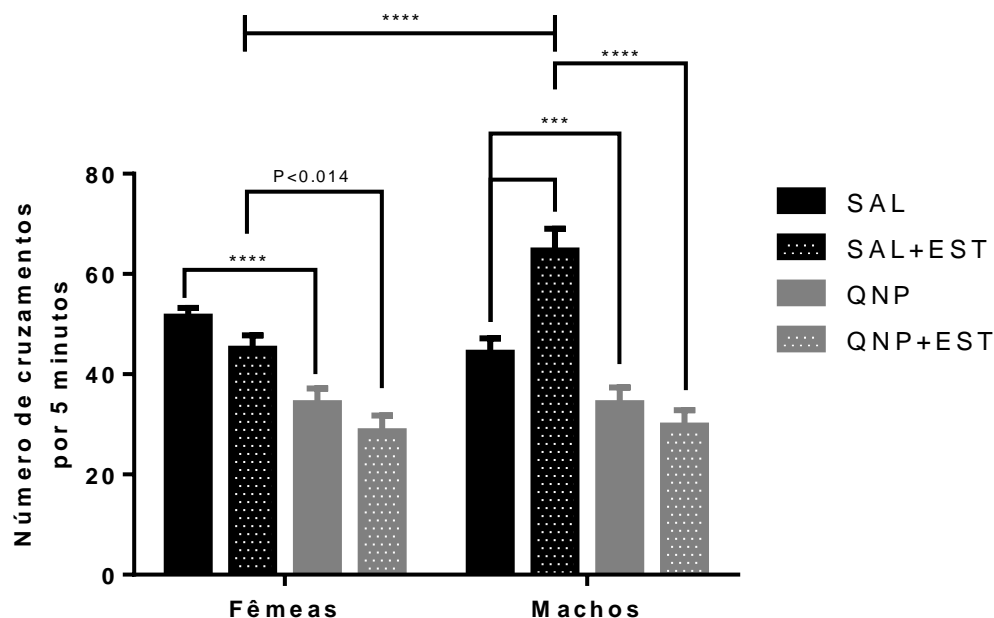
6.1 Resultados das alterações comportamentais

6.1.1 Teste do campo aberto

O teste de campo aberto foi realizado com o intuito de avaliar as alterações na atividade ambulatoria geral (número de cruzamentos), atividade exploratória (*rearing*) e no comportamento estereotipado de autolimpeza (*self-grooming*). Dessa forma, avaliando atividades executórias relacionadas com uma complexa neurotransmissão dopaminérgica.

A análise do número de cruzamentos (Figura 12) revelou uma interação de duas vias entre “sexo” e “tratamento neonatal” [$F(1, 72) = 6.66, P = 0.012$], “sexo” e “estresse na infância” [$F(1, 72) = 10.415, P=0.002$] e uma interação de três vias entre “sexo”, “tratamento” e “estresse” [$F(1, 72) = 8.706, P=0.004$]. Tanto os animais machos quando fêmeas quando submetidos ao tratamento com quinpirole neonatal (sensibilizados) apresentaram menor quantidade de cruzamentos comparado com os tratados com salina (machos: $P<0.0001$, fêmeas: $P<0.0001$). Não houve diferença significativa entre os animais machos e fêmeas sensibilizados (machos: $P=0.107$, fêmeas: $P=0.107$). A análise *post-hoc* demonstrou que a exposição ao estresse na infância se influenciou de maneira diferente entre os sexos. Enquanto as fêmeas não demonstraram uma alteração significativa na atividade locomotora, os machos aumentaram a realização desta atividade (machos: $P=0.001$, fêmeas: $P=0.300$). Os animais machos e fêmeas sensibilizados e expostos ao estresse na infância apresentaram menor número de cruzamentos quando comparados com os animais apenas expostos ao estresse na infância (machos: $P<0.0001$, fêmeas: $P<0.0001$).

Figura 12 Efeito do quinpirole neonatal, estresse na infância e quinpirole associado ao estresse na média do número de cruzamentos em camundongos machos e fêmeas.

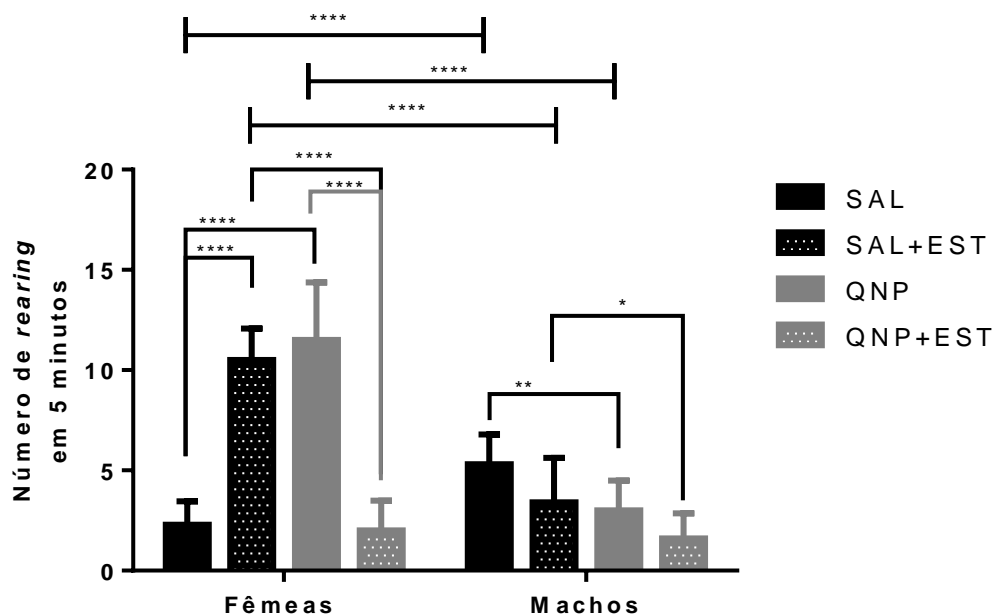


Os camundongos foram tratados com salina ou QNP 1 mg/kg (i.p.) no intervalo DPN 3-13. Entre o DPN 22-30 os animais foram expostos ao estresse ou não. As barras representam a média \pm E.P.M. do número de cruzamentos (n=10 animais/grupo). A análise dos resultados foi feita através análise de variância *three-way* seguida do teste *post-hoc* Bonferroni. (***) $P < 0.001$, (****) $P < 0.0001$). Abreviações: DPN = dia pós-natal; EST = estresse; QNP = quinpirole; SAL = salina.

Na avaliação da quantidade de eventos de *rearing* realizados (Figura 13) a análise estatística demonstrou uma interação significativa entre os fatores “sexo” e “tratamento” [$F(1, 72) = 9.095$, $P = 0.004$], “estresse” e “tratamento” [$F(1, 72) = 116.78$, $P > 0.0001$] e uma interação significativa entre as três vias [$F(1, 72) = 130.779$, $P < 0.0001$]. A análise de *post-hoc* revelou um aumento significativo no número de *rearing* nas fêmeas expostas ao estresse quando comparadas às fêmeas não expostas ($P < 0.0001$). As fêmeas sensibilizadas apresentaram um aumento na atividade exploratória em relação às fêmeas controle ($P < 0.0001$). Enquanto que a sensibilização nos machos diminuiu a atividade exploratória em relação aos machos não sensibilizados ($P < 0.01$). Quando associada ao estresse a sensibilização com quinpirole diminuiu a atividade exploratória tanto nos machos quanto nas fêmeas (machos: $P < 0.05$, fêmeas: $P < 0.0001$). Os machos apenas expostos ao estresse apresentam menor número de *rearings* que as fêmeas ($P < 0.0001$). Assim como, os machos

apenas sensibilizados com quinpirole neonatal apresentam menor quantidade de *rearings* que as fêmeas ($P < 0.0001$).

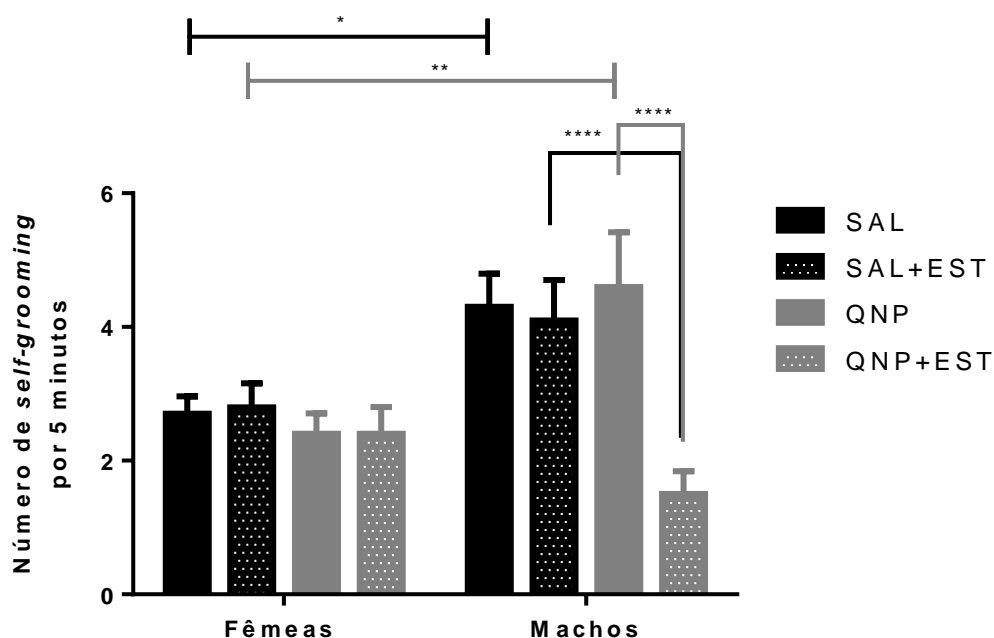
Figura 13 Efeito do quinpirole neonatal, estresse e quinpirole somado ao estresse na média do número de *rearings* em camundongos machos e fêmeas.



Os camundongos foram tratados com salina ou QNP 1 mg/kg (i.p.) no intervalo DPN 3-13. Entre o DPN 22-30 os animais foram expostos ao estresse ou não. As barras representam a média \pm E.P.M do número de *rearings* ($n=10$ animais/grupo). Os conectores de cor cinza representam as diferenças entre os grupos tratados. A análise dos resultados foi feita através análise de variância *three-way* seguida do teste *post-hoc* Bonferroni. (** $P < 0.001$, **** $P < 0.0001$). Abreviações: DPN = dia pós-natal; EST = estresse; QNP = quinpirole; SAL = salina.

Com respeito a análise de comportamentos estereotipados de *self-grooming* (Figura 14), a ANOVA de três vias revelou uma interação significativa entre os fatores “sexo” e “estresse” [$F(1, 72) = 6.25, P = 0.015$], “estresse” e “tratamento neonatal” [$F(1, 72) = 4.88, P = 0.031$] e uma interação entre as três vias [$F(1,72) = 4.24, P = 0.043$]. Tanto nos machos quanto nas fêmeas a administração neonatal de QNP não alterou os eventos de *self-grooming* comparado com os animais controle (machos: $P=0.660$, fêmeas: $P=0.660$). Apenas nos animais machos, houve uma diminuição no número de eventos de *self-grooming* nos animais sensibilizados e expostos ao estresse comparado com aqueles que foram apenas sensibilizados ($P < 0.0001$) e apenas expostos ao estresse ($P < 0.0001$).

Figura 14 Efeito do quinpirole neonatal, estresse e quinpirole somado ao estresse na média do número de eventos de self-grooming em camundongos machos e fêmeas.

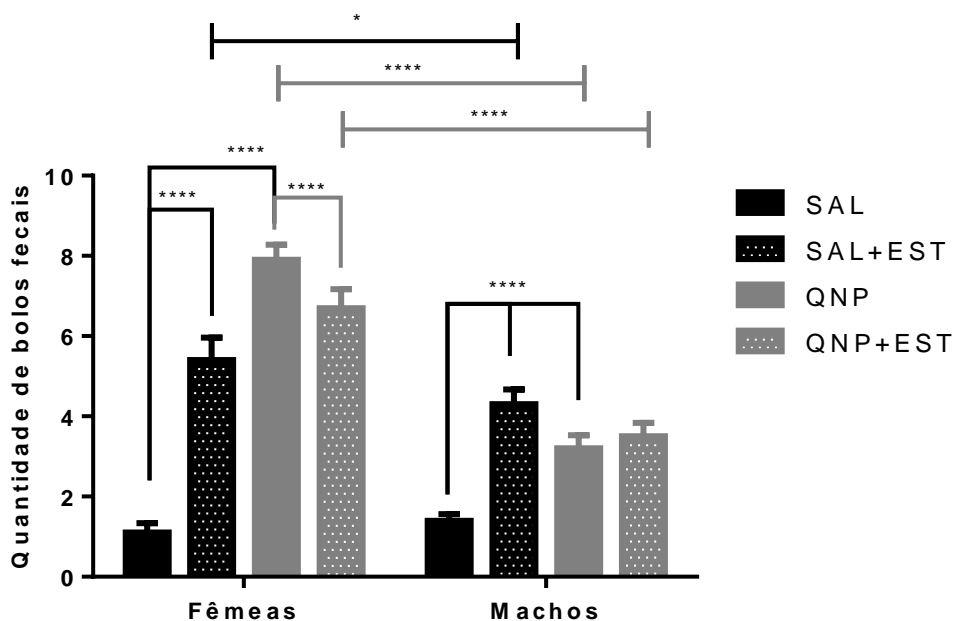


Os camundongos foram tratados com salina ou QNP 1 mg/kg (i.p.) no intervalo DPN 3-13. Entre o DPN 22-30 os animais foram expostos ao estresse ou não. As barras representam a média \pm E.P.M do número de *self-grooming* (n=10 animais/grupo). Os conectores de cor cinza representam as diferenças entre os grupos tratados. A análise dos resultados foi feita através análise de variância *three-way* seguida do teste *post-hoc* Bonferroni. (*P<0.05, **P<0.001, ****P<0.0001). Abreviações: DPN = dia pós-natal; EST = estresse; QNP = quinpirole; SAL = salina.

A análise da quantidade de bolos fecais na plataforma de campo aberto (Figura 15) revelou uma interação significativa de duas vias entre os fatores “sexo” e “estresse na infância” [F(1, 72) = 40.40, P<0.0001], “tratamento neonatal” e “estresse na infância” [F(1, 72) = 215.84, P<0.0001] e uma interação significativa entre os três fatores [F(1, 72) = 85.99, P<0.0001]. Tanto os animais fêmeas quanto os machos sensibilizados sem exposição ao estresse apresentaram maior número de bolos fecais quando comparados aos grupos salina sem exposição ao estresse (machos: P<0.0001, fêmeas: P<0.0001). Apenas as fêmeas tratadas com QNP e expostas ao estresse apresentam maior quantidade de bolos fecais quando comparado com as tratadas com salina e expostas ao estresse (P<0.0001). Tanto as fêmeas quanto os machos expostos apenas ao estresse na infância aumentaram a quantidade de bolos fecais quando comparados com os grupos controle sem estresse (machos: P<0.0001, fêmeas:

$P < 0.0001$). Nas fêmeas sensibilizadas e expostas ao estresse o número de bolos fecais foi menor que as fêmeas apenas sensibilizadas ($P < 0.0001$).

Figura 15 Efeito do quinpirole neonatal, estresse e quinpirole somado ao estresse na média do número de bolos fecais em camundongos machos e fêmeas.



Os camundongos foram tratados com salina ou QNP 1 mg/kg (i.p.) no intervalo DPN 3-13. Entre o DPN 22-30 os animais foram expostos ao estresse ou não. As barras representam a média \pm E.P.M do número de bolos fecais coletados ($n=10$ animais/grupo). Os conectores de cor cinza representam as diferenças entre os grupos tratados. A análise dos resultados foi feita através análise de variância *three-way* seguida do teste *post-hoc* Bonferroni. (* $P < 0.05$, **** $P < 0.0001$). Abreviações: DPN = dia pós-natal; EST = estresse; QNP = quinpirole; SAL = salina.

6.1.2 Teste de labirinto em cruz elevado

Foram registrados os parâmetros etológicos no teste de labirinto em cruz elevado no intuito de avaliar o efeito da administração neonatal de QNP e associação com estresse na infância no estado de ansiedade em animais machos e fêmeas. A análise do número de entrada nos braços abertos (NEBA) (Figura 16A) revelou que houve uma interação significativa entre as variáveis independentes “sexo” e “tratamento neonatal” [$F(1, 72) = 11.59$, $P = 0.001$], “sexo” e “estresse” [$F(1, 72) = 10.26$, $P = 0.002$] e “tratamento neonatal” e “estresse” [$F(1, 72) = 29.23$, $P < 0.0001$]. Contudo, não houve uma interação significativa entre os três fatores [$F(1, 72) = 0.641$, $P = 0.426$]. Tanto os animais fêmeas quanto os machos apenas expostos ao

estresse na infância aumentaram o NEBA quando comparados com os animais controles sem exposição (machos: $P = 0.019$, fêmeas: $P < 0.0001$). Adicionalmente, as fêmeas não sensibilizadas expostas ao estresse tiveram um aumento no NEBA em relação aos machos não sensibilizados expostos ao estresse ($P < 0.0001$). Apenas as fêmeas sensibilizadas aumentaram o NEBA quando comparada com o seu grupo controle ($P < 0.0001$). Em ambos os sexos, o tratamento neonatal com QNP associado a exposição ao estresse na infância diminuiu o NEBA quando comparado com os animais apenas expostos ao estresse na infância (machos: $P < 0.0001$, fêmeas: $P = 0.019$). Somente nos machos, o QNP neonatal associado ao estresse diminuiu ainda mais o número de NEBA comparado com os animais apenas tratados com QNP neonatal (ou seja, sensibilizados) ($P < 0.05$).

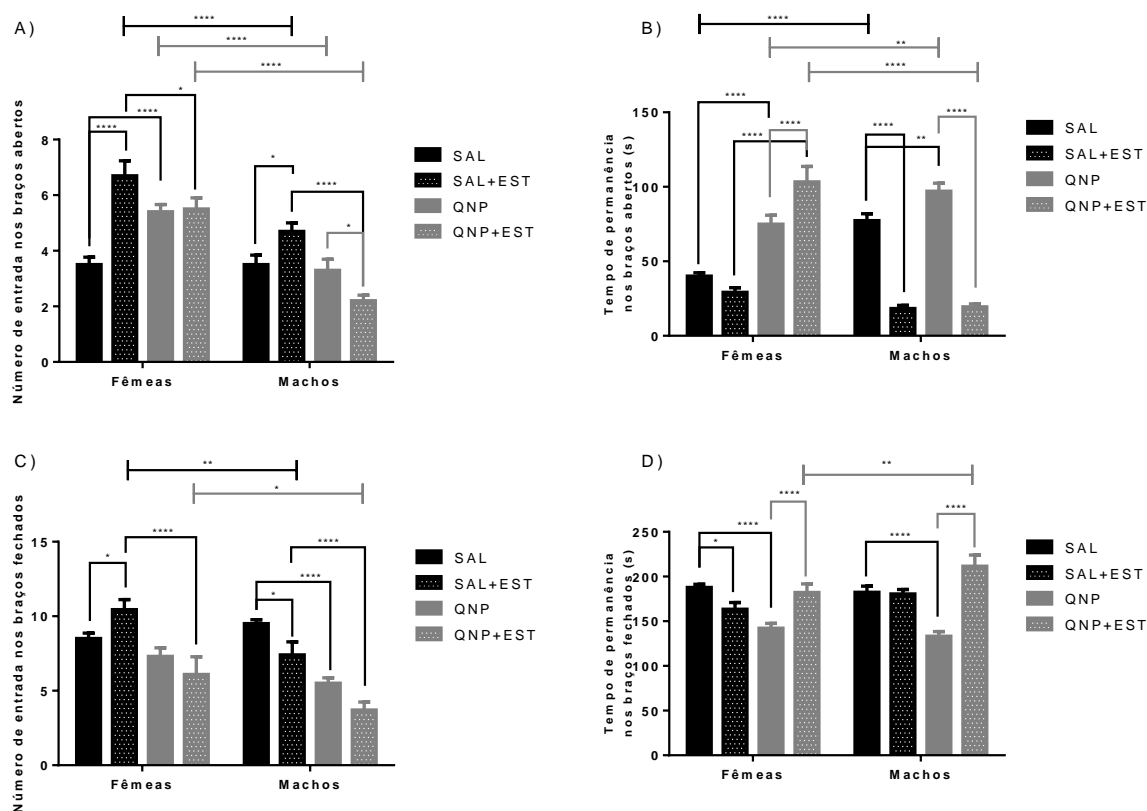
Em se tratando do tempo de permanência nos braços abertos (TPBA) (Figura 16B), a análise revelou uma interação significativa entre os fatores “tratamento neonatal” e “sexo” [$F(1, 72) = 36.09$, $P < 0.0001$], “sexo” e “estresse” [$F(1, 72) = 109.14$, $P < 0.0001$] e apresentou uma interação entre os três fatores [$F(1, 72) = 15.55$, $P < 0.0001$]. Ambos os sexos demonstraram que a sensibilização por QNP provocou um aumento no TPBA em relação aos controles salina (não-sensibilizados) (machos: $P < 0.01$, fêmeas: $P < 0.0001$). Considerando os animais sensibilizados, enquanto as fêmeas expostas ao estresse aumentam o TPBA ($P < 0.0001$), os machos diminuem o TPBA ($P < 0.0001$) em comparação aos animais sensibilizados sem exposição ao estresse. Somente os animais machos não-sensibilizados expostos ao estresse apresentaram uma diminuição no TPBA quando comparado com os controles salina sem exposição ($P < 0.0001$). Os animais machos sensibilizados apresentam maior TPBA quando comparados com as fêmeas sensibilizadas ($P < 0.01$). Enquanto que os animais machos sensibilizados e expostos ao estresse apresentaram uma diminuição significativa no TPBA quando comparado com as fêmeas sensibilizadas e expostas ao estresse. ($P < 0.0001$).

A análise do número de entradas nos braços fechados (NEBF) revelou que houve um interação significativa entre os fatores “sexo” e “estresse” [$F(1, 72) = 6.30$, $P = 0.014$] e demonstrou que não houve interação significativa entre os três fatores [$F(1, 72) = 3.49$, $P = 0.066$] (Figura 16C). O teste de *post-hoc* demonstrou que houve um aumento significativo no NEBF considerando os animais fêmeos não-sensibilizados e expostos ao estresse quando comparação com os controles sem estresse ($P = 0.036$). No entanto, houve uma diminuição no TPBF nos animais machos não-sensibilizados e expostos ao estresse quando comparado com os controles sem estresse ($P = 0.028$). Apenas nos machos a sensibilização por QNP diminuiu

o TPBF quando comparados com os controles salina ($P < 0.0001$). Tantos nos machos quanto nas fêmeas, o tratamento neonatal com QNP e posterior exposição ao estresse diminuiu o TPBF em comparação com os animais apenas expostos ao estresse (machos: $P < 0.0001$, fêmeas: $P < 0.0001$). Além disso, os machos expostos ao estresse apresentaram menor NEBF quando comparados com as fêmeas expostas ao estresse ($P = 0.001$).

A análise do tempo de permanência nos braços fechados (TPBF) (Figura 16D) revelou interações significativas entre os fatores “sexo” e “estresse” [$F(1, 72) = 8.37, P = 0.005$], “estresse” e “tratamento neonatal” [$F(1, 72) = 46.76, P < 0.0001$]. Contudo, não houve interação entre os três fatores [$F(1, 72) = 0.56, P = 0.46$]. O teste *post-hoc* demonstrou que em ambos os sexos, o tratamento com QNP neonatal diminuiu o TPBF quando comparado com os controles salina (machos e fêmeas: $P < 0.0001$). A exposição precoce ao estresse provocou uma diminuição no TPBF quando comparado o controle salina sem exposição apenas nas fêmeas ($P = 0.024$). Em ambos os sexos, houve um efeito da combinação entre a sensibilização com o estresse precoce levando a um aumento no TPBF quando comparado com os animais sensibilizados sem exposição ao estresse (machos e fêmeas: $P < 0.0001$). Os animais machos sensibilizados e expostos ao estresse precoce apresentaram um aumento no TPBF quando comparado com os animais fêmeos sensibilizados e expostos ao estresse ($P = 0.007$).

Figura 16 Efeito do quinpirole neonatal, estresse e quinpirole associado ao estresse na média do número entrada nos braços abertos, tempo de permanência nos braços abertos, número de entrada nos braços fechados e tempo de permanência nos braços fechados em camundongos machos e fêmeas.

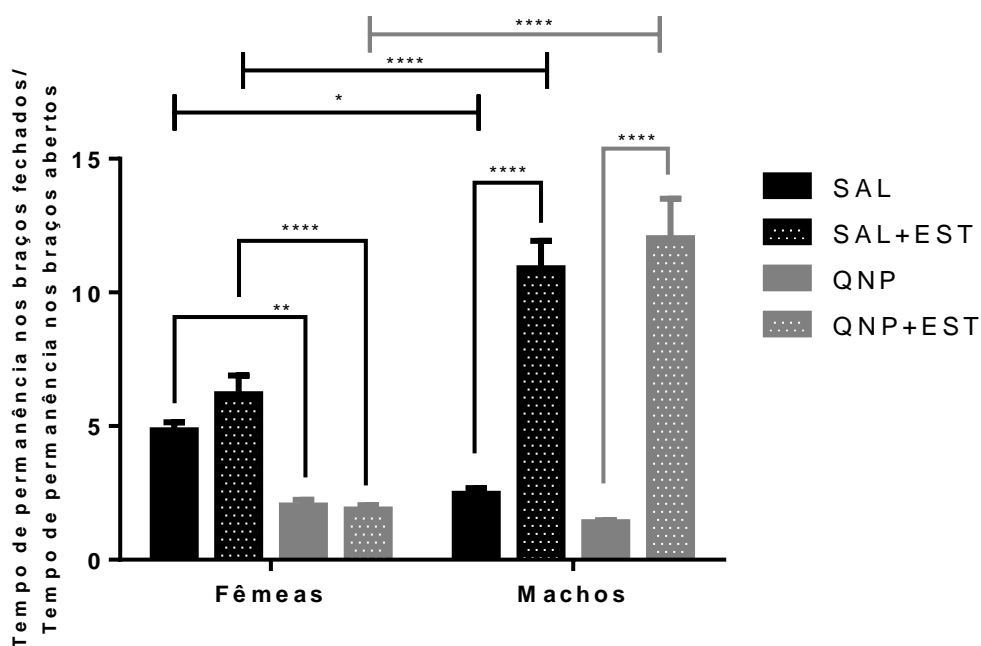


Os camundongos foram tratados com salina ou QNP 1 mg/kg (i.p.) no intervalo DPN 3-13. Entre o DPN 22-30 os animais foram expostos ao estresse ou não. As barras representam a média \pm E.P.M do A) número de entradas nos braços abertos; B) tempo de permanência nos braços abertos; C) número de entrada nos braços fechados; D) tempo de permanência nos braços fechados (n=10 animais/grupo). Os conectores de cor cinza representam as diferenças entre os grupos tratados. A análise dos resultados foi feita através análise de variância *three-way* seguida do teste *post-hoc* Bonferroni. (*P<0.05, ****P<0.0001). Abreviações: DPN = dia pós-natal; EST = estresse; QNP = quinpirole; SAL = salina.

Para estabelecer uma melhor relação entre os parâmetros etológicos de tempo de permanência nos braços abertos e fechados, calculou-se a razão do TPBF pelo TPBA (Figura 17). A análise da razão entre os tempos revelou um efeito significativo entre os fatores “sexo” e “tratamento neonatal” [F(1, 72) = 13.03, P = 0.001], “sexo” e “estresse” [F(1, 72) = 80.36, P<0.0001]. Entretanto, não houve interação entre os três fatores [F(1, 72) = 3.42, P = 0.068]. Somente as fêmeas apresentaram uma diminuição na razão quando submetidas a tratamento

neonatal com QNP quando comparadas com o grupo controle ($P=0.006$). Somente no grupo dos animais machos submetidos a exposição precoce ao estresse houve um aumento na exploração dos braços fechados quando comparado com o grupo não exposto ao estresse ($P<0.0001$). Apenas nos animais fêmeas sensibilizados e expostos ao estresse houve uma diminuição da razão quando comparado com o grupo não sensibilizado e exposto ao estresse ($P<0.0001$). Os machos que foram submetidos ao estresse precoce apresentam um aumento significativo na exploração dos braços fechados quando comparado com as fêmeas submetidas ao estresse ($P<0.0001$). Assim como, os machos sensibilizados e expostos ao estresse precoce apresentaram um aumento significativo, na exploração dos braços fechados em relação aos abertos, quando comparados com as fêmeas sensibilizados e expostas ao estresse ($P<0.0001$).

Figura 17 Efeito do quinpirole neonatal, estresse e quinpirole associado ao estresse na razão de exploração dos braços fechados em relação aos braços abertos em camundongos machos e fêmeas.

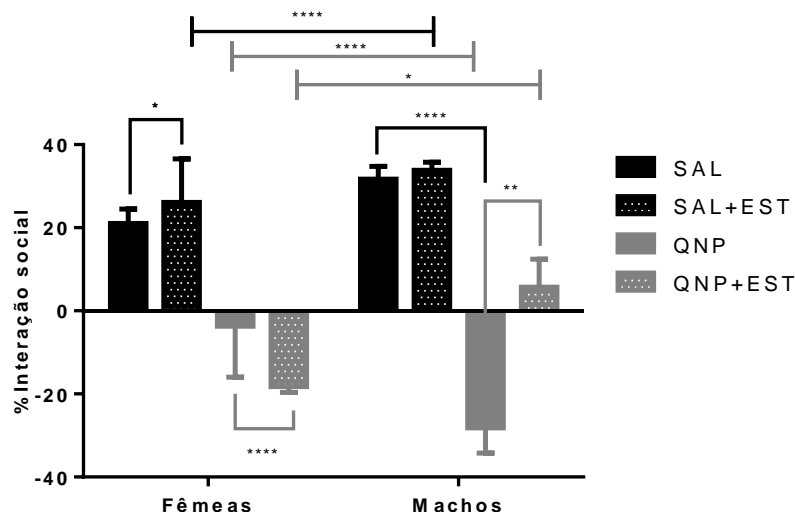


Os camundongos foram tratados com salina ou QNP 1 mg/kg (i.p.) no intervalo DPN 3-13. Entre o DPN 22-30 os animais foram expostos ao estresse ou não. As barras representam a média \pm E.P.M da divisão entre o tempo de permanência nos braços fechados pelo tempo de permanência nos braços abertos ($n=10$ animais/grupo). Os conectores de cor cinza representam as diferenças entre os grupos tratados. A análise dos resultados foi feita através análise de variância *three-way* seguida do teste *post-hoc* Bonferroni. (* $P<0.05$, ** $P<0.001$, **** $P<0.0001$). Abreviações: DPN = dia pós-natal; EST = estresse; QNP = quinpirole; SAL = salina.

6.1.3 Teste de sociabilidade e preferência por novidade social

Com o intuito de avaliar os comportamentos sociais dos sujeitos estudados, registrou-se os parâmetros de sociabilidade ou interação social e preferência por novidade social, que está relacionada com memória social. A análise da porcentagem de interação social (Figura 18) revelou uma interação significativa entre os fatores “sexo” e “tratamento” [$F(1, 72) = 16.71, P < 0.0001$]. Além disso, demonstrou uma interação entre os fatores “sexo” e “estresse” [$F(1, 72) = 29.95, P < 0.0001$] e uma interação significativa entre os três fatores [$F(1, 72) = 7.15, P = 0.009$]. Apenas os machos sensibilizados diminuíram significativamente a interação social quando comparado com o grupo controle salina ($P < 0.0001$). As fêmeas submetidas ao estresse precoce aumentaram a interação social quando comparado ao grupo controle não submetido ao estresse ($P = 0.012$). Enquanto que no grupo fêmeas sensibilizadas e submetida ao estresse houve uma diminuição da interação social quando comparada com o grupo apenas sensibilizado ($P < 0.0001$), no grupo dos machos sensibilizados, a posterior exposição ao estresse reverteu a diminuição na interação social quando comparado com o grupo apenas sensibilizado ($P = 0.001$). Além disso, houve um aumento significativo na interação social quando se compararam os grupos de animais machos estressados e fêmeas estressadas ($P < 0.0001$). Os animais machos sensibilizados apresentaram uma diminuição ainda mais significativa quando comparados aos animais fêmeos sensibilizados ($P < 0.0001$).

Figura 18 Efeito do quinpirole neonatal, estresse e quinpirole associado ao estresse na porcentagem de interação social em camundongos machos e fêmeas.

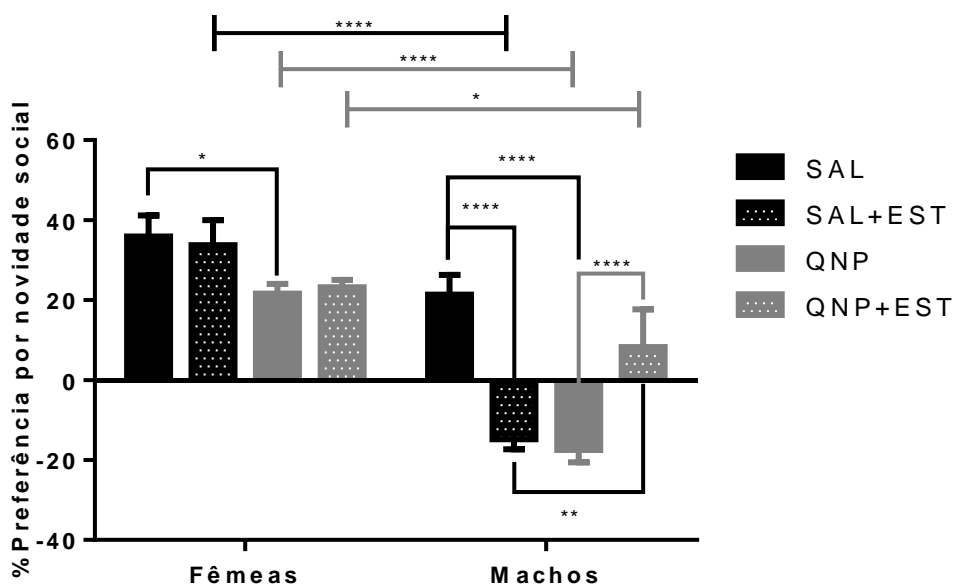


Os camundongos foram tratados com salina ou QNP 1 mg/kg (i.p.) no intervalo DPN 3-13. Entre o DPN 22-30 os animais foram expostos ao estresse ou não. As barras representam a média \pm E.P.M da porcentagem de interação social (n=10 animais/grupo). Os conectores de cor cinza representam as diferenças entre os grupos tratados. A análise dos resultados foi feita através análise de variância *three-way* seguida do teste *post-hoc* Bonferroni. (*P<0.05, **P<0.001, ****P<0.0001). Abreviações: DPN = dia pós-natal; EST = estresse; QNP = quinpirole; SAL = salina.

Outro comportamento social analisado foi a preferência social por novidade (Figura 19). A análise dos dados revelou uma interação entre os fatores “estresse” e “tratamento” [F(1, 72) = 20.94, P<0.0001] e uma interação entre os três fatores [F(1, 72) = 16.45, P<0.0001]. Ambos os sexos apresentaram uma menor preferência social quando sensibilizados quando comparado com os grupos controle saline (machos: P<0.0001, fêmeas: P=0.05). Somente os animais machos submetidos ao estresse precoce demonstraram uma diminuição significativa na porcentagem de preferência social quando comparados com o grupo não submetido ao estresse (P<0.0001). O grupo de animais machos sensibilizados e submetidos ao estresse reverteu a diminuição na preferência social quando comparados com os animais machos sensibilizados, mas não submetidos ao estresse (P<0.0001). Os camundongos machos submetidos ao estresse precoce apresentaram inversão na preferência social quando comparado com as fêmeas submetidas ao estresse (P<0.0001). O grupo de animais machos sensibilizados também apresentaram uma inversão da preferência social quando comparado com o grupo de fêmeas sensibilizadas (P<0.0001). Os machos

sensibilizados e submetidos ao estresse precoce diminuíram a preferência social quando comparado com as fêmeas sensibilizadas e submetidas ao estresse ($P=0.040$).

Figura 19 Efeito do quinpirole neonatal, estresse e quinpirole associado ao estresse na porcentagem de preferência social por novidade em camundongos machos e fêmeas.



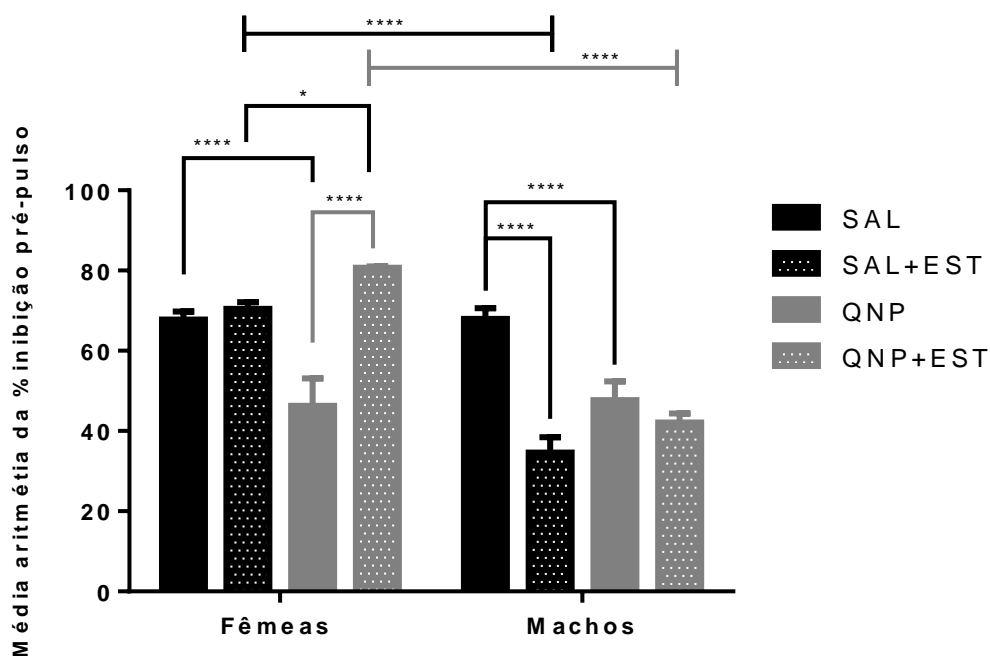
Os camundongos foram tratados com salina ou QNP 1 mg/kg (i.p.) no intervalo DPN 3-13. Entre o DPN 22-30 os animais foram expostos ao estresse ou não. As barras representam a média \pm E.P.M da porcentagem de preferência social por novidade ($n=10$ animais/grupo). Os conectores de cor cinza representam as diferenças entre os grupos tratados. A análise dos resultados foi feita através análise de variância *three-way* seguida do teste *post-hoc* Bonferroni. (* $P<0.05$, ** $P<0.001$, **** $P<0.0001$). Abreviações: DPN = dia pós-natal; EST = estresse; QNP = quinpirole; SAL = salina.

6.1.4 Teste de inibição pré-pulso

O teste de inibição pré-pulso foi usado para avaliar a função sensório-motor atencional. A análise de IPP (Figura 20) revelou uma interação entre os fatores “sexo” e “estresse” [$F(1, 72) = 56.27, P<0.0001$], “estresse” e “tratamento” [$F(1, 72) = 34.58, P<0.0001$]. Contudo, não houve uma interação entre as três variáveis [$F(1, 72) = 0.155, P = 0.695$]. Tanto o grupo de animais fêmeas quanto o grupo de animais machos sensibilizados apresentaram déficits de IPP quando comparados aos grupos controles não sensibilizados (machos e fêmeas: $P<0.0001$). Apenas nos machos foi observado que a exposição ao estresse precoce causou significativo déficit de IPP quando comparados ao grupo controle ($P<0.0001$).

Curiosamente, as fêmeas sensibilizadas e submetidas ao estresse apresentaram uma reversão do déficit de IPP causado pela sensibilização por QNP ($P<0.0001$). Os machos submetidos ao estresse precoce apresentaram déficits de IPP quando comparados com as fêmeas submetidas ao estresse ($P<0.0001$). Os machos sensibilizados e expostos ao estresse apresentam maior déficit de IPP quando comparados com as fêmeas sensibilizadas e expostas ao estresse ($P<0.0001$).

Figura 20 Efeito do quinpirole neonatal, estresse e quinpirole associado ao estresse na porcentagem de inibição pré-pulso em camundongos machos e fêmeas.



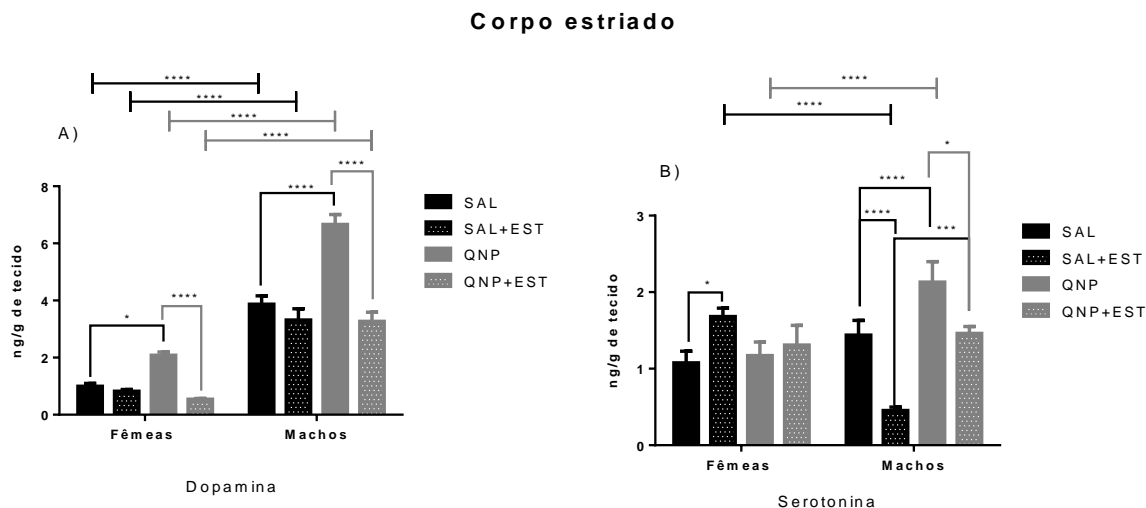
Os camundongos foram tratados com salina ou QNP 1 mg/kg (i.p.) no intervalo DPN 3-13. Entre o DPN 22-30 os animais foram expostos ao estresse ou não. As barras representam a média \pm E.P.M das médias dos valores de porcentagem de IPP nos pré-pulsos de 70, 75 e 80. ($n=10$ animais/grupo). Os conectores de cor cinza representam as diferenças entre os grupos tratados. A análise dos resultados foi feita através análise de variância *three-way* seguida do teste *post-hoc* Bonferroni. (* $P<0.05$, **** $P<0.0001$). Abreviações: DPN = dia pós-natal; EST = estresse; QNP = quinpirole; SAL = salina.

6.1.5 Determinação dos níveis de dopamina e serotonina no corpo estriado

Buscamos investigar se o *priming* de receptor D2 e/ou os eventos estressantes na infância poderia alterar a liberação de neurotransmissores no corpo estriado desses animais quando adultos. A análise dos níveis de dopamina (Figura 21A) revelou uma interação significativa entre os fatores “tratamento neonatal” e “sexo” [$F(1, 64) = 8.846, P = 0.004$], uma interação entre os fatores “sexo” e “estresse” [$F(1, 64) = 11.338, P = 0.001$]. Também demonstrou uma interação entre “tratamento” e “estresse” [$F(1, 64) = 31.840, P < 0.0001$] e uma interação significativa entre os três fatores [$F(1, 64) = 5.269, P = 0.025$]. Os machos e as fêmeas submetidas ao *priming* de receptor D2 apresentaram aumento na liberação de dopamina no corpo estriado quando comparados aos controles salina (machos: $P < 0.0001$, fêmeas: $P = 0.014$). Os machos e fêmeas submetidos ao *priming* de receptor D2 e expostos ao estresse na infância apresentaram menores níveis de dopamina quando comparado aos animais apenas submetidos ao *priming* de receptor D2 (machos e fêmeas: $P < 0.0001$). Foi possível observar um dimorfismo sexual nos níveis de dopamina, os machos apresentando maiores níveis de dopamina no corpo estriado em relação as fêmeas ($P < 0.0001$).

Com relação a análise de serotonina no corpo estriado (Figura 21B) foi possível observar revelar uma interação significativa entre as variáveis “tratamento” e “sexo” [$F(1, 64) = 15.419, P < 0.0001$], além de uma interação entre as variáveis “estresse” e “sexo” [$F(1, 64) = 22.658, P < 0.0001$]. Em contrapartida, não foi observado uma interação significativa entre os três fatores [$F(1, 64) = 2.427, P = 0.125$]. A análise *post-hoc* permitiu observar que as fêmeas submetidas as estresse na infância apresentam níveis aumentados de serotonina no corpo estriado quando comparado ao grupo controle ($P < 0.05$). Por outro lado, os machos submetidos ao estresse na infância apresentaram níveis diminuídos de serotonina ($P < 0.0001$). Os machos com o receptor D2 sensibilizado apresentaram níveis de serotonina maiores que as fêmeas submetidas a sensibilização de receptor D2 ($P < 0.0001$).

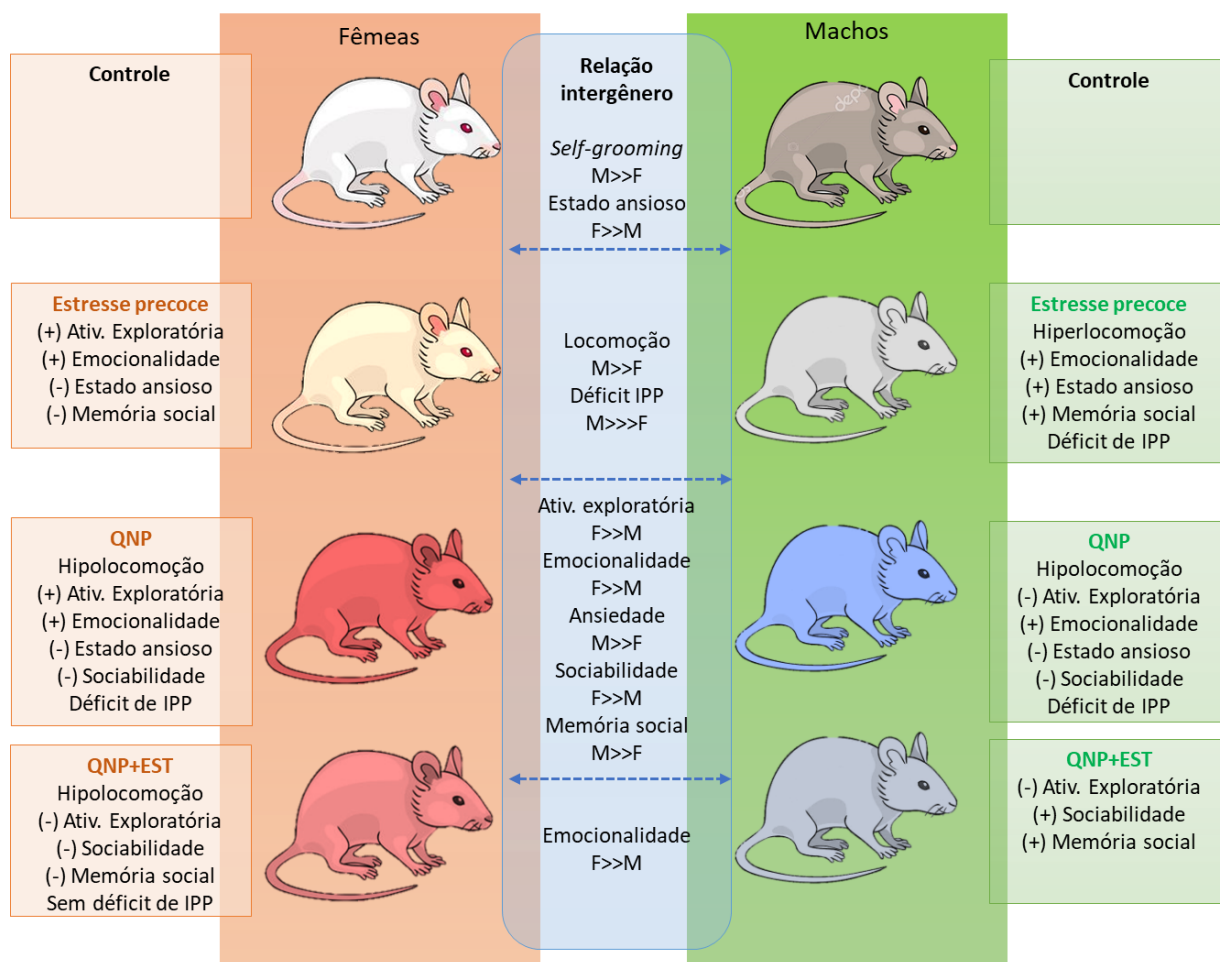
Figura 21 Efeito do quinpirole neonatal, estresse e quinpirole associado ao estresse níveis de dopamina e serotonina no corpo estriado de camundongos machos e fêmeas.



Os camundongos foram tratados com salina ou QNP 1 mg/kg (i.p.) no intervalo DPN 3-13. Entre o DPN 22-30 os animais foram expostos ao estresse ou não. As barras representam a média \pm E.P.M das médias dos valores de ng/g de tecido fresco, corpo estriado. (n=8 animais/grupo). Os conectores de cor cinza representam as diferenças entre os grupos tratados. A análise dos resultados foi feita através análise de variância *three-way* seguida do teste *post-hoc* Bonferroni. (*P<0.05, ***P<0.001, ****P<0.0001). Abreviações: DPN = dia pós-natal; EST = estresse; QNP = quinpirole; SAL = salina.

Com a finalidade de melhorar a compreensão sobre as alterações comportamentais encontradas elaborou-se um resumo gráfico sobre os principais parâmetros analisados (Figura 22).

Figura 22 Resumo gráfico dos resultados obtidos nos testes comportamentais.



Na representação gráfica acima, os quadros principais são divididos por gênero (fêmeas e machos). Na vertical está separado em diferentes grupos: controle, estresse precoce sozinho, sensibilização de receptor D₂ por QNP e a sensibilização associada ao estresse precoce. A quadro azul central refere-se aos efeitos de dimorfismo sexual. O sinal (+) significa um aumento no parâmetro citado e o sinal (-) significa uma diminuição. O sinal (>>) representa um aumento relativo entre machos e fêmeas. Abreviaturas: EST – estresse; F – fêmeas; QNP – quinpirole; M – machos.

7 DISCUSSÃO

No presente estudo foi demonstrado que a sensibilização de receptores D2 durante o período neonatal associado ou não com exposição a estressores ambientais precoce provocou alterações comportamentais na fase adulta de camundongos machos e fêmeas. Algumas dessas alterações apresentou um dimorfismo sexual. Foi possível observar que machos e fêmeas quando submetidos a *priming* de receptor D2 apresentam menor atividade locomotora. As fêmeas apresentaram maior atividade exploratória que os machos. Ambos apresentaram maior emocionalidade (as fêmeas mais que os machos). Além disso, apresentaram menos comportamento tipo-ansioso (machos mais que as fêmeas). Ambos se demonstraram menos sociáveis e com déficit de IPP. Quando apenas expostos ao estresse na infância, os machos apresentaram hiperlocomoção, maior emocionalidade, comportamento tipo-ansioso, déficit de IPP e nenhuma alteração na memória social. Enquanto que as fêmeas apresentam maior atividade exploratória e déficits de memória social. Quando expostos tanto ao *priming* de receptor D2 quanto estresse na infância, os animais não apresentaram o mesmo conjunto de alterações ou uma exacerbação dos mesmos. As fêmeas continuaram apresentaram hipolocomoção (os machos uma menor atividade exploratória). As fêmeas apresentaram menor sociabilidade e déficits de memória social, enquanto os machos não apresentaram déficit social. Ambos não apresentaram déficits de IPP.

Esse conjunto de alterações sugere que o *priming* de receptor D2 leva a uma piora em comportamentos semelhantes aos sintomas “cognitivos” e “negativos” da esquizofrenia em ambos os sexos. Além disso, a exposição precoce ao estresse provoca um estado de ansiedade e maior emocionalidade nos animais, sendo os machos com mais características ansiosas. E quando se refere a exposição ao estresse nos animais com *priming* de receptor D2, apenas as fêmeas apresentaram comportamentos semelhantes aos sintomas “negativos” da esquizofrenia.

Um subconjunto de pacientes com esquizofrenia exibe agitação psicomotora como sintoma “positivo”, que incluem hiperatividade e elevação nos movimentos estereotipados (POWELL; MIYAKAWA, 2006). A hiperatividade tem sido demonstrada em muitos modelos animais de esquizofrenia (LIPSKA; WEINBERGER, 2000). O teste de campo aberto foi primeiro proposto para avaliar o comportamento emocional em animais (HALL, 1934). Atualmente, pode-se mensurar respostas comportamentais como atividade locomotora (BASSO; BEATTIE; BRESNAHAN, 1995; SEIBENHENER; WOOTEN, 2015), atividade

exploratória (ALVAREZ et al., 2006; CRAWLEY, 1985), hiperatividade (FUKUSHIRO et al., 2008) e um estado de ansiedade nos animais analisados (PRUT; BELZUNG, 2003). A quantidade de vezes que o animal realiza o comportamento de *rearing* depende não apenas da exploração por si, mas também com a quantidade de atividade locomotora do animal. Além disso, o número de *rearing* representa a exploração, semelhante a inspecionar diversos lugares do ambiente (TANAKA et al., 2012).

A administração neonatal de QNP (agonista de receptor dopaminérgico D₂) resulta no aumento da sensibilidade do receptor D₂ que persiste durante a vida do animal (BROWN; PETERSON, 2016). O tratamento crônico com QNP em ratos durante a fase adulta produz uma hiperlocomoção acentuada nos animais (SZECHTMAN et al., 1994). Outra pesquisa demonstrou que o tratamento neonatal com QNP aumenta a resposta locomotora a uma droga psicoestimulante (anfetamina) (COPE et al., 2010). De outra forma, nossos achados mostram que o tratamento neonatal com QNP induz em camundongos uma hipolocomoção quando esses sujeitos alcançam a idade adulta, não representando sintomas “positivos” característicos de uma população de pacientes com esquizofrenia. A resposta locomotora a uma substância pode envolver a função de outros receptores de dopamina. Um estudo realizado com ratos adultos demonstrou que a administração aguda de quinpirole diminui a atividade locomotora e um agonista de receptor D₁ aumenta esta atividade. Nesse estudo, os receptores D₂ não eram supersensibilizados, ou seja, seu estado de afinidade era normal (SCHINDLER; CARMONA, 2002).

Experiências estressantes têm um profundo impacto na função cerebral e pode levar a alterações de curto a longo prazo nos comportamentos dos roedores. (MCLAUGHLIN; BARAN; CONRAD, 2009). Uma pesquisa utilizando um teste de campo aberto automatizado, mostrou que os comportamentos de *rearing* parecem ser dependentes do contexto e serem comportamentos sensíveis ao estresse agudo. Além disso, apresenta clara diferença sexual, sendo que as fêmeas fazem menos *rearing* que os machos (STURMAN; GERMAIN; BOHACEK, 2018). No nosso estudo, as fêmeas “controle” realizaram menos *rearing* que os machos. Interessantemente, quando as fêmeas foram expostas ao estresse precoce elas aumentaram esse comportamento e os machos não.

Outro parâmetro analisado no teste de campo aberto foi o *self-grooming* ou autolimpeza. Estudar o fenótipo de *self-grooming* pode ser proveitoso para avaliar modelos animais de transtornos nos quais os comportamentos repetitivos são marcantes, como Síndrome do Espectro Autista (KALUEFF et al., 2016). Sendo uma medida relacionada com

o comportamento repetitivo desses animais. O comportamento de *self-grooming* têm influência do contexto e dos hormônios gonadais, sendo que os machos normalmente apresentam esse comportamento maior que as fêmeas (MOORE, 1986). Corroborando com esses achados em ratos, nós demonstramos que camundongos machos controle realizam mais *self-grooming* que as fêmeas e que esse comportamento não é sensível ao estresse ou *priming* de D2.

Um estudo clássico no teste de campo aberto demonstrou que normalmente ratos machos defecam mais que as fêmeas, contudo essa diferença sexual pode ser diferente em outras espécies de roedores (GRAY; LALLJEE, 1974). Em uma revisão sobre testes de emocionalidade em roedores, examinaram os comportamentos relacionados a um estado emocional alterado no teste de campo aberto, por exemplo. Um perfil comportamental em roedores de aumento de defecação e diminuição de atividade ambulatoria pode representar a base de uma resposta emocional aumentada (ARCHER, 1973b). Contudo, pode haver diferenças de acordo com a espécie e estirpe (ARCHER, 1975). Considerando esse perfil comportamental, as fêmeas com receptor D2 “sensibilizado” apresentam maior defecação e menor atividade ambulatoria (mais que os machos). Demonstrando que as fêmeas submetidas ao *priming* de receptor D2 têm um estado emocional aumentado quando alcançam a fase adulta.

Estabelecer uma relação entre experiências estressantes no início da vida e a emocionalidade em animais é complexo. Um estudo tentando esclarecer a relação entre estresse agudo e crônico na performance de ratos no teste de campo aberto, demonstrando que o estresse agudo aumenta os comportamentos motores e diminui a defecação, enquanto que o estresse crônico diminui a atividade locomotora no teste (KATZ; ROTH; CARROLL, 1981). Em ambos os protocolos, esses estressores foram aplicados de forma aguda ou cronicamente antes do teste. No nosso experimento, os animais foram expostos a eventos estressores no início da vida e avaliação comportamental foi realizada quando alcançaram a idade adulta.

Alguns estudos sugerem que a exposição ao estresse ou sobrecarga de hormônios relacionados ao estresse na primeira infância podem agir como um sinal de gatilho capaz de alterar o desenvolvimento de sistemas de resposta emocional e, potencialmente, tornar o animal susceptível a um maior risco de desenvolver ansiedade (CALLAGHAN; RICHARDSON, 2013).

Os comportamentos do tipo-ansiedade podem ser avaliados em testes como o labirinto em cruz elevado. Um estudo realizado em ratos demonstrou que há diferenças entre a

performance de machos e fêmeas no labirinto em cruz elevado. As fêmeas exibiram menos comportamentos do tipo-ansiedade comparado com o machos (XIANG; HAO; KOSTEN, 2011). Um estudo comparando várias estirpes de camundongos mostrou que, na maioria das estirpes, as fêmeas apresentam-se menos ansiosas que os machos (RODGERS; COLE, 1993; VÕIKAR et al., 2001). Por outro lado, em humanos, dados epidemiológicos mostram que as mulheres são significativamente mais propícias em desenvolver transtornos de ansiedade ao longo da vida comparadas aos homens (BRUCE et al., 2005; REGIER; NARROW; RAE, 1990). Uma vasta literatura existe sobre o desenvolvimento de estados ansiedade na idade adulta seguidos de experiências adversas no início da vida (DONNER; LOWRY, 2013). O estresse precoce na infância pode alterar a longo prazo o funcionamento de circuitos cerebrais relacionados com ansiedade. Experiências estressoras na infância, particularmente em crianças do sexo feminino podem levar a mudanças hormonais tardias e acarretar em disfunção em certas regiões cerebrais relacionadas com ansiedade e depressão quando atingem a adolescência (18 anos) (BURGHY et al., 2012).

As consequências do estresse na primeira infância são pouco entendidas e eventos estressores parecem causar distúrbios funcionais em regiões cerebrais responsáveis pelo comportamento emocional em humanos (KRUGERS; JOELS, 2014; TEICHER; TOMODA; ANDERSEN, 2006). Contudo, há uma dificuldade de replicar essas consequências de humanos para roedores e vice-versa, por sofrer influência do tipo (psicológico ou ambiental), intensidade (leve ou moderado) e duração de exposição (aguda, subcrônico ou crônico) desses eventos estressores. Por exemplo, a exposição a estresse moderado, como a separação materna, pode acarretar em um estado de ansiedade aumentado em fêmeas quando adultas, mas não nos machos (BONDAR; LEPESHKO; RESHETNIKOV, 2018). No nosso estudo, o período que ocorreu a exposição ao estresse subcrônico foi na infância tardia (que nos humanos será aproximadamente durante a segunda infância – 4-11 anos). Esse período (DPN-25-35) é crítico para o desenvolvimento cerebral dos roedores pois é onde ocorre maturação estrutural do córtex pré-frontal (TSUJIMOTO, 2008). Além disso, o córtex pré-frontal é uma das regiões mais sensíveis aos efeitos prejudiciais do estresse (ARNSTEN, 2009). Sendo assim, pode ser que a exposição a eventos estressores moderados durante um período de importante maturação do córtex pré-frontal pode alterar a resposta ao estresse a longo-prazo. Nós mostramos que os animais machos que passaram pelo *priming* de D2 e pelo estresse na infância apresentaram maior estado de ansiedade quando adultos. Sugerindo uma influência da neurotransmissão dopaminérgica na resposta ao estresse.

Entre os principais sintomas “negativos” da esquizofrenia estão o embotamento do afeto, a disfunção da capacidade de sentir prazer (anedonia) e a disfunção da socialização (associabilidade) (ALPHS et al., 1989; STAHL; BUCKLEY, 2007). A disfunção da socialização é um parâmetro que pode ser avaliado em roedores e possui valor translacional para os sintomas “negativos” em humanos (POWELL; MIYAKAWA, 2006). Os testes de interação social podem ser organizados em diferentes protocolos para avaliar os comportamentos sociais em modelos animais de esquizofrenia (MIYAKAWA et al., 2003; MOY et al., 2004; NADLER et al., 2004). Os modelos animais de esquizofrenia apresentam uma associabilidade ou uma diminuição na interação social. Observando modelos animais induzidos farmacologicamente, como a administração repetida de fenciclidina em ratos (MCKIBBEN; REYNOLDS; JENKINS, 2014) e cetamina em camundongos (VASCONCELOS et al., 2015); além de modelos de alteração do desenvolvimento cerebral em ratos (MONTE et al., 2017), pode-se perceber que a diminuição da sociabilidade é uma característica marcante de validade translacional.

Há poucas evidências sobre a relação entre o tratamento neonatal com quinpirole e as consequências a longo-prazo nos comportamentos sociais. Menos ainda se sabe sobre as consequências do *priming* de receptor D2 somado à exposição ao estresse e suas consequências na sociabilidade e preferências social. Porém, há estudos que tentam entender a relação entre a função da dopamina, e seus receptores, e os comportamentos sociais (KABITZKE et al., 2015). Um estudo acompanhou o desenvolvimento social em um modelo de animais transgênicos com aumento de atividade de receptor D2 no terminal pós-sináptico no estriado. Os animais fêmeos transgênicos apresentam disfunções sociais mais marcantes na adolescência e na fase adulta. No que concerne o contato social, as fêmeas apresentam menor interação social na fase adulta. Demonstrando o papel da disfunção dopamina no estriado e o desenvolvimento de comportamento sociais em camundongos (KABITZKE et al., 2015). Em humanos a população de receptores D2/D3 no estriado estão associadas com hierarquia social, sendo os voluntários com maior população de receptores D2/D3 no estriado aqueles mais alta hierarquia social (MARTINEZ et al., 2010). Em suma, há evidências que relacionam a alta atividade e aumento da população de receptores D2 com comportamentos, mas pouco se sabe sobre a sensibilidade desses receptores e a afiliação social.

A dopamina tem um papel significativo na regulação do comportamento social, como hierarquia social, agressão, impulsividade e afiliação social (YAMAGUCHI et al., 2017). Quando investigado o papel do receptor D2 na afiliação social em camundongos, um estudo

sugeriu que a administração de quinpirole em camundongos adultos reduz a investigação social durante um teste adaptado de caixa claro-escuro (GAO; CUTLER, 1993).

Um estudo tentou investigar os aspectos que se assemelham a sintomatologia “negativa” da esquizofrenia em ratos machos usando o mesmo paradigma de sociabilidade e preferência social por novidade. Os pesquisadores testaram as alterações comportamentais que a administração aguda e subcrônica de Fenciclidina produziriam neste paradigma social. Foi demonstrado que a administração aguda foi capaz de reduzir a sociabilidade, mas não a preferência social. Enquanto a subcrônica não alterou os comportamentos sociais (MCKIBBEN; REYNOLDS; JENKINS, 2014). Nosso estudo é a primeira evidência de disfunção social a longo prazo em camundongos fêmeas e machos com supersensibilidade de receptores D2.

Por outro lado, também pode haver uma relação entre a exposição a estressores precocemente e uma alteração no comportamento social. A neurobiologia do estresse e a neurobiologia do comportamento social estão intimamente interligadas, de modo que uma interação social pode ser um estressor, assim como, eventos estressores podem alterar o comportamento social (BEERY; KAUFER, 2015). A exposição a estressores pode alterar a interação social em humanos, primatas e roedores (LYONS; PARKER; SCHATZBERG, 2010). Em um modelo utilizando ratos machos expostos a um único estresse prolongado acarretou em um reconhecimento social comprometido (EAGLE; FITZPATRICK; PERRINE, 2013).

O dimorfismo sexual na sociabilidade tem sido documentado em humanos (CONNELLAN et al., 2000). Diferenças sexuais têm sido descritas previamente no teste de interação social em ratos, no qual os ratos machos adultos estaria mais atraído a interagir socialmente do que as fêmeas adultas (ou seja, os ratos machos seriam menos socialmente ansiosos que as fêmeas) (JOHNSTON; FILE, 1991). Um estudo demonstrou que o estresse social acarreta em habilidades sociais disfuncionais, diminuindo a interação social em camundongos fêmeas, mas não nos machos, utilizando uma linhagem de camundongos diferentes (TRAINOR et al., 2011). Um comprometimento na interação social pode estar relacionado com comportamento do tipo-ansiedade social em ratos. Um experimento buscando investigar os fatores importantes que mediariam o dimorfismo sexual no teste de interação social, demonstrou que a ovariectomia em ratas fêmeas não modificou a interação social, mesmo quando tratadas agudamente com estradiol. Além de mostrar que a interação social não é afetada pelas alterações hormonais que ocorrem durante o ciclo estral (STACK et

al., 2010). Nós demonstramos que as fêmeas expostas ao estresse durante a infância tardia apresentaram maior sociabilidade quando adultas. Um estudo realizado em camundongos demonstram que fêmeas submetidas a estressores moderados (separação maternal) na primeira infância apresentam aumento no comportamento social, no teste de interação social, quando analisadas na fase adulta (BONDAR; LEPESHKO; RESHETNIKOV, 2018).

Nossos achados mostraram que há uma diminuição na interação social tanto em camundongos machos quanto em fêmeas submetidos ao *priming* de receptor D2 (os machos apresentando ainda menos interação social que as fêmeas). Demonstrando que reproduz aspectos de uma sintomatologia “negativa” da esquizofrenia tanto em machos quanto fêmeas. Outro aspecto semelhante aos sinais “negativos” é a preferência social diminuída (POWELL; MIYAKAWA, 2006). Tantos os machos quanto as fêmeas com o receptor D2 sensibilizado apresentam diminuição de preferência por novidade social. Além disso, esse teste pode refletir déficits de memória social. Modelos animais que analisam a memória e o reconhecimento social são pertinentes no estudo de diferentes transtornos do Sistema Nervoso Central que envolve disfunção cognitiva (GAO et al., 2009). Em um modelo de administração repetida de cetamina, que replica sintomas de esquizofrenia, foi possível observar que cetamina prejudica a memória e reconhecimento social. Além de evidenciar que o tratamento com antipsicóticos típicos e atípicos revertem essas alterações no comportamento social induzidas por cetamina (GAO et al., 2009). Nesse contexto, nós demonstramos que as fêmeas submetidas ao *priming* de receptor D2 apresentam mais prejuízo de memória social que os machos. Também demonstrando aspectos cognitivos semelhantes aos característicos da esquizofrenia.

As respostas de sobressalto são compostas por um conjunto de comportamentos de reflexo com intuito de preparar o organismo a encarar um potencial estímulo agressor. A inibição pré-pulso foi inicialmente desenvolvida para pesquisa neuropsiquiátrica em humanos como uma medida operacional para avaliar o filtro sensorio (*sensory gating*) (BRAFF; GRILLON; GEYER, 1992). O filtro sensorio é o processo pelo qual os estímulos irrelevantes são separados ou “filtrados” dos estímulos com significado (importantes) e isso pode estar sujeito a alteração tanto na sobrecarga sensoria quanto em déficits cognitivos, como observado na esquizofrenia (JONES et al., 2016). Déficit de IPP pode representar a interface entre “psicose e cognição” pois parecem predizer o prejuízo cognitivo nos pacientes com esquizofrenia (GEYER, 2006; VAN DEN BUUSE, 2010). A IPP está deficitária em pacientes que sofrem de esquizofrenia (BRAFF; GEYER; SWERDLOW, 2001). Além disso, o déficit de IPP é considerado um candidato a fenótipo intermediário (endofenótipo) da esquizofrenia

(TAKAHASHI et al., 2011). Dessa forma, a IPP representa uma ferramenta translacional para investigação de aspectos da esquizofrenia em modelos animais, como, por exemplo, em modelos de esquizofrenia com camundongos geneticamente modificados (BRODY et al., 2004; POWELL; ZHOU; GEYER, 2009).

Um estudo realizado em ratos, demonstrou que a administração neonatal com quinpirole provoca déficits no filtro sensorio-motor auditivo desses animais, de ambos os sexos, quando adultos (MAPLE et al., 2015). Corroborando com nossos achados, os camundongos submetidos a administração neonatal com quinpirole apresentaram déficits no filtro sensorio-motor quando adultos. Não havendo diferença entre os sexos. A exposição ao estresse na infância tardia parece não aumentar o déficit cognitivo nos animais com receptor D2 sensibilizado. De forma intrigante, os camundongos machos expostos ao estresse na infância apresentaram déficits de IPP. Um estudo realizado em camundongos machos e fêmeas adultos mostrou que a exposição a estresse de contenção, considerado moderado, provoca um déficit de IPP nesses animais. Demonstrando que a exposição a estresse também pode alterar o processo cognitivo (POWERS; CHESTER, 2014). Nossos achados, corrobora mostrando que experiências estressoras no início da vida podem ter consequências cognitivas a longo-prazo nos animais machos.

Estudos têm reportado que há diferenças importantes entre ratos *Wistar* machos e fêmeas no teste de inibição pré-pulso. Diversos experimentos têm demonstrado que ratos machos sadios apresentam maior IPP quando comparados com as fêmeas (LEHMANN; PRYCE; FELDON, 1999). Contudo, parecer haver influência da estirpe dos animais, pois ratos *Sprague Dawley* parecem não apresentar diferenças na habituação e inibição pré-pulso à resposta de sobressalto acústico (SHAIKH; SCHMID, 2014). Com o intuito de entender a relação entre a neurotransmissão dopaminérgica e o processo cognitivo subjacente ao filtro sensorio-moto, um estudo demonstrou que substâncias que ativam ou facilitam a neurotransmissão mediada por dopamina induz déficits de IPP nos animais (SWERDLOW et al., 1991). Com base em um experimento em camundongos, pesquisadores investigaram o efeito do dimorfismo sexual e do ciclo estral nos parâmetros analisados no teste de IPP. Por conseguinte, foi possível demonstrar que o ciclo estral aparenta não ter influência na amplitude do sobressalto, habituação, facilitação do pré-pulso e inibição pré-pulso. Apesar de em ratos e em humanos as variações hormonais do ciclo estral parecem influenciar a IPP. Nesse mesmo estudo, não foi demonstrada influência do sexo no parâmetro de IPP e

facilitação do pré-pulso. Todavia, os camundongos machos exibiram maiores amplitudes de sobressalto comparados com as fêmeas (PLAPPERT; RODENBÜCHER; PILZ, 2005).

Em se tratando das alterações neuroquímicas, nossos achados mostraram um aumento nos níveis estriatais de dopamina nos animais submetidos ao *priming* de receptor D2. Corroborando com achados clínicos em pacientes com esquizofrenia, que apresentam uma hiperfunção dopaminérgica no estriado (ABI-DARGHAM et al., 1998; KAALUND et al., 2014). Sugerindo uma semelhança com as alterações neurobiológicas encontradas na esquizofrenia.

Em suma, pode-se notar que as alterações comportamentais induzidas apenas pelo *priming* de receptores D2 se assemelham aos sintomas “negativos” e “cognitivos” da esquizofrenia tanto nos machos quanto nas fêmeas. Por outro lado, quando submetidos aos eventos estressantes na infância os animais machos com receptores D2 sensibilizados apresentam sintomas semelhantes a esquizofrenia e as fêmeas não apresentaram.

Nosso estudo teve como limitações o período no qual os animais foram submetidos aos eventos de vida estressantes na infância tardia, podendo-se avaliar a exposição na adolescência tardia, início da fase adulta. Além disso, o período no qual ocorreu a avaliação comportamental pode ser mais tardio para avaliar o início das alterações comportamentais e a influência do sexo, considerando que nos humanos há uma diferença entre os sexos no que concerne ao início dos sintomas.

8 CONCLUSÃO

Em conjunto, nossos achados demonstraram que a administração neonatal de quinpirole, que por sua vez, produz uma sensibilização duradoura de receptores de dopamina, provoca consequências mecânicas relevantes no animal adulto. Principalmente, um prejuízo na sociabilidade, preferência social e déficits no processo cognitivo do filtro sensorio-motor auditivo. Não demonstrando todas alterações na atividade psicomotora. Dessa forma, o presente estudo representa um valor translacional para sintomatologia “negativa” e “cognitiva” da esquizofrenia, mas não em relação aos sintomas “positivos”. No geral, não apresentou uma forte influência do sexo. Contudo, os camundongos fêmeas apresentaram um maior componente afetivo que os machos. Assim como, nos achados fisiopatológicos da esquizofrenia como alterações dopaminérgicas e serotoninérgicas estriatais.

A exposição aos eventos estressantes na infância tardia foi capaz de induzir alterações no estado emocional e estado de ansiedade nos animais adultos. Nota-se que os machos foram mais susceptíveis aos efeitos do estresse precoce, apresentando maior estado de ansiedade, emocionalidade e, de certa forma, déficits cognitivos.

Em termos gerais, a sensibilização dos receptores D2 somada a exposição ao estresse na infância tardia aparentou não incrementar os déficits induzidos pelo tratamento e estresse separadamente. Contudo, foi possível perceber uma influência do sexo nesses achados. Os camundongos machos apresentaram comportamentos tipo-esquizofrenia enquanto as fêmeas não apresentaram. Desta forma, o conjunto de aspectos comportamentais observados não representam fidedignamente uma sintomatologia semelhante à reportada na esquizofrenia. Faz-se necessário a idealização de experimentos adicionais para se avaliar os mecanismos neurobiológicos alterados utilizando-se este modelo animal.

REFERÊNCIAS

- ABEL, K. M.; DRAKE, R.; GOLDSTEIN, J. M. Sex differences in schizophrenia. **International Review of Psychiatry**, 2010.
- ABI-DARGHAM, A. et al. Increased striatal dopamine transmission in schizophrenia: Confirmation in a second cohort. **American Journal of Psychiatry**, 1998.
- ABI-DARGHAM, A.; MOORE, H. Prefrontal DA transmission at D1 receptors and the pathology of schizophrenia. **Neuroscientist**, 2003.
- ADITYANJEE et al. Dementia praecox to schizophrenia: The first 100 years. **Psychiatry and Clinical Neurosciences**, 1999.
- ALBANESE, A; ALTAVISTA, M. C.; ROSSI, P. Organization of central nervous system dopaminergic pathways. **Journal of Neural Transmission. Supplementum**, 1986.
- ALPHS, L. D. et al. The negative symptom assessment: a new instrument to assess negative symptoms of schizophrenia. **Psychopharmacology bulletin**, v. 25, n. 2, p. 159–163, 1989.
- ALVAREZ, J. DO N. et al. Amphetamine-induced rapid-onset sensitization: Role of novelty, conditioning and behavioral parameters. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, 2006.
- ANDREASEN, N. C. et al. Defining the phenotype of schizophrenia: Cognitive dysmetria and its neural mechanisms. **Biological Psychiatry**, 1999.
- ANGRIST, B.; KAMMEN, D. P. VA. CNS stimulants as tools in the study of schizophrenia. **Trends in Neurosciences**, 1984.
- ANTONOVA, E. et al. The relationship between brain structure and neurocognition in schizophrenia: A selective review. **Schizophrenia Research**, 2004.
- ARCHER, J. Tests for emotionality in rats and mice: a review. **Anim Behav**, v. 21, n. 2, p. 205–235, 1973a.
- ARCHER, J. Tests for emotionality in rats and mice: A review. **Animal Behaviour**, 1973b.
- ARCHER, J. Rodent sex differences in emotional and related behavior. **Behavioral Biology**, 1975.
- ARNOLD, S. E.; TALBOT, K.; HAHN, C. G. Neurodevelopment, neuroplasticity, and new genes for schizophrenia. **Progress in Brain Research**, 2004.

- ARNSTEN, A. F. T. Stress signalling pathways that impair prefrontal cortex structure and function. **Nature Reviews Neuroscience**, 2009.
- ARSENEAULT, L. et al. Childhood trauma and children's emerging psychotic symptoms: A genetically sensitive longitudinal cohort study. **American Journal of Psychiatry**, 2011.
- AYANO, G. Schizophrenia: A Concise Overview of Etiology, Epidemiology Diagnosis and Management: Review of literatures. **Journal of Schizophrenia Research**, 2016.
- BASSO, D. M.; BEATTIE, M. S.; BRESNAHAN, J. C. A Sensitive and Reliable Locomotor Rating Scale for Open Field Testing in Rats. **Journal of Neurotrauma**, 1995.
- BEARDS, S. et al. Life events and psychosis: A review and meta-analysis. **Schizophrenia Bulletin**, 2013.
- BEAULIEU, J.-M.; GAINETDINOV, R. R. The Physiology, Signaling, and Pharmacology of Dopamine Receptors. **Pharmacological Reviews**, 2011.
- BEERY, A. K.; KAUFER, D. Stress, social behavior, and resilience: Insights from rodents. **Neurobiology of Stress**, 2015.
- BLANCHARD, J. J.; COHEN, A. S. **The structure of negative symptoms within schizophrenia: Implications for assessment**. Schizophrenia Bulletin. **Anais...**2006
- BONDAR, N. P.; LEPESHKO, A. A.; RESHETNIKOV, V. V. Effects of Early-Life Stress on Social and Anxiety-Like Behaviors in Adult Mice: Sex-Specific Effects. **Behavioural Neurology**, v. 2018, p. 32–34, 2018.
- BRAFF, D. L.; GEYER, M. A.; SWERDLOW, N. R. Human studies of prepulse inhibition of startle: Normal subjects, patient groups, and pharmacological studies. **Psychopharmacology**, 2001.
- BRAFF, D. L.; GRILLON, C.; GEYER, M. A. Gating and Habituation of the Startle Reflex in Schizophrenic Patients. **Archives of General Psychiatry**, 1992.
- BRODY, S. A. et al. Assessment of a prepulse inhibition deficit in a mutant mouse lacking mGlu5 receptors. **Molecular Psychiatry**, 2004.
- BROWN, A. S. The environment and susceptibility to schizophrenia. **Progress in Neurobiology**, 2011.
- BROWN, R. W. et al. Neonatal quinpirole treatment impairs morris water task performance in early postweanling rats: Relationship to increases in corticosterone and decreases in

neurotrophic factors. **Biological Psychiatry**, 2004.

BROWN, R. W. et al. Adulthood olanzapine treatment fails to alleviate decreases of ChAT and BDNF RNA expression in rats quinpirole-primed as neonates. **Brain Research**, 2008.

BROWN, R. W.; GASS, J. T.; KOSTRZEWA, R. M. Ontogenetic quinpirole treatments produce spatial memory deficits and enhance skilled reaching in adult rats. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, 2002.

BROWN, R. W.; PETERSON, D. J. Applications of the neonatal quinpirole model to psychosis and convergence upon the dopamine D2 receptor. **Current Topics in Behavioral Neurosciences**, 2016.

BRUCE, S. E. et al. Influence of psychiatric comorbidity on recovery and recurrence in generalized anxiety disorder, social phobia, and panic disorder: A 12-year prospective study. **American Journal of Psychiatry**, 2005.

BURGHY, C. A. et al. Developmental pathways to amygdala-prefrontal function and internalizing symptoms in adolescence. **Nature Neuroscience**, v. 15, p. 1736, 11 nov. 2012.

CALLAGHAN, B. L.; RICHARDSON, R. Early experiences and the development of emotional learning systems in rats. **Biology of Mood & Anxiety Disorders**, 2013.

CARLSSON, A. Thirty years of dopamine research. **Advances in neurology**, v. 60, p. 1–10, 1993.

CARLSSON, A. et al. Interactions between monoamines, glutamate, and GABA in schizophrenia: New evidence. **Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol**, 2001.

CARLSSON, A.; LINDQVIST, M. Effect of Chlorpromazine or Haloperidol on Formation of 3-Methoxytyramine and Normetanephrine in Mouse Brain. **Acta Pharmacologica et Toxicologica**, 1963.

CARLSSON, A.; LINDQVIST, M.; MAGNUSSON, T. 3,4-Dihydroxyphenylalanine and 5-hydroxytryptophan as reserpine antagonists. **Nature**, 1957.

CASPI, A. et al. Influence of life stress on depression: Moderation by a polymorphism in the 5-HTT gene. **Science**, 2003.

CHEN, J.; LIPSKA, B. K.; WEINBERGER, D. R. Genetic Mouse Models of Schizophrenia: From Hypothesis-Based To Susceptibility Gene-Based Models. **Biological Psychiatry**, 2006.

CLARKE, M. C. et al. Evidence for an interaction between familial liability and prenatal

exposure to infection in the causation of schizophrenia. **American Journal of Psychiatry**, 2009.

CODDINGTON, R. D. The significance of life events as etiologic factors in the diseases of children-II a study of a normal population. **Journal of Psychosomatic Research**, 1972.

COHEN, S. M. et al. The impact of NMDA receptor hypofunction on GABAergic neurons in the pathophysiology of schizophrenia. **Schizophrenia Research**, 2015.

CONNELLAN, J. et al. Sex differences in human neonatal social perception. **Infant Behavior and Development**, 2000.

COPE, Z. A. et al. Neonatal quinpirole treatment enhances locomotor activation and dopamine release in the nucleus accumbens core in response to amphetamine treatment in adulthood. **Synapse**, v. 64, n. 4, p. 289–300, 2010.

CRADDOCK, N.; OWEN, M. J.; O'DONOVAN, M. C. The catechol-O-methyl transferase (COMT) gene as a candidate for psychiatric phenotypes: Evidence and lessons. **Molecular Psychiatry**, 2006.

CRAWLEY, J. N. Exploratory behavior models of anxiety in mice. **Neuroscience and biobehavioral reviews**, v. 9, n. 1, p. 37–44, 1985.

CREESE, I.; BURT, D. R.; SNYDER, S. H. Dopamine receptor binding predicts clinical and pharmacological potencies of antischizophrenic drugs. **Science**, 1976.

CROCKER, A. D. Dopamine: mechanism of action. **Aust Prescr**, 1993.

DAVIS, M. The Mammalian Startle Response. In: **Neural Mechanisms of Startle Behavior**. [s.l: s.n.].

DENAYER, T.; STÏÿHRN, T.; VAN ROY, M. Animal models in translational medicine: Validation and prediction. **New Horizons in Translational Medicine**, 2014.

DONNER, N. C.; LOWRY, C. A. Sex differences in anxiety and emotional behavior. **Pflugers Archiv : European journal of physiology**, maio 2013.

DRIVER, D. I.; GOGTAY, N.; RAPOPORT, J. L. Childhood Onset Schizophrenia and Early Onset Schizophrenia Spectrum Disorders Child and Adolescent. **Psychiatric Clinics of North America**, 2013.

EAGLE, A. L.; FITZPATRICK, C. J.; PERRINE, S. A. Single prolonged stress impairs social and object novelty recognition in rats. **Behavioural Brain Research**, 2013.

ELLARD, J. Did schizophrenia exist before the eighteenth century? **Australian and New Zealand Journal of Psychiatry**, 1987.

ELVEVAG, B.; GOLDBERG, T. E. Cognitive Impairment in Schizophrenia Is the Core of the Disorder. **Critical ReviewsTM in Neurobiology**, 2000.

FISHER, H. L. et al. The varying impact of type, timing and frequency of exposure to childhood adversity on its association with adult psychotic disorder. **Psychological Medicine**, 2010.

FRANKLIN, K.B., PAXINOS, G. **The Mouse Brain in Stereotaxic Coordinates**, 1997.

FUKUSHIRO, D. F. et al. Haloperidol (but not ziprasidone) withdrawal potentiates sensitization to the hyperlocomotor effect of cocaine in mice. **Brain Research Bulletin**, 2008.

FUSAR-POLI, P. et al. The psychosis high-risk state: A comprehensive state-of-the-art review. **Archives of General Psychiatry**, 2013.

GAO, B.; CUTLER, M. G. Effects of quinpirole on the behaviour shown by mice in the light-dark box and during social interactions. **Neuropharmacology**, v. 32, n. 1, p. 93–100, jan. 1993.

GAO, X. M. et al. Social memory in mice: Disruption with an NMDA antagonist and attenuation with antipsychotic drugs. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, 2009.

GERFEN, C. R. Molecular effects of dopamine on striatal-projection pathways. **Trends in Neurosciences**, 2000.

GEYER, M. A. Are cross-species measures of sensorimotor gating useful for the discovery of procognitive cotreatments for schizophrenia? **Dialogues in Clinical Neuroscience**, 2006.

GIBSON, C. M. et al. A pilot six-week randomized controlled trial of oxytocin on social cognition and social skills in schizophrenia. **Schizophrenia Research**, 2014.

GIOVANOLI, S. et al. Stress in puberty unmasks latent neuropathological consequences of prenatal immune activation in mice. **Science (New York, N.Y.)**, v. 339, n. 6123, p. 1095–1099, 2013.

GLAUSIER, J. R.; LEWIS, D. A. Dendritic spine pathology in schizophrenia. **Neuroscience**, 2013.

GORDON, C. History of Madness. In: **A Companion to Foucault**. [s.l: s.n.].

- GOTTESMAN; I., I.; GOTTESMAN, I. I. **Schizophrenia genesis: The origins of madness.** [s.l: s.n.].
- GRAY, J. A.; LALLJEE, B. Sex differences in emotional behaviour in the rat: Correlation between open-field defecation and active avoidance. **Animal Behaviour**, 1974.
- GREEN, M. F. What are the functional consequences of neurocognitive deficits in schizophrenia? **The American journal of psychiatry**, 1996.
- GULSUNER, S. et al. XSpatial and temporal mapping of de novo mutations in schizophrenia to a fetal prefrontal cortical network. **Cell**, 2013.
- HALDIPUR, C. V. Madness in ancient India: Concept of insanity in Charaka Samhita (1st century A.D.). **Comprehensive Psychiatry**, 1984.
- HALL, C. S. Emotional behavior in the rat. I. Defecation and urination as measures of individual differences in emotionality. **Journal of Comparative Psychology**, 1934.
- HEINRICHS, R. W. Historical origins of schizophrenia: Two early madmen and their illness. **Journal of the History of the Behavioral Sciences**, 2003.
- HERBERT, M. R. Contributions of the environment and environmentally vulnerable physiology to autism spectrum disorders. **Current Opinion in Neurology**, 2010.
- HOFFMAN, H. S.; ISON, J. R. Reflex modification in the domain of startle: I. Some empirical findings and their implications for how the nervous system processes sensory input. **Psychological Review**, v. 87, n. 2, p. 175–189, 1980.
- HONEA, R. et al. Regional deficits in brain volume in schizophrenia: A meta-analysis of voxel-based morphometry studies. **American Journal of Psychiatry**, 2005.
- HOWES, O. D. et al. Midbrain dopamine function in schizophrenia and depression: a post-mortem and positron emission tomographic imaging study. **Brain : a journal of neurology**, 2013.
- HOWES, O. D.; MURRAY, R. M. Schizophrenia: An integrated sociodevelopmental-cognitive model. **The Lancet**, 2014.
- HUR, Y. M.; CHERNY, S. S.; SHAM, P. C. Heritability of hallucinations in adolescent twins. **Psychiatry Research**, 2012.
- INSTITUTE FOR LABORATORY ANIMAL RESEARCH. **Guide for the Care and Use of Laboratory Animals: 8th Ed.** [s.l: s.n.].

- JABLENSKY, A. The diagnostic concept of schizophrenia: its history, evolution, and future prospects. **Dialogues in clinical neuroscience**, 2010.
- JAFFE, A. E. et al. Developmental regulation of human cortex transcription and its clinical relevance at single base resolution. **Nat Neurosci**, 2015.
- JOHNSTON, A. L.; FILE, S. E. Sex differences in animal tests of anxiety. **Physiology and Behavior**, 1991.
- JONES, C. A.; WATSON, D. J. G.; FONE, K. C. F. Animal models of schizophrenia. **British journal of pharmacology**, 2011.
- JONES, L. A. et al. Cognitive mechanisms associated with auditory sensory gating. **Brain and Cognition**, 2016.
- KAALUND, S. S. et al. Contrasting changes in DRD1 and DRD2 splice variant expression in schizophrenia and affective disorders, and associations with SNPs in postmortem brain. **Molecular Psychiatry**, 2014.
- KABITZKE, P. A. et al. Social behavior in a genetic model of dopamine dysfunction at different neurodevelopmental time points. **Genes, Brain and Behavior**, 2015.
- KAHN, R. S. et al. Schizophrenia. **Nature Reviews Disease Primers**, 2015.
- KAHN, R. S.; KEEFE, R. S. E. Schizophrenia is a cognitive illness: Time for a change in focus. **JAMA Psychiatry**, 2013.
- KAIDANOVICH-BEILIN, O. et al. Assessment of social interaction behaviors. **Journal of visualized experiments : JoVE**, 2011.
- KALUEFF, A. V et al. Neurobiology of rodent self-grooming and its value for translational neuroscience. **Nature reviews. Neuroscience**, v. 17, n. 1, p. 45–59, jan. 2016.
- KATZ, R. J.; ROTH, K. A.; CARROLL, B. J. Acute and chronic stress effects on open field activity in the rat: Implications for a model of depression. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, 1981.
- KEBABIAN, J. W. Multiple classes of dopamine receptors in mammalian central nervous system: The involvement of dopamine-sensitive adenylyl cyclase. **Life Sciences**, 1978.
- KO, J. H.; STRAFELLA, A. P. Dopaminergic neurotransmission in the human brain: new lessons from perturbation and imaging. **The Neuroscientist : a review journal bringing neurobiology, neurology and psychiatry**, 2012.

KOHL, S. et al. Prepulse inhibition in psychiatric disorders - Apart from schizophrenia. **Journal of Psychiatric Research**, 2013.

KOOB, G. F.; VOLKOW, N. D. Neurocircuitry of addiction. **Neuropsychopharmacology**, 2010.

KOSTRZEWA, R. M. et al. Low-dose quinpirole ontogenically sensitizes to quinpirole-induced yawning in rats. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**, v. 44, n. 2, p. 487–489, 1993.

KOSTRZEWA, R. M. Dopamine receptor supersensitivity. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, 1995.

KOSTRZEWA, R. M. et al. Dopamine receptor supersensitivity: Development, mechanisms, presentation, and clinical applicability. **Neurotoxicity Research**, 2008.

KOSTRZEWA, R. M.; BRUS, R.; KALBFLEISCH, J. Ontogenetic homologous sensitization to the antinociceptive action of quinpirole in rats. **European Journal of Pharmacology**, 1991.

KRABBENDAM, L.; ALEMAN, A. Cognitive rehabilitation in schizophrenia: A quantitative analysis of controlled studies. **Psychopharmacology**, 2003.

KRUGERS, H. J.; JOELS, M. Long-lasting Consequences of Early Life Stress on Brain Structure, Emotion and Cognition. **Current topics in behavioral neurosciences**, v. 18, p. 81–92, 2014.

LEHMANN, J.; PRYCE, C. R.; FELDON, J. Sex differences in the acoustic startle response and prepulse inhibition in Wistar rats. **Behavioural Brain Research**, 1999.

LEVIN, R. et al. Spontaneously Hypertensive Rats (SHR) present deficits in prepulse inhibition of startle specifically reverted by clozapine. **Progress in neuro-psychopharmacology & biological psychiatry**, v. 35, n. 7, p. 1748–52, ago. 2011.

LEWIS, D. A.; LIEBERMAN, J. A. Catching up on schizophrenia: Natural history and neurobiology. **Neuron**, 2000.

LIPSKA, B. K.; WEINBERGER, D. R. To model a psychiatric disorder in animals: Schizophrenia as a reality test. **Neuropsychopharmacology**, 2000.

LUO, S. X.; HUANG, E. J. Dopaminergic neurons and brain reward pathways: From neurogenesis to circuit assembly. **American Journal of Pathology**, 2016.

- LYONS, D. M.; PARKER, K. J.; SCHATZBERG, A. F. Animal models of early life stress: Implications for understanding resilience. **Developmental Psychobiology**, 2010.
- MAPLE, A. M. et al. Ontogenetic quinpirole treatment produces long-lasting decreases in the expression of Rgs9, but increases Rgs17 in the striatum, nucleus accumbens and frontal cortex. **European Journal of Neuroscience**, 2007.
- MAPLE, A. M. et al. Neonatal quinpirole treatment produces prepulse inhibition deficits in adult male and female rats. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, 2015.
- MARTINEZ, D. et al. Dopamine type 2/3 receptor availability in the striatum and social status in human volunteers. **Biological psychiatry**, v. 67, n. 3, p. 275–278, fev. 2010.
- 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**, 2004.
- MCGRATH, J. et al. Schizophrenia: A concise overview of incidence, prevalence, and mortality. **Epidemiologic Reviews**, 2008.
- MCKIBBEN, C. E.; REYNOLDS, G. P.; JENKINS, T. A. Analysis of sociability and preference for social novelty in the acute and subchronic phencyclidine rat. **Journal of Psychopharmacology**, 2014.
- MCLAUGHLIN, K. J.; BARAN, S. E.; CONRAD, C. D. Chronic stress- and sex-specific neuromorphological and functional changes in limbic structures. **Molecular Neurobiology**, 2009.
- MEYER-LINDENBERG, A. et al. Reduced prefrontal activity predicts exaggerated striatal dopaminergic function in schizophrenia. **Nature Neuroscience**, 2002.
- MEYER-LINDENBERG, A. S. et al. Regionally specific disturbance of dorsolateral prefrontal-hippocampal functional connectivity in schizophrenia. **Archives of General Psychiatry**, 2005.
- MISSALE, C. et al. Dopamine receptors: from structure to function. **Physiological reviews**, 1998.
- MIYAKAWA, T. et al. Conditional calcineurin knockout mice exhibit multiple abnormal behaviors related to schizophrenia. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, 2003.

MONTE, A. S. et al. Two-hit model of schizophrenia induced by neonatal immune activation and peripubertal stress in rats: Study of sex differences and brain oxidative alterations. **Behavioural Brain Research**, 2017.

MOORE, C. L. Sex differences in self-grooming of rats: effects of gonadal hormones and context. **Physiology & behavior**, v. 36, n. 3, p. 451–455, 1986.

MORGAN, C.; FISHER, H. Environment and schizophrenia: environmental factors in schizophrenia: childhood trauma--a critical review. **Schizophrenia bulletin**, v. 33, n. 1, p. 3–10, jan. 2007.

MOY, S. S. et al. Sociability and preference for social novelty in five inbred strains: An approach to assess autistic-like behavior in mice. **Genes, Brain and Behavior**, 2004.

NADLER, J. J. et al. Automated apparatus for quantitation of social approach behaviors in mice. **Genes, Brain and Behavior**, 2004.

NIKAM, S. S.; AWASTHI, A. K. Evolution of schizophrenia drugs: a focus on dopaminergic systems. **Current opinion in investigational drugs {(London,} England : 2000)**, 2008.

OLFSON, M. et al. Premature mortality among adults with schizophrenia in the United States. **JAMA Psychiatry**, 2015.

PALMER, B. A.; PANKRATZ, V. S.; BOSTWICK, J. M. The lifetime risk of suicide in schizophrenia: A reexamination. **Archives of General Psychiatry**, 2005.

PELLOW, S. et al. Validation of open : closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. **Journal of Neuroscience Methods**, v. 14, n. 3, p. 149–167, 1985.

PELLOW, S.; FILE, S. E. Anxiolytic and anxiogenic drug effects on exploratory activity in an elevated plus-maze: a novel test of anxiety in the rat. **Pharmacology, biochemistry, and behavior**, v. 24, n. 3, p. 525–9, mar. 1986.

PEUSKENS, J.; DEMILY, C.; THIBAUT, F. Treatment of cognitive dysfunction in schizophrenia. **Clinical Therapeutics**, 2005

PLAPPERT, C. F.; RODENBÜCHER, A. M.; PILZ, P. K. D. Effects of sex and estrous cycle on modulation of the acoustic startle response in mice. **Physiology & behavior**, 2005.

POWELL, C. M.; MIYAKAWA, T. Schizophrenia-Relevant Behavioral Testing in Rodent Models: A Uniquely Human Disorder?. **Biological Psychiatry**, 2006.

- POWELL, S. B.; ZHOU, X.; GEYER, M. A. Prepulse inhibition and genetic mouse models of schizophrenia. **Behavioural Brain Research**, 2009.
- POWERS, M. S.; CHESTER, J. A. Effects of stress, acute alcohol treatment, or both on prepulse inhibition in high- and low-alcohol preferring mice. **Alcohol**, 2014.
- PRUT, L.; BELZUNG, C. The open field as a paradigm to measure the effects of drugs on anxiety-like behaviors: A review. **European Journal of Pharmacology**, 2003.
- RAHMAN, S.; ZHANG, J.; CORRIGALL, W. A. Effects of acute and chronic nicotine on somatodendritic dopamine release of the rat ventral tegmental area: In vivo microdialysis study. **Neuroscience Letters**, 2003.
- RAPOPORT, J. L.; GIEDD, J. N.; GOGTAY, N. Neurodevelopmental model of schizophrenia: Update 2012. **Molecular Psychiatry**, 2012.
- REGIER, D. A.; NARROW, W. E.; RAE, D. S. The epidemiology of anxiety disorders: The epidemiologic catchment area (ECA) experience. **Journal of Psychiatric Research**, 1990.
- RODGERS, R. J.; COLE, J. C. Influence of social isolation, gender, strain, and prior novelty on plus-maze behaviour in mice. **Physiology and Behavior**, 1993.
- RONDOU, P.; HAEGEMAN, G.; VAN CRAENENBROECK, K. The dopamine D4 receptor: biochemical and signalling properties. **Cellular and molecular life sciences : CMLS**, 2010.
- ROSS, C. A et al. Neurobiology of schizophrenia. **Neuron**, 2006.
- SALLEH, M. R. The Genetics of Schizophrenia. **The Malaysian Journal of Medical Sciences : MJMS**, jul. 2004.
- SAMS-DODD, F. Automation of the social interaction test by a video-tracking system: behavioural effects of repeated phencyclidine treatment. **Journal of Neuroscience Methods**, 1995.
- SCHINDLER, C. W.; CARMONA, G. N. Effects of dopamine agonists and antagonists on locomotor activity in male and female rats. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, 2002.
- SCHWARTING, R. K.; HUSTON, J. P. The unilateral 6-hydroxydopamine lesion model in behavioral brain research. Analysis of functional deficits, recovery and treatments. **Progress in neurobiology**, 1996.
- SCODEL, R. Whom Gods Destroy: Elements of Greek and Tragic Madness (review).

American Journal of Philology, 1996.

SEEMAN, P. The absolute density of neurotransmitter receptors in the brain. Example for dopamine receptors. **Journal of pharmacological methods**, v. 17, n. 4, p. 347–60, jul. 1987.

SEEMAN, P. Targeting the dopamine D2 receptor in schizophrenia. **Expert opinion on therapeutic targets**, 2006.

SEEMAN, P. et al. Psychosis pathways converge via D2(High) dopamine receptors. **Synapse**, v. 60, n. 4, p. 319–346, 2006.

SEEMAN, P.; HALL, F. S.; UHL, G. Increased dopamine D2High receptors in knockouts of the dopamine transporter and the vesicular monoamine transporter may contribute to spontaneous hyperactivity and dopamine supersensitivity. **Synapse**, 2007.

SEIBENHENER, M. L.; WOOTEN, M. C. Use of the Open Field Maze to Measure Locomotor and Anxiety-like Behavior in Mice. **Journal of Visualized Experiments**, 2015.

SELEMON, L. D.; GOLDMAN-RAKIC, P. S. The reduced neuropil hypothesis: A circuit based model of schizophrenia. **Biological Psychiatry**, 1999.

SELVARAJ, S. et al. Alterations in the serotonin system in schizophrenia: A systematic review and meta-analysis of postmortem and molecular imaging studies. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, 2014.

SEMPLE, B. D. et al. Brain development in rodents and humans: Identifying benchmarks of maturation and vulnerability to injury across species. **Progress in neurobiology**, 2013.

SHAIKH, K.; SCHMID, S. There are No Sex-Specific Differences in Habituation and Prepulse Inhibition of Acoustic Startle Response in Sprague Dawley Rats. **Western Undergraduate Research Journal: Health and Natural Sciences**, v. 4, p. 1–7, 2014.

SHAKOOR, S. et al. Association between stressful life events and psychotic experiences in adolescence: Evidence for gene-environment correlations. **British Journal of Psychiatry**, 2016.

SIBLEY, D. R.; MONSMA, F. J. Molecular biology of dopamine receptors. **Trends in pharmacological sciences**, 1992.

SIMON, G. E. et al. Mortality rates after the first diagnosis of psychotic disorder in adolescents and young adults. **JAMA Psychiatry**, 2018.

SITA, L. V.; ELIAS, C. F.; BITTENCOURT, J. C. Connectivity pattern suggests that incerto-

- hypothalamic area belongs to the medial hypothalamic system. **Neuroscience**, 2007.
- SKOLNICK, P. Dopamine and depression. In: **Dopamine and Glutamate in Psychiatric Disorders**. [s.l.: s.n.].
- SNYDER, S. H. et al. The role of brain dopamine in behavioral regulation and the actions of psychotropic drugs. **The American journal of psychiatry**, v. 127, n. 2, p. 199–207, ago. 1970.
- SOKOLOFF, P. et al. Pharmacology of human dopamine D3 receptor expressed in a mammalian cell line: comparison with D2 receptor. **European Journal of Pharmacology: Molecular Pharmacology**, 1992.
- SPANO, P. F.; GOVONI, S.; TRABUCCHI, M. Studies on the pharmacological properties of dopamine receptors in various areas of the central nervous system. **Advances in biochemical psychopharmacology**, v. 19, p. 155–165, 1978.
- STACK, A. et al. Sex differences in social interaction in rats: role of the immediate-early gene zif268. **Neuropsychopharmacology**, 2010.
- STAHL, S. M. **Stahl's Psychopharmacology**. [s.l.: s.n.].
- STAHL, S. M.; BUCKLEY, P. F. Negative symptoms of schizophrenia: A problem that will not go away. **Acta Psychiatrica Scandinavica**, 2007.
- STRAUSS, J. S.; CARPENTER, W. T. J.; BARTKO, J. J. The diagnosis and understanding of schizophrenia. Part III. Speculations on the processes that underlie schizophrenic symptoms and signs. **Schizophrenia bulletin**, n. 11, p. 61–69, 1974.
- STURMAN, O.; GERMAIN, P. L.; BOHACEK, J. Exploratory rearing: a context- and stress-sensitive behavior recorded in the open-field test. **Stress**, 2018.
- SULLIVAN, P. F. The Genetics of Schizophrenia. **PLoS Med**, 2005.
- SWERDLOW, N. R. et al. Effects of spiperone, raclopride, SCH 23390 and clozapine on apomorphine inhibition of sensorimotor gating of the startle response in the rat. **The Journal of pharmacology and experimental therapeutics**, 1991.
- SWERDLOW, N. R. et al. Realistic expectations of prepulse inhibition in translational models for schizophrenia research. **Psychopharmacology**, v. 199, n. 3, p. 331–88, ago. 2008.
- SZECHTMAN, H. et al. Effects of dose and interdose interval on locomotor sensitization to the dopamine agonist quinpirole. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**, 1994.

TAKAHASHI, H. et al. Prepulse inhibition of startle response: recent advances in human studies of psychiatric disease. **Clinical psychopharmacology and neuroscience : the official scientific journal of the Korean College of Neuropsychopharmacology**, 2011.

TANAKA, S. et al. Four factors underlying mouse behavior in an open field. **Behavioural brain research**, jul. 2012.

TANDON, R. et al. Definition and description of schizophrenia in the DSM-5. **Schizophrenia research**, v. 150, n. 1, p. 3–10, out. 2013.

TEICHER, M. H.; TOMODA, A.; ANDERSEN, S. E. Neurobiological consequences of early stress and childhood maltreatment: Are results from human and animal studies comparable? **Annals of the New York Academy of Sciences**, 2006

THACKER, S. K. et al. The effects of adulthood olanzapine treatment on cognitive performance and neurotrophic factor content in male and female rats neonatally treated with quinpirole. **European Journal of Neuroscience**, 2006.

TRAINOR, B. C. et al. Sex differences in social interaction behavior following social defeat stress in the monogamous California mouse (*peromyscus californicus*). **PLoS ONE**, 2011.

TSUCHIYA, K. J.; BYRNE, M.; MORTENSEN, P. B. Risk factors in relation to an emergence of bipolar disorder: A systematic review. **Bipolar Disorders**, 2003.

TSUJIMOTO, S. The prefrontal cortex: functional neural development during early childhood. **The Neuroscientist : a review journal bringing neurobiology, neurology and psychiatry**, 2008.

TURNER, T. H. Schizophrenia as a permanent problem Some aspects of historical evidence in the recency (new disease) hypothesis. **History of Psychiatry**, 1992.

USALL, J. et al. Gender differences and outcome in schizophrenia: A 2-year follow-up study in a large community sample. **European Psychiatry**, 2003.

USIELLO, A et al. Distinct functions of the two isoforms of dopamine D2 receptors. **Nature**, 2000.

VALLONE, D.; PICETTI, R.; BORRELLI, E. Structure and function of dopamine receptors. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, 2000.

VAN DEN BUUSE, M. Modeling the positive symptoms of schizophrenia in genetically modified mice: Pharmacology and methodology aspects. **Schizophrenia Bulletin**, 2010.

- VARGA, O. E. et al. Validating animal models for preclinical research: A scientific and ethical discussion. **ATLA Alternatives to Laboratory Animals**, 2010.
- VASCONCELOS, G. S. et al. Alpha-lipoic acid alone and combined with clozapine reverses schizophrenia-like symptoms induced by ketamine in mice: Participation of antioxidant, nitrergic and neurotrophic mechanisms. **Schizophrenia Research**, 2015.
- VÕIKAR, V. et al. Strain and gender differences in the behavior of mouse lines commonly used in transgenic studies. **Physiology and Behavior**, 2001.
- VOS, T. et al. Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 328 diseases and injuries for 195 countries, 1990-2016: A systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. **The Lancet**, 2017.
- WALDO, M. C. et al. Auditory sensory gating, hippocampal volume, and catecholamine metabolism in schizophrenics and their siblings. **Schizophrenia Research**, 1994.
- WALF, A. A.; FRYE, C. A. The use of the elevated plus maze as an assay of anxiety-related behavior in rodents. **Nature Protocols**, v. 2, n. 2, p. 322–328, 2007.
- WARDAS, J. et al. The role of metabotropic glutamate receptors in regulation of striatal proenkephalin expression: Implications for the therapy of Parkinson's disease. **Neuroscience**, 2003.
- WILSON, C. A.; KOENIG, J. I. Social interaction and social withdrawal in rodents as readouts for investigating the negative symptoms of schizophrenia. **European Neuropsychopharmacology**, 2014.
- WOLMARANS, D. W.; STEIN, D. J.; HARVEY, B. H. Social behavior in deer mice as a novel interactive paradigm of relevance for obsessive-compulsive disorder (OCD). **Social neuroscience**, v. 12, n. 2, p. 135–149, abr. 2017.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. The Global Burden of Disease: 2004 update. **2004 Update**, 2008.
- XIANG, X.; HAO, W.; KOSTEN, T. A. [Sex difference in performance in elevated plus maze and hippocampal GluR1 level]. **Zhong nan da xue xue bao. Yi xue ban = Journal of Central South University. Medical sciences**, v. 36, n. 8, p. 750–753, ago. 2011.
- YAMAGUCHI, Y. et al. The Roles of Dopamine D2 Receptor in the Social Hierarchy of Rodents and Primates. **Scientific Reports**, 2017.

