



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS**  
**DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA**  
**CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

**LUNA COSTA VASCONCELOS**

**MODELO DE ESQUIZOFRENIA DE DOIS DESAFIOS INDUZIDO POR  
ATIVACÃO IMUNE NEONATAL E ESTRESSE PRÉ-PÚBERE EM  
CAMUNDONGOS: ESTUDO DE DIFERENÇAS SEXUAIS E ALTERAÇÕES  
COMPORTAMENTAIS**

**FORTALEZA**

**2017**

**LUNA COSTA VASCONCELOS**

**MODELO DE ESQUIZOFRENIA DE DOIS DESAFIOS INDUZIDO POR ATIVAÇÃO IMUNE  
NEONATAL E ESTRESSE PRÉ-PÚBERE EM CAMUNDONGOS: ESTUDO DE DIFERENÇAS  
SEXUAIS E ALTERAÇÕES COMPORTAMENTAIS**

Monografia apresentada ao Curso de Ciências Biológicas do Departamento de Biologia da Universidade Federal do Ceará, como parte dos requisitos para obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas. Área de concentração: Farmacologia.

Orientadora: Profa. Dra. Silvânia Maria Mendes Vasconcelos.

FORTALEZA

2017

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)

---

V45m Vasconcelos, Luna Costa.

Modelo de esquizofrenia de dois desafios induzido por ativação imune neonatal e estresse pré-púbere em camundongos: estudo de diferenças sexuais e alterações comportamentais / Luna Costa Vasconcelos. – 2017.

39 f. : il. color.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências, Curso de Ciências Biológicas, Fortaleza, 2017.

Orientação: Profa. Dra. Silvânia Maria Mendes Vasconcelos.

1. Esquizofrenia. 2. Modelos animais. 3. Comportamento. 4. Diferenças sexuais. I. Título.

CDD 570

---

LUNA COSTA VASCONCELOS

MODELO DE ESQUIZOFRENIA DE DOIS DESAFIOS INDUZIDO POR ATIVAÇÃO  
IMUNE NEONATAL E ESTRESSE PRÉ-PÚBERE EM CAMUNDONGOS: ESTUDO DE  
DIFERENÇAS SEXUAIS E ALTERAÇÕES COMPORTAMENTAIS

Monografia apresentada ao Curso de Ciências  
Biológicas do Departamento de Biologia da  
Universidade Federal do Ceará, como parte  
dos requisitos para obtenção do título de  
bacharel em Ciências Biológicas.

Aprovada em: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_.

BANCA EXAMINADORA

---

Profa. Dra. Silvânia Maria Mendes Vasconcelos (Orientadora)  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Prof. Dr. José Eduardo Ribeiro Honório Júnior  
Centro Universitário Christus (Unichristus)

---

Msc. Germana Silva Vasconcelos  
Doutoranda Departamento de Farmacologia (UFC)

“Viver é arriscar tudo. Caso contrário você é apenas um pedaço inerte de moléculas montadas aleatoriamente à deriva onde o universo te sopra”

Rick Sanchez

## AGRADECIMENTOS

À minha família, principalmente minhas mães, Nágela e Daniela, pelo exemplo de vida, minha educação e por todo o apoio nos melhores e piores momentos da minha vida.

À minha professora orientadora Silvânia Maria Mendes por todos os ensinamentos e contribuições na minha formação científica e profissional, e pelas orientações nesse trabalho.

Aos meus amigos de Laboratório de Neuropsicofarmacologia pela ajuda e carinho, em especial Ingrydi, Lucas, Karol, Gabriel.

À Germana Silva, aluna de doutorado pela UFC, a qual me auxiliou e orientou desde a minha entrada na pesquisa no laboratório de Neuropsicofarmacologia e foi fundamental para a realização desse trabalho.

Ao meu namorado Gêdhean Alves, pelo amor, carinho, ajuda e paciência durante toda a minha trajetória.

Aos meus amigos Raquel, Ícaro, Jarlley, Stênio, Diego, Jéssica, Dani, Jamile, Paula, Rayanne, Pedro Matheus, Thaís e Marcos, por todo o apoio e momentos de felicidade compartilhados.

À minha amiga Marianny Kellen, pelos conselhos, incentivo e risadas.

Ao meu amigo e companheiro de Ciências sem Fronteiras, Ênio pela companhia nas melhores viagens e incentivo.

Às minhas amigas de colégio, Cecília, Taiani e Amanda pelo carinho, apoio e incentivo.

À minha amiga Mariana, por toda a ajuda para entender teorias psicossociais do trabalho e pelo apoio, em mais de 10 anos de amizade, em todos os momentos fossem estes bons ou ruins.

Aos meus amigos de Ciências sem Fronteiras, Paulo, Anthony e Jefferson, que mesmo com a distância estão sempre presentes e me apoiando em todos os períodos.

Meu agradecimento em especial aos camundongos utilizados para a execução deste estudo, e que contribuíram com suas vidas para a realização deste trabalho. Sem eles este trabalho não seria possível de ser realizado.

Agradeço a todos aqueles que contribuíram de alguma forma para a realização deste trabalho.

## RESUMO

VASCONCELOS, L. C. Modelo de esquizofrenia de dois desafios induzidos por ativação imune neonatal e estresse pré-púbere em camundongos: Estudo de diferenças sexuais e alterações comportamentais.

A esquizofrenia é uma doença que atinge cerca de 2,5 milhões de brasileiros, sendo uma das psicoses mais presente do país. O estudo de modelos de experimentação animal consistentes auxilia a obtenção de resultados confiáveis e que irão ajudar na compreensão dos mecanismos que levam ao aparecimento dessa doença, e também subsidiam a pesquisa de novos fármacos mais eficazes e que não possuam tantos efeitos colaterais quanto os que estão atualmente disponíveis no mercado. Considerando esses fatores, o presente trabalho avaliou o modelo de esquizofrenia de dois desafios induzidos por ativação imune neonatal e estresse pré-púbere em camundongos, analisando as alterações comportamentais e as diferenças sexuais encontradas nesse modelo. Foram utilizados camundongos Swiss adultos (20-30 g) machos e fêmeas. Os filhotes machos e fêmeas, provenientes das matrizes, foram tratados com POLY I: C (2 ml / kg, i.p) ou solução salina do dia 5 ao 7 pós-natal, correspondendo ao primeiro “hit”. No dia 21 pós-natal os animais foram separados de suas mães para o desmame e divididos por sexo. Após isso, os animais tratados com POLY I:C foram submetidos a 5 sessões de estímulos estressores intercalados do 35º ao 43º dia de vida (segundo “hit”): choque elétrico no pé, imobilização, privação de água, nado forçado e imobilização. No dia 70 tanto o grupo controle (solução salina) quanto o grupo POLY I:C + estresse foram submetidos aos testes comportamentais (campo aberto, labirinto em Y e inibição pré-pulso). Os resultados mostraram diferença significativa, nos machos e nas fêmeas, em teste de campo aberto e inibição pré-pulso, do grupo poly + estresse quando comparado ao controle salina, porém no teste de labirinto em Y, não houve diferença significativa entre os grupos tanto nos animais machos como fêmeas. Esses resultados sugerem que o modelo de esquizofrenia de dois desafios induzidos por desafio imune neonatal e estresse pré-púbere é eficaz induzindo sintomas de esquizofrenia do tipo positivo e cognitivo, entretanto em relação aos sintomas de memória não demonstrou relevância. Também mostra que não houve diferenças sexuais significativas em nenhum dos parâmetros avaliados. Podemos concluir com esse trabalho a eficiência do modelo de indução de esquizofrenia estudado em testes de comportamento do tipo campo aberto e inibição pré-pulso, em ambos os sexos, porém mais estudos precisam ser realizados.



**Palavras Chave:** Esquizofrenia, Modelos Animais, Comportamento, Diferenças sexuais.

## ABSTRACT

VASCONCELOS, L. C. "Two hits" model of schizophrenia induced by neonatal immune activation and pre-pubertal stress in mice: study of sexual differences and behavioral changes.

Schizophrenia is a disease that affects about 2.5 million Brazilians, being one of the most present psychoses in the country. The study of consistent animal experimentation models helps to obtain reliable results that will help in understanding the mechanisms that lead to the onset of this disease and also subsidize the search for new drugs that are more effective and that do not have as many side effects as those that are currently available in the market. Considering these factors, the present study evaluated the schizophrenia model of two challenges induced by neonatal immune activation and pre-pubertal stress in mice, analyzing the behavioral changes and sexual differences found in this model. Adult (20-30 g) male and female Swiss mice were used. The male and female pups from the matrices were treated with POLY I: C (2 ml / kg, i.p) or saline from day 5 to 7 postnatal, corresponding to the first "hit". On the 21 postnatal animals were separated from their mothers for weaning and divided by sex. After this, the animals treated with POLY I: C were submitted to 5 sessions of stress stimuli intercalated from the 35th to the 43rd day of life (second hit): electric shock in the foot, immobilization, water deprivation, forced swimming and immobilization. At day 70 both the control group (saline solution) and the group POLY I: C + stress were submitted to behavioral tests (open field, labyrinth in Y and pre-pulse inhibition). The results showed a significant difference, in males and females, in the open field test and pre-pulse inhibition of the poly + stress group when compared to saline control, but in the Y labyrinth test, there was no significant difference between the groups in male animals as females. These results suggest that the schizophrenia model of two challenges induced by neonatal immune challenge and pre-pubertal stress is effective inducing symptoms of schizophrenia of the positive and cognitive type, however in relation to the memory symptoms has shown no relevance. It also shows that there were no significant sex differences in any of the parameters evaluated. We can conclude with this work the efficiency of the model of induction of schizophrenia studied in tests of behavior of the open-field type and pre-pulse inhibition, in both sexes, however more studies need to be performed.

**Keywords:** Schizophrenia, Animal Models, Behavior, Sexual Differences.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

**Tabela 1** - Modelo dos dois desafios (“two hits”)

**Figura 1** - Desenho Arena do Campo Aberto

**Figura 2** - Desenho Labirinto em Y

**Figura 3** - Caixa de teste do IPP, A e B (Equipamento do Laboratório de Neuropsicofarmacologia).

**Figura 4** - Número de Cruzamentos dos animais submetidos à exposição neonatal da partícula viral Poly I:C seguida de eventos estressores na adolescência. Cada barra representa a média  $\pm$  erro padrão da média (SEM) (n = 8 - 13 animais por grupo) do número de cruzamentos. \*p <0,05 quando comparado com o grupo controle de acordo *two way* ANOVA seguido pelo teste *post hoc* deTukey.

**Figura 5** - Porcentagem de alterações corretas no teste de labirinto em Y dos animais submetidos à exposição neonatal da partícula viral Poly I:C seguida de eventos estressores na adolescência. Cada barra representa a média  $\pm$  erro padrão da média (SEM) (n = 12 - 27 animais por grupo). \*p <0,05 quando comparado com o grupo controle de acordo *two-way* ANOVA seguido pelo teste de *post hoc* Tukey.

**Figura 6** - Porcentagem de inibição pré-pulso (IPP) das Fêmeas (A) e Machos (B) submetidos à exposição neonatal da partícula viral Poly I:C seguida de eventos estressores na adolescência. Cada barra representa a média  $\pm$  erro padrão da média (SEM) (n=13-20 animais por grupo) do percentual de IPP. \*p <0,05 quando comparado com o grupo controle de acordo com *two way* ANOVA seguido pelo teste *post hoc* de Tukey.

## **LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS**

APA	American Psychological Association
CA	Campo aberto
IPP	Inibição pré-pulso
ms	Milisegundos
NIH	National Institutes of Health
OMS	Organização Mundial de Saúde
v.o.	Via Oral

## ÍNDICE

<b>1. Introdução.....</b>	<b>14</b>
<b>1.1. Esquizofrenia.....</b>	<b>14</b>
<b>1.1.1. História e Epidemiologia .....</b>	<b>14</b>
<b>1.1.2. Diagnóstico.....</b>	<b>15</b>
<b>1.1.3. Sintomas.....</b>	<b>17</b>
<b>1.1.4. Fisiopatologia.....</b>	<b>18</b>
<b>1.1.5. Tratamento.....</b>	<b>20</b>
<b>1.2. Modelos Experimentais.....</b>	<b>21</b>
<b>1.2.1. Os Modelos e a Esquizofrenia.....</b>	<b>21</b>
<b>1.2.2. Modelo neurodesenvolvimental por dois desafios.....</b>	<b>22</b>
<b>2. Justificativa.....</b>	<b>23</b>
<b>3. Objetivos.....</b>	<b>24</b>
<b>3.1. Geral.....</b>	<b>24</b>
<b>3.2. Específicos.....</b>	<b>24</b>
<b>4. Metodologia.....</b>	<b>25</b>
<b>5. Resultados.....</b>	<b>31</b>
<b>6. Discussão.....</b>	<b>34</b>
<b>7. Conclusão.....</b>	<b>36</b>
<b>Referências Bibliográficas.....</b>	<b>37</b>

# 1. INTRODUÇÃO

## 1.1 Esquizofrenia

### 1.1.1. História e Epidemiologia

Os transtornos mentais dificultam muito a vida de uma pessoa, pois afetam tanto o seu bem-estar psicológico quanto físico podendo ocasionar problemas como desnutrição e traumas. Pesquisas da Organização mundial de saúde (OMS), National Institutes of Health (NIH) e da American Psychological Association (APA) mostram que essas perturbações, assim como diversas doenças com sintomas físicos, são geradas por uma complexa interação biológica, psicológica e social. Além disso, segundo dados da OMS, de 2002, cerca de 450 milhões de pessoas apresentam distúrbios mentais, e destas, apenas uma pequena minoria recebe tratamento.

Dentre esses transtornos, pode-se citar a esquizofrenia que é uma doença que afeta 1% da população mundial de forma direta (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE, 2002), mas indiretamente afeta a todo o círculo familiar ligado ao portador. Ela é uma desordem mental severa crônica que prejudica vários aspectos da personalidade de uma pessoa, os sintomas podem ser muito severos e afetam como o indivíduo se sente e se comporta, dificultando muito a convivência social de pessoas com essa doença

Desde a Grécia antiga, já existiam relatos médicos e livros com casos de psicose parecidos com a esquizofrenia, porém este termo só foi utilizado pela primeira vez por Eugen Bleuber em sua obra *Dementia praecox oder Gruppe der Schizophrenien* de 1911, o autor utilizou este novo termo para explicar um conceito já existente na época, o de demência precoce, o qual era explicado como sendo o aparecimento de sintomas de deterioração mental que culminavam em uma fase terminal de psicose semelhantes à esquizofrenia em jovens (HARRISON, 2011).

A incidência e desenvolvimento da esquizofrenia dependem de vários fatores, dentre eles, histórico familiar, risco genético, idade, local de nascimento e poder econômico. Os aspectos genéticos são muito importantes nisso, pois, apesar de muitas pessoas que tem esquizofrenia não possuírem histórico familiar, alguns alelos que desempenham função e podem contribuir para a o aparecimento da doença já foram encontrados (APA, 2014). Outros agentes que podem contribuir são problemas durante a gravidez, como infecções maternas,

desnutrição, diabetes, e também ocorrências durante o parto da criança, como hipóxia (APA, 2014; ESAN; OJAGBEMI; GUREJE, 2012).

A esquizofrenia costuma se manifestar no período final da adolescência e início da vida adulta em homens, já em mulheres costuma demorar um pouco mais para se instalar, aparecendo nestas por volta dos 25 a 30 anos (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE, 2002). Porém, em estudos com pacientes que apresentavam histórico de esquizofrenia na família, a doença possui um início mais precoce e não existe diferença significativa entre as idades de aparecimento entre homens e mulheres nestes casos (MARI, 2000).

Quando a doença se manifesta durante a infância ou adolescência, é comum a pessoa não atingir níveis funcionais satisfatórios em atividades como trabalho, relações sociais e cuidados pessoais, e também apresentam disfunções cognitivas (APA, 2014; SHIM *et al.*, 2008).

O curso da doença pode ser favorável ou não para o paciente, em torno de 20% dos indivíduos diagnosticados com essa doença conseguem obter um curso favorável de desenvolvimento (APA, 2014). Porém, em pacientes não tratados, ela possui um alto grau de incapacidade, um trabalho realizado com 14 países em 1999, mostrou que a psicose é uma das principais causas de impossibilidade de trabalho para os indivíduos (ÜSTÜN *et al.*, 1999).

Um outro problema muito grave associado à esquizofrenia, é o alto índice de tentativas de suicídio, cerca de 20% das pessoas doentes realizam tentativas de suicídio ao longo da vida, e mais ou menos 5 a 6% acabam falecendo por meio deste (APA, 2014). Esse índice é ainda maior em pessoas do sexo masculino que fazem uso de substâncias nocivas ao organismo, em indivíduos que têm sintomas do tipo depressivo e também quando a pessoa doente passa por um episódio de surto psicótico ou internação hospitalar (APA, 2014).

O tratamento para pacientes com esquizofrenia também é muito importante, pois com ele, o paciente consegue levar uma vida normal em muitos casos, apenas cerca de 12-15% destes indivíduos voltam a ter casos psicóticos, enquanto que em pessoas que não estejam passando por tratamento, esse número chega a, em média 70% (NATIONAL INSTITUTE OF MENTAL HEALTH, 2016).

### 1.1.2. Diagnóstico

A esquizofrenia faz parte dos transtornos psicóticos, que são definidos por conterem um ou mais anomalias de pensamento (confusão mental), percepção (delírios, alucinações), emoção (comportamento depressivo), movimento (catatonia e desorganização

motora) ou comportamento (problemas de memória, dificuldade de prestar atenção) (APA, 2014).

Apesar de ser uma doença com um grande estigma social, por conta de essas pessoas constituírem a maior parte da população de pacientes de instituições mentais, cerca de metade dos indivíduos em fase inicial de esquizofrenia conseguem uma boa recuperação (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE, 2002).

A esquizofrenia é uma doença heterogênea, que possui um conjunto de fatores para o seu diagnóstico, ou seja, ela não possui um único sintoma que seja característico somente dessa doença. Por conta disso, o diagnóstico envolve vários sinais analisados em um contexto social e profissional desfavoráveis.

A pessoa que possui esquizofrenia irá possuir sintomas positivos tais como comportamentos psicóticos, alucinações, ilusões e pensamentos desorganizados; negativos como redução de emoções e do prazer de viver, fala reduzida, dificuldade de manter atividades diárias, como trabalho, escola; e cognitivos os quais são problemas na memória de aprendizado e dificuldade em focar e prestar atenção (APA, 2014).

Para que uma pessoa seja diagnosticada com esquizofrenia, é preciso que ela apresente, por pelo menos um mês, na fase ativa da doença, no mínimo dois dos seguintes sintomas: delírios, alucinações, discurso desorganizado, comportamento altamente desorganizado, catatonia ou sintomas negativos. Sendo obrigatório que pelo menos um desses dois sintomas sejam os delírios, alucinações ou o discurso desorganizado (APA, 2014). E desses sintomas, a psicose é o mais comum, com alucinações auditivas ou delírios (NATIONAL INSTITUTE OF MENTAL HEALTH, 2017).

Caso aconteça remissão dos sintomas durante o primeiro mês por conta de tratamento, os critérios ainda devem ser preenchidos com a análise de um médico, o qual irá identificar se esses sinais teriam persistido se não houvesse tratamento (APA, 2014).

Também são indícios da doença, a persistência de sintomas negativos e positivos por um período de seis meses, e na fase ativa da doença, que é em geral em torno do primeiro mês de manifestação, deve ocorrer pelo menos um sintoma negativo ou positivo (APA, 2014).

Exames laboratoriais ou radiográficos para essa doença não existem, porém algumas características observadas por neuroimagem ou neurofisiologia podem apoiar a avaliação psicológica. São elas: volume cerebral reduzido nesses pacientes, volume reduzido também da substância cinzenta em algumas regiões cerebrais, como o cortex pré-frontal e hipocampo, essas pessoas também possuem alguns déficits em coordenação motora,



integração sensorial e associação de movimentos. Algumas características morfológicas também podem estar presentes, como pequenas alterações na face e membros (APA, 2014).

O diagnóstico da esquizofrenia é um pouco complexo, pois necessita de um acompanhamento psiquiátrico constante para que esses sintomas e características associadas possam ser comprovados ao longo do tempo, e também para que possa ocorrer a distinção dela para outros transtornos psicóticos.

### *1.1.3. Sintomas*

Os sintomas para a esquizofrenia podem ser classificados em três tipos: sintomas positivos, negativos e cognitivos (NATIONAL INSTITUTE OF MENTAL HEALTH, 2016).

Nos sintomas positivos, os quais alguns estão associados a outras doenças psicóticas, como ilusões auditivas, que estão associados a isso ouvir vozes que não existem conversando ou discutindo sobre a própria pessoa, alterações na própria percepção com pensamentos de inserção e passividade somática, a qual se caracteriza por o indivíduo ter a percepção de suas emoções e atividades do dia a dia sendo controladas por forças externas, caracterizando um pensamento de psicose (LARSON; WALKER; COMPTON, 2010; LIDDLE, 1987).

Os sintomas negativos se caracterizam por serem semelhantes a sintomas depressivos, como falta de ânimo para relações sociais ou até mesmo para sair de casa, dificuldade de manter o foco nas atividades diárias, incluindo trabalho e limpeza pessoal, anedonia, que é a falta de prazer ou felicidade em ocupações de lazer, alogia, é a dificuldade em manter conversas ou iniciá-las e, no geral, a diminuição de comunicação dessa pessoa, ocorre devido aos pensamentos confusos e perturbados do paciente, e avolição, incapacidade de seguir um objetivo ou cumprir metas, seja pessoal ou profissional (GALDERISI; MERLOTTI; MUCCI, 2015; KIRKPATRICK *et al.*, 2006).

O outro tipo de sintoma da esquizofrenia é o cognitivo, que podem ser: problemas na memória de trabalho, alguns pacientes podem sentir dificuldade para lembrar certos eventos de seu cotidiano, problemas também na memória verbal e visual, dificuldade no processamento de informações e também de atenção, distúrbios também no aprendizado verbal, visual e na racionalização e solução de problemas simples (NUECHTERLEIN *et al.*, 2004).

Um outro aspecto importante da esquizofrenia são as fases prodrômica e residual, sendo a fase prodrômica o período em que aparecem os primeiros sinais da doença, porém

esta ainda não se encontra em sua fase ativa. E a fase residual é caracterizada por ser um quadro mais crônico da doença após o início do tratamento com a remissão da maioria dos sintomas, porém persistência dos negativos. Na esquizofrenia, durante essa fase prodrômica é comum ocorrer o aparecimento de sintomas negativos, como comportamentos de ansiedade e depressivos, e após esse período, ocorre a aparição dos primeiros sintomas, normalmente com sinais positivos enfraquecidos, os quais vão aumentando com o progresso da doença, o início de pensamentos ilusórios e discurso perturbado (CORIGLIANO *et al.*, 2014; LARSON; WALKER; COMPTON, 2010).

As pessoas com esquizofrenia também podem apresentar alguns indícios atípicos, na fase prodrômica principalmente, como falas estranhas ou desorganizadas, o indivíduo pode, por exemplo, falar sozinho como se estivesse murmurando com alguém em público ou comentar que sente a presença de pessoas invisíveis. Também pode acontecer nessas manifestações incomuns déficits na cognição social com pensamentos mágicos ou muito imaginativos, como o paciente achar que uma pessoa que ele viu uma vez na rua está apaixonada por ele, ou considerar acontecimentos simples do cotidiano como muito relevantes, podendo levar a delírios explanatórios, nos quais o indivíduo considera que forças divinas ou sobrenaturais comandam os pensamentos e ações dele (APA, 2014; MILLER; MASON, 2011). Junto, também podem ocorrer sintomas de humor, entretanto eles devem aparecer por um curto período durante essa fase para que ocorra o diagnóstico de esquizofrenia (APA, 2014).

Outras características que o paciente com esquizofrenia pode exibir, e que podem também apoiar o diagnóstico, são padrões de sono desiguais e conturbados, fobias, comportamento ansioso, redução de apetite e a anosognosia, que é a falta de percepção pelo paciente da sua própria doença, a pessoa não identifica os sintomas em si mesma e costuma ser muito comum em indivíduos que não aderem ao tratamento, sendo assim um sinal muito prejudicial para o progresso da doença (APA, 2014).

#### *1.1.4. Fisiopatologia*

A fisiopatologia dessa doença ainda não é totalmente compreendida, porém existem algumas teorias envolvendo o desbalanceamento de alguns neurotransmissores para essa explicação, as quais são: teoria dopaminérgica, serotoninérgica e glutamatérgica, a participação de outros neurotransmissores atuando na fisiologia da doença também é estudada, como a adenosina e do sistema colinérgico. Além disso, outros fatores como a

hipótese neurodesenvolvimental também devem ser considerados (GRACE, 2016; KESHAVAN *et al.*, 2008; SEEMAN; KAPUR, 2000).

A Teoria dopaminérgica foi primeiramente considerada por causa da ação de alguns antipsicóticos antagonistas de receptores dopaminérgicos, como a clorpromazina e o haloperidol. Ela descreve que um aumento dos níveis normais de dopamina no cérebro é responsável pelo desenvolvimento da doença, principalmente nas regiões de córtex pré-frontal, hipocampo e estriado. Entretanto, essa teoria não esclarece alguns fatores importantes da esquizofrenia, como o momento de aparecimento, que é geralmente no início da vida adulta, e a razão da baixa eficácia de medicamentos que possuem esses alvos no tratamento de sintomas negativos da doença (GRACE, 2016; STONE; MORRISON; PILOWSKY, 2007).

Outras teorias que também tentam explicar a fisiologia dessa doença, são a teoria serotoninérgica e a glutamatérgica, esta se baseia no fato de que foram encontrados, no cérebro de pacientes post-mortem com esquizofrenia, uma menor densidade de receptores glutamatérgicos em áreas como córtex pré-frontal e hipocampo, e também, que a administração de algumas substâncias que utilizam vias glutamatérgicas, como a ketamina e a fenciclidina, estimularam o desenvolvimento da esquizofrenia em modelos animais, e também aumentaram os níveis de dopamina em regiões subcorticais, sugerindo que não só a via glutamatérgica é importante, como a interação entre ela e o sistema dopaminérgico é importante para o curso do transtorno (GADELHA DE *et al.*, 2007; GRACE, 2016; STONE; MORRISON; PILOWSKY, 2007).

Outro fator que tem se tornado cada vez mais importante em estudos recentes para o desenvolvimento de esquizofrenia, é o modelo neurodesenvolvimental, o qual mostra correlação entre o processo de desenvolvimento cerebral durante a gestação e o aparecimento do transtorno posteriormente. Tem sido encontrado principalmente relações entre infecções, problemas patológicos placentários ou de desnutrição no período gestacional com o desenvolvimento da doença. Estudos epidemiológicos, translacionais e clínicos mostraram que infecções como rubéola, herpes e *Toxoplasma gondi* podem levar ao desenvolvimento da doença no futuro. Esses problemas durante a gravidez juntamente com fatores ambientais durante a infância ou adolescência têm sido a causa mais provável (PIDSLEY *et al.*, 2014; RAPOPORT; GIEDD; GOGTAY, 2012). Todas essas hipóteses mostram que o estudo da fisiopatologia da esquizofrenia ainda precisa ser muito aprofundado para que possa ser possível a compreensão de toda essa heterogeneidade do transtorno psiquiátrico.

### 1.1.5. Tratamento

O tratamento para a esquizofrenia é feito, principalmente por meio da administração de antipsicóticos e acompanhamento psicossocial. O tratamento farmacológico é muito importante para evitar novos ataques psicóticos e crises de sintomas positivos, porém o acompanhamento psicológico deve também permanecer constante (KIRKPATRICK et al., 2006).

Os medicamentos utilizados podem ser divididos em antipsicóticos de primeira (típicos) e de segunda geração (atípicos). Entre os remédios típicos, a clorpromazina foi o primeiro descoberto e mais utilizado entre estes, outros como tioridazina, flufenazina, e também outras classes medicamentosas como tioxantenas e butirofenas são empregados do mesmo modo, porém, todos possuem ação farmacológica semelhante atuando como antagonistas de dopamina, particularmente ao receptor do tipo D2, bloqueando receptores pré e pós sinápticos (RANG, H.P., RITTER, J.M., FLOWER, R.J., HENDERSON, 2015).

Essas drogas atuam somente na redução dos sintomas positivos, não sendo eficientes para o combate dos sintomas negativos, por conta disso, e também dos efeitos colaterais diversos, como aumento de sintomas negativos, distúrbios motores extrapiramidais (sintomas de parkinsonismo, ansiedade e agitação, discinesia tardia, distonia aguda e síndrome neuroléptica aguda), alterações hormonais e problemas no sistema nervoso autônomo, foram desenvolvidos as drogas de segunda geração que procuram diminuir esses efeitos colaterais e tratar outros sintomas também (RANG, H.P., RITTER, J.M., FLOWER, R.J., HENDERSON, 2015; REJANE et al., 2011).

Os fármacos de segunda geração foram desenvolvidos para tentar melhorar a seletividade dessas drogas, focando especificamente no sistema dopaminérgico e outros receptores, e também diminuir esses efeitos colaterais. Destas drogas atípicas, a clozapina é uma das principais, a qual possui alta afinidade a receptores dopaminérgicos do tipo D4, porém vários outros também são utilizados, como a sulpirida, que é um bloqueador dos receptores D2, a risperidona, a qual também possui alta afinidade por receptores do tipo D2, entre outros medicamentos (CANDIAGO *et al.*, 2010; CARPENTER; KOENIG, 2008; LACHMAN, 2014).

Essas novas drogas que surgiram com os fármacos de segunda geração também foram importantes para a geração de novas hipóteses para a origem desse transtorno, pois observou-se que outros mecanismos além do bloqueio de receptores dopaminérgicos D2 poderiam ser eficientes, passando assim a considerar outros sistemas de neurotransmissores

além do dopaminérgico, como o serotoninérgico e o glutamatérgico, além disso analisar outros fatores como a inflamação cerebral e o seu papel nesse processo (CARPENTER; KOENIG, 2008; LINDENMAYER *et al.*, 2013; REJANE *et al.*, 2001). Assim, as pesquisas atuais para tratamentos alternativos e que foquem em diferentes aspectos patológicos da esquizofrenia se torna muito importante.

## 1.2. Modelos Experimentais

### 1.2.1. Os Modelos e a Esquizofrenia

Os modelos de experimentação animal para estudo *in vivo* são muito importantes para a compreensão de mecanismos fisiopatológicos auxiliando o desenvolvimento de novas drogas mais eficientes e seguras. Eles oferecem determinadas características que não podem ser obtidas em estudos com pacientes humanos, como uma rapidez maior para a observação do desenvolvimento da doença em camundongos, por exemplo, os quais possuem um ciclo de vida curto em comparação à seres humanos. Além de oferecerem a possibilidade da realização de procedimentos invasivos, como cirurgias para a implantação de sondas cerebrais, e o teste de fármacos em desenvolvimento (JONES; WATSON; FONE, 2011; POWELL; MIYAKAWA, 2006).

Apesar dessas vantagens, ainda existem alguns problemas, tais quais a extrapolação de determinados sintomas característicos de seres humanos, dentre eles memória e aprendizado verbal, a falta de um controle positivo robusto, pois não existe ainda um remédio para a esquizofrenia que reverta todos os sintomas dessa doença, e a impossibilidade de quantificar os sintomas analisados (POWELL; MIYAKAWA, 2006).

Tendo isso em mente, para que o modelo animal seja eficiente, é preciso que ele atenda a alguns critérios: homologia de sintomas, replicabilidade da etiologia da doença e validade preditiva, ou seja, ele deve mostrar resultados farmacológicos semelhantes a controles positivos ou negativos pré-estabelecidos. A maioria dos modelos de esquizofrenia existentes se assemelham somente nos sintomas positivos, sem contemplar os outros, por conta disso, o estudo dessa área ainda é muito importante nessa doença (JONES; WATSON; FONE, 2011).

### 1.2.1. Modelo neurodesenvolvimento por dois desafios

O modelo neurodesenvolvimento de esquizofrenia por dois desafios, o qual foi utilizado nesse trabalho, consiste na utilização de estímulos estressores em períodos críticos para o desenvolvimento do animal. O primeiro estímulo se dá pela aplicação de poly I:C nos dias 5-7 de vida do animal, e o segundo estímulo se dá pelos eventos estressores (choque no pé, contenção, nado forçado e privação de água) que ocorrem do período 35°-43° de vida do camundongo.

A utilização de ativação imune neonatal por poly I:C ocorre pois essa droga é análoga de RNA viral e age semelhantemente a este simulando assim uma infecção, e a sua utilização ocorre nesse período, pois ele é o equivalente ao primeiro trimestre de gestação humana, no qual a probabilidade de desenvolvimento de doenças neurológicas por conta de infecções é maior (GIOVANOLI *et al.*, 2013).

Após a ativação imune neonatal, ocorre o estresse, o qual é realizado no período pré-pubere, pois é um período que, quando outros eventos estressores foram aplicados anteriormente, se torna muito susceptível ao desenvolvimento de doenças psiquiátricas por experiências traumáticas nessa época (GIOVANOLI *et al.*, 2013).

Esse modelo é muito importante para a prospecção de novos fármacos e para esclarecer os mecanismos fisiopatológicos da doença, pois, por ser um modelo neurodesenvolvimental, ele se assemelha a mecanismos de surgimento da doença em humanos, possibilitando assim a utilização de um modelo eficiente e seguro.

## 2. JUSTIFICATIVA

A esquizofrenia é uma das psicoses mais comuns no Brasil e no mundo, acometendo, em ambos, cerca de 1% da população (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE, 2002). Por conta disso, o estudo de modelos animais robustos é necessário, para que a compreensão de sua fisiopatologia e mecanismos sejam bem compreendidos, e a prospecção de novos fármacos obtenha mais sucesso.

Estudos de modelos animais também auxiliam no bem-estar destes, pois, modelos bem confiáveis garantem experimentos com resultados válidos e a possibilidade de prospecção de novos fármacos mais confiáveis e que possuam um efeito mais semelhante ao da doença no ser humano, pois modelos que têm uma fisiopatologia análoga ao do transtorno em estudo, possibilitam uma maior probabilidade de a droga pesquisada produzir efeitos semelhantes na espécie humana.

Considerando esses fatores, o presente estudo visa avaliar o modelo de indução de esquizofrenia por dois desafios em camundongos machos e fêmeas através de testes comportamentais.

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1. GERAL**

- Avaliar, a partir de testes comportamentais, o modelo neurodesenvolvimental de indução de esquizofrenia em camundongos submetidos à exposição neonatal da partícula viral Poly I:C seguida de eventos estressores na adolescência.

#### **3.2. ESPECÍFICOS**

- Avaliar os sintomas esquizofreniformes do tipo positivo e cognitivo em animais que sofreram desafio imune neonatal do 5º ao 7º dia de vida seguido de eventos estressores na adolescência.

- Determinar as alterações comportamentais na fase adulta dos animais tratados com Poly I:C no período neonatal seguido de eventos estressores na adolescência; e nos animais controles (tratados com solução salina sem eventos estressores), através dos seguintes testes: inibição pré-pulso e campo aberto (sintomas positivos); Labirinto em Y (sintomas cognitivos).



## 4. METODOLOGIA

### 4.1. Animais

Foram utilizados camundongos Swiss adultos (20-30 g) machos e fêmeas provenientes do Biotério Central da Universidade Federal do Ceará (UFC), mantidos a um ciclo claro/escuro de 12 h e ambientados em grupos com livre acesso a comida e água. O projeto foi aprovado pela Comissão de ética e pesquisa animal da Universidade Federal do Ceará (CEUA – UFC) com o número de protocolo 72/2015 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 (NIH, 1996) bem como de acordo com as diretrizes do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal – COBEA.

### 4.2. Drogas

As drogas utilizadas foram Poly I:C (Sigma-Aldrich, St Gallen, Suíça) diluída em solução salina 0,9% para a concentração de 2mg/kg de peso e administrada pela via intravenosa.

### 4.3. Protocolo Experimental - Modelo de esquizofrenia induzido por estimulação imune pré-natal e estresse na adolescência (modelo dos dois desafios – “*two-hits model*”)

O modelo de esquizofrenia dos dois desafios que foi utilizado no presente projeto é baseado em estudo recentemente publicado e simula a etiologia da esquizofrenia em humanos (GIOVANOLI et al., 2013). Para a indução dos dois desafios os animais foram submetidos, além da injeção materna de Poly I:C no período pré-natal, a eventos estressantes na adolescência, o que traz uma validade translacional maior ao modelo.

O análogo de RNA viral, Poly I:C., foi administrado em camundongos entre os dias pós-natais (PNs) 5-7. Este período equivale ao sexto mês de gravidez, que corresponde a um período de grande sensibilidade para o desenvolvimento de esquizofrenia (BROWN et al., 2004; RIBEIRO et al., 2013).

A administração intraperitoneal de 2 mg/kg de poly I: C (Sigma, EUA) dissolvido em solução salina (animais controle) (GIOVANOLI et al., 2013) foi realizada nos dias PNs 5-7. O volume de injeção foi de 30 µl/ 8 g de peso. No 21º dia após o nascimento (PN21), os filhotes machos e fêmeas passaram pelo desmame, separados de acordo com o gênero e

tratamento e mantidos 3-4 por gaiola até o PN70 quando foram conduzidas as avaliações comportamentais.

O estresse foi aplicado entre os PNs 35-43 com intervalo de 1 dia de acordo com o quadro

1. A avaliação comportamental dos animais ocorrerá no PN70.

<b>Tabela 1 – Modelo dos dois desafios (<i>two-hits model</i>)</b>	
<b>1º desafio – Período neonatal</b>	<b>Administração do desafio imune - poly I:C</b>
<b>2º desafio - Período Pós-natal – adolescência (PNs 35-43)</b>	<b>Exposição a diferentes Estressores:</b>  <b>PN 35</b> – Choque elétrico nos pés 0,3 mA duração de 1s  <b>PN 37</b> – Estresse por contenção durante 45 min  <b>PN 39</b> – Privação de água por 16 h  <b>PN 41</b> – Seções de Nado Forçado (2 seções de 1 min)  <b>PN 43</b> – Estresse por contenção durante 45 min.

**Abreviatura: PN = dia pós-natal**

#### **4.4. Estímulos estressores**

1. **D35: Choque no pé:** 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 termina com um período adicional de 3 minutos, no qual não há estímulo de choque.
2. **D37: Imobilização:** Cada animal foi mantido em um tubo de plástico fosco (diâmetro: 6 cm, comprimento: 13 cm) por 45 min. Os tubos contenedores tiram furos (2 mm de diâmetro), de modo a facilitar o fornecimento de oxigênio. Em seguida, os animais foram imediatamente devolvidos para suas gaiolas ao final do procedimento.
3. **D39: Privação de água:** Os animais sofreram uma privação de água durante 16 horas. Para isso, no 46º dia os animais foram transferidos para gaiolas individuais e tiveram suas garrafas de água retiradas às 16:00 horas. As garrafas foram colocadas novamente e os animais voltaram para suas gaiolas originais às 8:00 horas do dia seguinte (47º

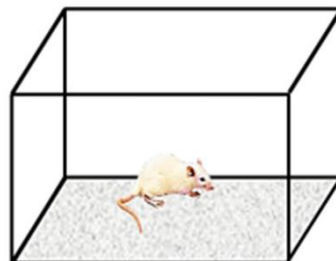
dia). Os animais tiveram livre acesso à comida durante todo o período de privação de água.

4. D39: Nado forçado: Os animais foram submetidos a duas sessões de nado forçado, cada uma com duração de 1 minuto. Para isso, eles foram colocados individualmente em cilindros de acrílico (50 cm de altura, 18 cm de diâmetro) contendo 30 centímetros de profundidade de água a temperatura ambiente. As sessões foram divididas por um intervalo de 3 minutos. Terminadas as sessões, os camundongos foram colocados em uma gaiola seca embaixo de uma luz amarela para aquecimento enquanto eles secavam.
5. D41: Privação de água: O mesmo procedimento de privação de água do dia 39 foi repetido nesse dia.
6. D43: Imobilização: Os animais sofreram o mesmo estímulo estressor aplicado no dia 37.

#### 4.5. Testes comportamentais

##### 1. *Teste de campo aberto*

A atividade locomotora é avaliada através do teste de campo aberto (CA). Este teste foi realizado em um campo (30 cm × 30 cm x 15 cm), dividido em nove partes iguais (Figura 1). O aparelho é colocado em uma sala com luz vermelha. Em seguida, os animais foram cuidadosamente colocados no centro do campo e foi permitido que eles explorassem livremente o cenário por 1 minuto (período de habituação). O parâmetro observado foi o número de quadrados cruzados (com as quatro patas) por um período de 5 minutos.

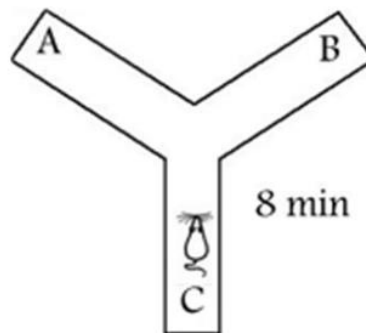


**Figura 1** – Desenho Arena do Campo Aberto

##### 2. *Teste do Labirinto em Y*

A memória de trabalho foi avaliada por meio de um teste de Labirinto em Y (Figura 2), que permite avaliar o comportamento cognitivo exploratório. O labirinto consiste em 3 braços idênticos de 40 cm de comprimento, 25 cm de altura e 6 cm de largura cada convergindo a um ângulo igual. Cada camundongo é colocado na extremidade de um braço e deixado para explorar o ambiente por 8 minutos. A sequência dos braços em que os animais entraram foi então anotada e as informações analisadas de forma a determinar o número de entradas no braço sem repetição. Uma alternância é considerada correta se o animal visitou um novo braço e não retornou ao braço anteriormente visitado. Assim, a porcentagem das alternâncias é calculada como a razão entre as alternâncias corretas (n) e o número total de visitas realizadas durante o período de observação ( $n^1-2$ ), multiplicado por 100 (DALL'IGNA et al., 2007; YAMADA et al., 1996).

$$\% \text{ Alternações} = (n/n^1-2) * 100$$



**Figura 2** – Desenho Labirinto em Y.

### 3. *Teste de Inibição Pré-Pulso*

Para avaliação do filtro sensório-motor, foi utilizado o teste de Inibição Pré-Pulso (IPP). Esse teste envolve a determinação da capacidade de inibição de um reflexo de sobressalto, o qual é uma resposta preventiva natural existente em diversas espécies de mamíferos que consiste na contração rápida de músculos esqueléticos e é uma resposta à estímulos externos fortes e repentinos, como um barulho muito alto. A inibição pré-pulso é uma forma de atenuação do reflexo de sobressalto em resposta à um estímulo auditivo de forte intensidade (pulso) quando ocorre anteriormente a este, com cerca de 30-500 ms antes, um outro de menor intensidade (pré-pulso), assim, ocorre o processamento dessas informações de

origem auditivas e o animal que tiver o cérebro normal terá uma resposta de sobressalto menor quando houver um pulso precedido de pré-pulso (WEISS; FELDON, 2001).

Dessa forma, para avaliação dessa resposta de sobressalto, foi realizado o teste de IPP, o qual é realizado dentro de uma caixa que contém isolamento acústico, uma balança e uma caixa de som para a emissão dos estímulos. Seguindo o protocolo adaptado de Gururajan A. *et al* (2010): o camundongo foi colocado em uma gaiola que em seguida foi posta sobre a balança, o animal permaneceu dentro da caixa por 35 minutos, com 5 minutos de adaptação e em seguida apresentação dos estímulos, os quais foram 94 ensaios randomizados divididos em oito categorias diferentes, intercalados por um intervalo de 20 s: 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 50 ms entre pré-pulso e pulso) e ausência de estímulo (neste bloco o animal só recebe o estímulo de ruído de fundo). A IPP foi expressa em porcentagem de inibição da amplitude do sobressalto em função da amplitude da resposta apenas ao pulso (GURURAJAN; TAYLOR; MALONE, 2010).



A

B

**Figura 3** – A: Caixa de teste para o IPP com gaiola onde o animal fica durante a realização do teste. B: Caixa do teste IPP mostrando em detalhes o isolamento acústico, caixa de som e balança com peso de 50 g utilizado na calibração para a realização do teste (Equipamento do Laboratório de Neuropsicofarmacologia).

#### 4.6. Análises

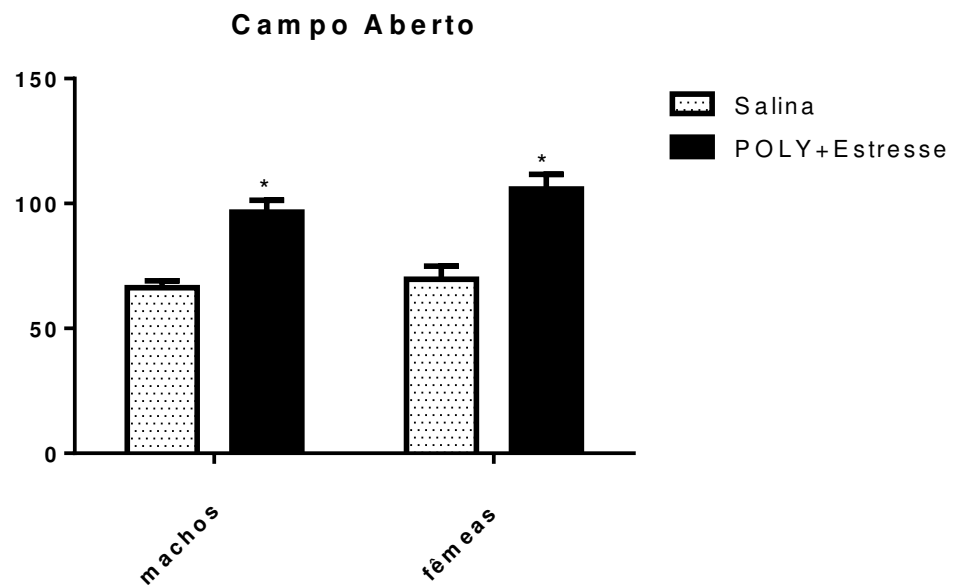
Os resultados de campo aberto foram analisados no programa SMART para a contagem do número de cruzamentos. Em seguida, a análise dos dados foi realizada através do software GraphPad Prism, versão 6.0. Os resultados comportamentais de Inibição Pré-

pulso, campo aberto e Y maze foram analisados através de two-way ANOVA seguida pelo teste de Tukey como teste *post hoc* para comparações múltiplas. Valores significativos para todas as análises foram considerados quando  $p < 0,05$ .

## 5. RESULTADOS

### 5.1. Teste de Campo Aberto

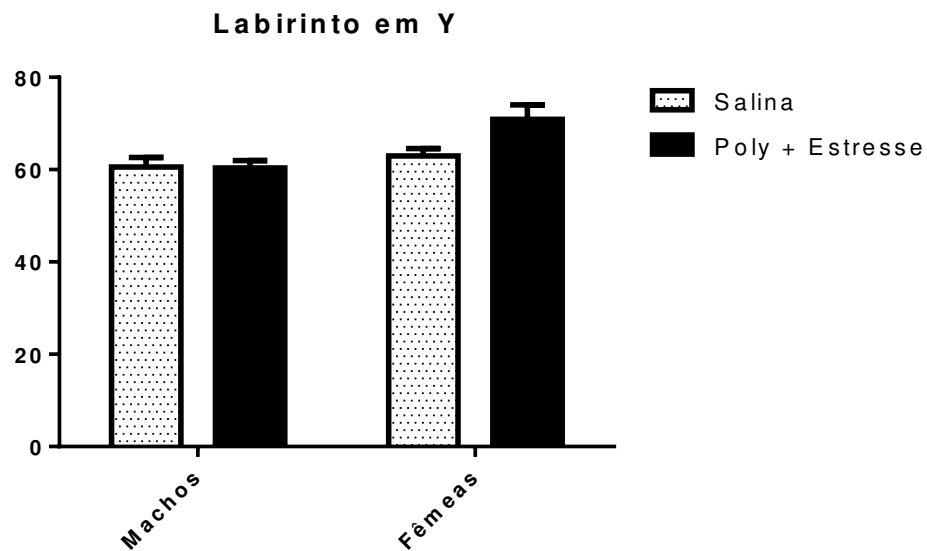
No teste de campo aberto, houve uma diferença significativa no número de cruzamentos entre os animais do grupo salina (Machos -  $66,25 \pm 2,76$ / Fêmeas -  $69,69 \pm 5,20$ .) e o grupo poly + estresse (Machos -  $96,61 \pm 4,75$ / Fêmeas -  $105,75 \pm 5,94$ .), tendo este apresentado um número maior de cruzamentos tanto nos machos ( $P < 0,01$ ) como nas fêmeas ( $P < 0,0001$ ) (Figura 4).



**Figura 4** - Número de Cruzamentos dos animais submetidos à exposição neonatal da partícula viral Poly I:C seguida de eventos estressores na adolescência. Cada barra representa a média  $\pm$  erro padrão da média (SEM) ( $n = 8 - 13$  animais por grupo) do número de cruzamentos. \* $p < 0,05$  quando comparado com o grupo controle de acordo *two way* ANOVA seguido pelo teste *post hoc* de Tukey.

### 5.2. Teste de Labirinto em Y

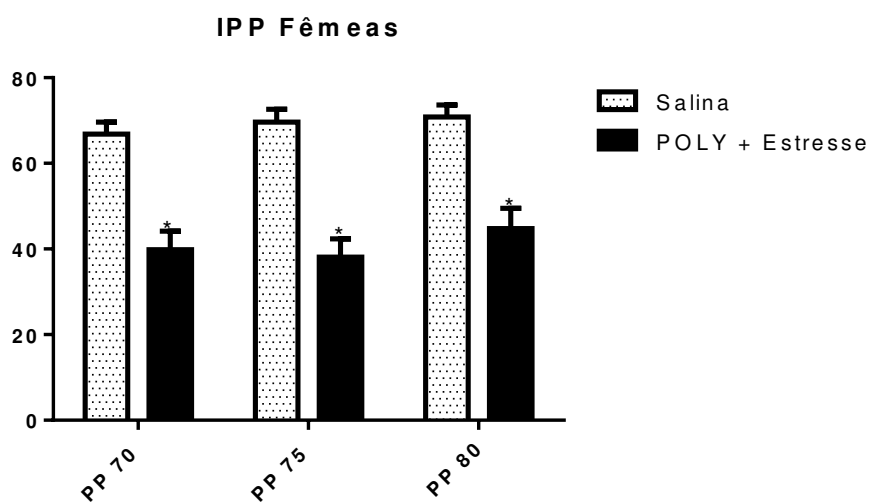
No teste do labirinto em Y, não houve diferença significativa do grupo poly + stress (Machos:  $60,33 \pm 1,61$ /Fêmeas:  $70,87 \pm 3,18$ ) em relação ao grupo controle (Machos:  $60,53 \pm 2,12$ /Fêmeas:  $62,98 \pm 1,59$ ), apesar de ter ocorrido uma pequena tendência a uma maior porcentagem de acertos nas fêmeas (Figura 5).



**Figura 5** - Porcentagem de alterações corretas no teste de labirinto em Y dos animais submetidos à exposição neonatal da partícula viral Poly I:C seguida de eventos estressores na adolescência. Cada barra representa a média  $\pm$  erro padrão da média (SEM) ( $n = 12 - 27$  animais por grupo). \* $p < 0,05$  quando comparado com o grupo controle de acordo *two-way* ANOVA seguido pelo teste de *post hoc* Tukey.

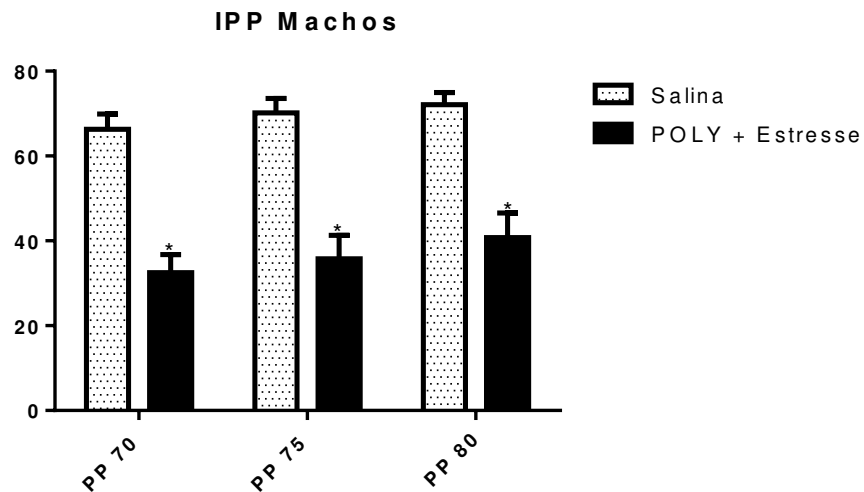
### 5.3. Teste de Inibição Pré-Pulso

No teste de Inibição Pré-pulso, o grupo fêmeas mostrou uma diferença significativa no grupo poly + stress (pp 70:  $39,82 \pm 4,35$ ; pp 75:  $38,12 \pm 4,22$ ; pp 80:  $44,75 \pm 4,71$ ) em relação ao grupo salina (pp70:  $66,83 \pm 2,81$ ; pp 75:  $69,63 \pm 2,98$ ; pp 80:  $70,85 \pm 2,76$ ), em todas as intensidades analisadas ( $P < 0,0001$ ) (Figura 6).





**Figura 6A** – Porcentagem de inibição pré-pulso (IPP) das Fêmeas (A) e Machos (B) submetidos à exposição neonatal da partícula viral Poly I:C seguida de eventos estressores na adolescência. Cada barra representa a média  $\pm$  erro padrão da média (SEM) (n=13-20 animais por grupo) do percentual de IPP. \*p <0,05 quando comparado com o grupo controle de acordo com *two way* ANOVA seguido pelo teste *post hoc* de Tukey.



**Figura 6B**

Nos animais do sexo masculino, assim como os do sexo feminino, houve diferença significativa entre o grupo Poly I:C (pp 70: 32,51  $\pm$  4,24; pp 75: 35,77  $\pm$  5,54; pp 80: 40,76  $\pm$  5,74) e controle (pp 70: 66,31  $\pm$  3,58; pp 75: 70,14  $\pm$  3,39; pp 80: 72,12  $\pm$  2,84) nas três intensidades analisadas ( $P < 0,0001$ ) (Figura 6A e B).

## 6. DISCUSSÃO

No presente estudo demonstramos que o modelo de esquizofrenia de dois desafios induzidos por ativação imune neonatal e estresse pré-pubere em camundongos machos e fêmeas é eficaz nos testes de campo aberto e inibição pré-pulso, pois foi constatada uma diferença significativa do grupo poly + estresse, o qual foi o que recebeu os estímulos estressores, em relação ao grupo controle, tratado somente com solução salina. Entretanto, nos testes de labirinto em Y, o modelo não demonstrou ser eficiente, pois não houve diferença significativa entre os grupos.

Os resultados positivos nesses dois testes comportamentais em ambos os sexos, sugerem que este modelo pode ser utilizado para a detecção de sintomas positivos em camundongos de sexo masculino e feminino, pois os sintomas positivos em animais são avaliados com base em dois principais tipos de alterações comportamentais: hiperatividade locomotora e déficits de IPP (VAN DEN BUUSE, 2010). Em concordância, no teste de campo aberto, os animais submetidos ao modelo realizaram muito mais cruzamentos que o controle, o que caracteriza um sinal de comportamento estereotipado, característico de sintoma positivo de psicoses (JONES; WATSON; FONE, 2011).

O resultado significativo no teste de inibição pré-pulso comprova a eficácia do modelo, visto que déficits no IPP são indícios de problemas no filtro sensorio motor, o qual inibi o reflexo de sobressalto característico de mamíferos em situação de estresse, impedindo uma sobrecarga sensorial, o que indica uma fragmentação cognitiva, assim, os resultados obtidos indicam prejuízos no filtro sensorio-motor, caracterizando um sintoma cognitivo de pacientes com esquizofrenia (JONES; WATSON; FONE, 2011; POWELL; ZHOU; GEYER, 2009; REJANE et al., 2001).

O único teste que não possuiu resultados significativos foi o teste de labirinto em Y, o qual é utilizado para avaliar a memória espacial dos animais, pois os acertos nos braços do aparelho, caracterizam que aquele animal conseguiu se lembrar do braço que acabou de entrar, e por conta do comportamento exploratório de camundongos, realizou uma atividade diferente da que tinha acabado de fazer (CONRAD *et al.*, 1996, 2003). Com esse resultado obtido nesse teste, não podemos afirmar que o modelo pode ser utilizado para detecção de problemas na memória espacial, principalmente em machos.

Nas fêmeas do grupo poly + estresse, no teste de labirinto em Y, apesar de não termos obtido resultados significativos, pode-se observar que estas tiveram uma tendência à um maior número de acertos que os machos, ultrapassando, inclusive, a porcentagem de

acertos do grupo controle. Isso pode ter acontecido pois, às vezes, alguns animais, mesmo submetidos a todos os estímulos estressores durante o período neonatal e adolescência, ainda assim não se adequam ao modelo. Esse comportamento é mais comum nas fêmeas, e pode ser consequência de um efeito neuroprotetor do estrogênio nos animais desse sexo, visto que, alguns estudos relatam também uma diferença entre os sexos em parâmetros de comportamento (CHAVES, 2000; CONRAD *et al.*, 2003; GIOVANOLI; MEYER, 2013).

Com base nesses resultados obtidos, tanto nos sintomas positivos como os cognitivos, o modelo de esquizofrenia de dois desafios é eficaz para a indução dessa doença em camundongos machos e fêmeas, porém mais testes precisam ser realizados para que alguns parâmetros, como a avaliação da memória espacial possam também ser medidos com esse modelo, e também é importante mais estudos com ambos os sexos, e nas fêmeas, trabalhos que as utilizem em períodos diferentes do ciclo estral, para que possamos descobrir se realmente essa diferença entre os sexos ocorre por conta de um efeito neuroprotetor do estrógeno.

## **7. CONCLUSÃO**

Com a realização desse trabalho, podemos concluir a eficácia do modelo de experimentação animal estudado, tanto em machos como em fêmeas, em testes de comportamento para sintomas positivos, teste de campo aberto, e para sintomas cognitivos, teste de inibição pré-pulso.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

APA. **Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais - DSM-5**. Porto alegre: Artmed, 2014.

BRAFF, D. L. et al. Deconstructing schizophrenia: an overview of the use of endophenotypes in order to understand a complex disorder. **Schizophrenia bulletin**, v. 33, n. 1, p. 21–32, jan. 2007.

BROWN, A. S. et al. Serologic evidence of prenatal influenza in the etiology of schizophrenia. **Archives of general psychiatry**, v. 61, n. 8, p. 774–80, ago. 2004.

CANDIAGO, R. H. et al. Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas. Portaria SAS/MS nº 364, de 9 de abril de 2013.

CARPENTER, W. T.; KOENIG, J. I. The evolution of drug development in schizophrenia: past issues and future opportunities. **Neuropsychopharmacology : official publication of the American College of Neuropsychopharmacology**, v. 33, n. 9, p. 2061–79, ago. 2008.

CHAVES, A. C. Diferenças entre os sexos na esquizofrenia. **Revista Brasileira de Psiquiatria**, v. 22, n. suppl 1, p. 21–22, maio 2000.

CONRAD, C. D. et al. Chronic stress impairs rat spatial memory on the Y maze, and this effect is blocked by tianeptine treatment. **Behavioral Neuroscience**, v. 110, n. 6, p. 1321–1334, 1996.

CONRAD, C. D. et al. Sex differences in spatial and non-spatial Y-maze performance after chronic stress. **Neurobiology of Learning and Memory**, v. 79, n. 1, p. 32–40, 1 jan. 2003.

CORIGLIANO, V. et al. Neurocognition in schizophrenia: From prodrome to multi-episode illness. **Psychiatry Research**, v. 220, n. 1–2, p. 129–134, dez. 2014.

DALL'IGNA, O. P. et al. Caffeine and adenosine A(2a) receptor antagonists prevent beta-amyloid (25-35)-induced cognitive deficits in mice. **Experimental neurology**, v. 203, n. 1, p. 241–5, jan. 2007.

DESBONNET, L.; WADDINGTON, J. L.; O'TUATHAIGH, C. M. P. Mutant models for genes associated with schizophrenia. **Biochemical Society transactions**, v. 37, n. Pt 1, p. 308–12, fev. 2009.

ESAN, O. B.; OJAGBEMI, A.; GUREJE, O. Y. E. Epidemiology of schizophrenia – An update with a focus on developing countries. v. 24, n. October, p. 387–392, 2012.

GADELHA DE, A.; BRESSAN, R.A.; FILHO, G.B. Fisiopatologia da esquizofrenia: aspectos atuais Physiopathology of schizophrenia: current aspects. **Rev. Psiq. Clín.**, v. 34, supl 2; p. 198-203, 2007.

GALDERISI, S.; MERLOTTI, E.; MUCCI, A. Neurobiological background of negative symptoms. **European Archives of Psychiatry and Clinical Neuroscience**, v. 265, n. 7, p. 543–558, 24 out. 2015.

GEYER, M. A.; MCILWAIN, K. L.; PAYLOR, R. Mouse genetic models for prepulse inhibition: an early review. **Molecular psychiatry**, v. 7, n. 10, p. 1039–53, jan. 2002.

GIOVANOLI, S.; MEYER, U. Stress in puberty unmasks latent neuropathological consequences of prenatal immune activation in mice. **Science (New York, N.Y.)**, v. 339, n. 6123, p. 1095–9, mar. 2013.

GIOVANOLI, S.; MEYER, U. Response to Comment on “Stress in Puberty Unmasks Latent Neuropathological Consequences of Prenatal Immune Activation in Mice”. **Science**, v. 340, n. 6134, p. 811–811, 2013.

GRACE, A. A. Dysregulation of the dopamine system in the pathophysiology of schizophrenia and depression. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 17, n. 8, p. 524–532, 3 jun. 2016.

GURURAJAN, A.; TAYLOR, D. A.; MALONE, D. T. Effect of testing conditions on the propsychotic action of MK-801 on prepulse inhibition, social behaviour and locomotor activity. **Physiology & Behavior**, v. 99, n. 1, p. 131–138, 12 jan. 2010.

HARRISON, P. J. **DEMENTIA: A PUBLIC HEALTH PRIORITY**. WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2012.

JONES, C. A.; WATSON, D. J. G.; FONE, K. C. F. Animal models of schizophrenia. **British journal of pharmacology**, v. 164, n. 4, p. 1162–94, out. 2011.

KESHAVAN, M. S. et al. Schizophrenia, “just the facts”: What we know in 2008. Part 3: Neurobiology. **Schizophrenia Research**, v. 106, n. 2–3, p. 89–107, 2008.

KIRKPATRICK, B. et al. The NIMH-MATRICES Consensus Statement on Negative Symptoms. **Schizophrenia Bulletin**, v. 32, n. 2, p. 214–219, 1 abr. 2006.

LACHMAN, A. New developments in diagnosis and treatment update: Schizophrenia/first episode psychosis in children and adolescents. **Journal of Child & Adolescent Mental Health**, v. 26, n. 2, p. 109–124, 4 maio 2014.

LARSON, M. K.; WALKER, E. F.; COMPTON, M. T. Early signs, diagnosis and therapeutics of the prodromal phase of schizophrenia and related psychotic disorders. **Expert review of neurotherapeutics**, v. 10, n. 8, p. 1347–59, ago. 2010.

LIDDLE, P. F. The symptoms of chronic schizophrenia. A re-examination of the positive-negative dichotomy. **The British journal of psychiatry : the journal of mental science**, v. 151, p. 145–51, ago. 1987.

LINDENMAYER, J.-P. et al. A systematic review of psychostimulant treatment of negative symptoms of schizophrenia: Challenges and therapeutic opportunities. **Schizophrenia Research**, v. 147, n. 2–3, p. 241–252, jul. 2013.

MARI, J. J. A epidemiologia da esquizofrenia. v. 22, n. Supl I, p. 15–17, 2000.

MILLER, R.; MASON, S. E. **Diagnosis: Schizophrenia**. 2. ed. Columbia University Press, 2011.

National Institute of Mental Health, 2016.

NIH. Guide for the Care and Use of Laboratory Animals- Institute of Laboratory Animal Research- National Research Council. **National Academies Press**, 1996.

NUECHTERLEIN, K. H. et al. Identification of separable cognitive factors in schizophrenia. **Schizophrenia Research**, v. 72, n. 1, p. 29–39, dez. 2004.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE. **O Peso das Perturbações Mentais e Comportamentais**. 1. ed. Climepsi Editores, 2002.

PIDSLEY, R. et al. Methyloomic profiling of human brain tissue supports a neurodevelopmental origin for schizophrenia. **Genome biology**, v. 15, n. 10, p. 483, 2014.

- POWELL, C. M.; MIYAKAWA, T. Schizophrenia-relevant behavioral testing in rodent models: a uniquely human disorder? **Biological psychiatry**, v. 59, n. 12, p. 1198–207, 15 jun. 2006.
- POWELL, S. B.; ZHOU, X.; GEYER, M. A. Prepulse inhibition and genetic mouse models of schizophrenia. **Behavioural brain research**, v. 204, n. 2, p. 282–94, dez. 2009.
- RANG, H.P., RITTER, J.M., FLOWER, R.J., HENDERSON, G. **Rang & Dale's Pharmacology**. 8. ed. 2015.
- RAPOPORT, J. L.; GIEDD, J. N.; GOGTAY, N. Neurodevelopmental model of schizophrenia: update 2012. **Molecular psychiatry**, v. 17, n. 12, p. 1228–38, dez. 2012.
- REJANE, C. et al. A ESQUIZOFRENIA E SEU TRATAMENTO FARMACOLÓGICO PHARMACOLOGICAL TREATMENT OF SCHIZOPHRENIA. **Rev. Estudos de Psicologia, PUC-Campinas**, v. 18, n. 1, p. 12-22, janeiro/abril 2001.
- RIBEIRO, B. M. M. et al. Evidences for a progressive microglial activation and increase in iNOS expression in rats submitted to a neurodevelopmental model of schizophrenia: reversal by clozapine. **Schizophrenia research**, v. 151, n. 1–3, p. 12–9, dez. 2013.
- SEEMAN, P.; KAPUR, S. Schizophrenia: more dopamine, more D2 receptors. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 97, n. 14, p. 7673–5, 5 jul. 2000.
- SHIM, G. et al. Prospective outcome of early intervention for individuals at ultra-high-risk for psychosis. **Early Intervention in Psychiatry**, v. 2, n. 4, p. 277–284, 23 out. 2008.
- STONE, J. M.; MORRISON, P. D.; PILOWSKY, L. S. Review: Glutamate and dopamine dysregulation in schizophrenia — a synthesis and selective review. **Journal of Psychopharmacology**, v. 21, n. 4, p. 440–452, 4 jun. 2007.
- SWERDLOW, N. et al. Effects of spiperone, raclopride, SCH 23390 and clozapine on apomorphine inhibition of sensorimotor gating of the startle response in the rat. **Journal of Pharmacology**, p. 530–536, 1991.
- ÜSTÜN, T. B. et al. Multiple-informant ranking of the disabling effects of different health conditions in 14 countries. v. 354, p. 111–115, 1999.



VAN DEN BUUSE, M. Modeling the positive symptoms of schizophrenia in genetically modified mice: pharmacology and methodology aspects. **Schizophrenia bulletin**, v. 36, n. 2, p. 246–70, mar. 2010.

WEISS, I. C.; FELDON, J. Environmental animal models for sensorimotor gating deficiencies in schizophrenia: a review. **Psychopharmacology**, v. 156, n. 2–3, p. 305–326, 22 jul. 2001.

YAMADA, K. et al. The role of nitric oxide in dizocilpine-induced impairment of spontaneous alternation behavior in mice. **The Journal of pharmacology and experimental therapeutics**, v. 276, n. 2, p. 460–6, fev. 1996.