



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

ALINE SANTOS MONTE

**MINOCICLINA NA PREVENÇÃO E REVERSÃO DOS SINTOMAS TIPO
ESQUIZOFRENIA INDUZIDOS POR CETAMINA EM CAMUNDONGOS:
POSSÍVEL ENVOLVIMENTO DO ESTRESSE OXIDATIVO E DA VIA
NITRÉRGICA.**

FORTALEZA/CE

2013

ALINE SANTOS MONTE

MINOCICLINA NA PREVENÇÃO E REVERSÃO DOS SINTOMAS TIPO
ESQUIZOFRENIA INDUZIDOS POR CETAMINA EM CAMUNDONGOS:
POSSÍVEL ENVOLVIMENTO DO ESTRESSE OXIDATIVO E DA VIA
NITRÉRGICA.

Dissertação submetida à Coordenação do
Programa de Pós-Graduação em
Farmacologia, da Universidade Federal
do Ceará, como requisito parcial para
obtenção do grau de Mestre em
Farmacologia.

Orientadora: Dra. Danielle Silveira
Macêdo

FORTALEZA/CE

2013

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca de Ciências da Saúde

M766m Monte, Aline Santos
Minociclina na prevenção e reversão dos sintomas tipo esquizofrenia induzidos por
cetamina em camundongos: possível envolvimento do estresse oxidativo e da via nitrérgica
/ Aline Santos Monte. – 2013.
82 f. : enc. ; 30 cm.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências da Saúde,
Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, Fortaleza, 2013.
Orientação: Profa. Dra. Danielle Silveira Macêdo

1. Minociclina. 2. Esquizofrenia. 3. Cognição. I. Título.

CDD: 616.8982

ALINE SANTOS MONTE

MINOCICLINA NA PREVENÇÃO E REVERSÃO DOS SINTOMAS TIPO
ESQUIZOFRENIA INDUZIDOS POR CETAMINA EM CAMUNDONGOS:
POSSÍVEL ENVOLVIMENTO DO ESTRESSE OXIDATIVO E DA VIA
NITRÉRGICA.

Dissertação apresentada a Coordenação do Programa de Pós-graduação em
Farmacologia como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em
Farmacologia.

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Danielle Silveira Macêdo (Orientadora)

Universidade Federal do Ceará

Prof. Dr. David Freitas de Lucena

Faculdade Christus

Prof. Dr. Thiago Berti Kirsten

Universidade de São Paulo

*Dedico essa dissertação aos meus pais,
meus grandes e eternos amores.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por ter me dado forças para conseguir ir em frente.

À minha família e meu namorado, que são tudo para mim, meu alicerce, minha razão de viver.

Aos meus colegas e as técnicas do Laboratório de Neurofarmacologia, que fizeram essa jornada muito mais prazerosa.

À minha orientadora, que me ajudou em todos os momentos que precisei. Obrigada por ser a pessoa em quem sempre irei me espelhar.

À todas as professoras do grupo de pesquisa do Laboratório de Neurofarmacologia.

Ao CNPq pelo apoio financeiro.

À Universidade Federal do Ceará, por ter feito parte da minha graduação, especialização e agora por ter me formado Mestre em Farmacologia.

Meu muito obrigado!

“Destino não é questão de sorte, é questão de escolha. Não é questão de espera, é questão de ir à luta”.

William Jennings Bryan

RESUMO

MINOCICLINA NA PREVENÇÃO E REVERSÃO DOS SINTOMAS TIPO ESQUIZOFRENIA INDUZIDOS POR CETAMINA EM CAMUNDONGOS: POSSÍVEL ENVOLVIMENTO DO ESTRESSE OXIDATIVO E DA VIA NITRÉRGICA.

A esquizofrenia é um transtorno mental grave que afeta cerca de 1 % da população acima da idade de 18 anos e é capaz de comprometer o pensamento, vontade própria, percepção, afeto e interação social. O efeito insuficiente da farmacoterapia atual sobre os sintomas negativos e déficits cognitivos reflete nossa má compreensão da etiologia da esquizofrenia. Tem sido hipotetizado que as alterações na sinalização nitrérgica e o desequilíbrio oxidativo desempenham um papel na neurobiologia da esquizofrenia. Evidências preliminares sugerem que o tratamento adjuvante com minociclina é eficaz para sintomas negativos e cognitivos desse transtorno. Assim, esse estudo investigou os efeitos da minociclina na prevenção e reversão de comportamentos tipo esquizofrenia induzidos por cetamina em camundongos. No protocolo de reversão, diferentes grupos de animais receberam cetamina (20 mg/kg) ou DMSO (veículo usado nos grupos controles) por 14 dias e, do 8º ao 14º dia, receberam adicionalmente minociclina (25 ou 50mg/kg), risperidona (0,5mg/kg) ou DMSO 30 minutos depois. No protocolo de prevenção, os camundongos foram pré-tratados com ambas as doses de minociclina, risperidona ou DMSO por 14 dias e, do 8º ao 14º dia, receberam adicionalmente cetamina 30 minutos depois. Todas as drogas foram administradas intraperitonealmente e uma vez ao dia. Comportamentos relacionados aos sintomas positivos (inibição pré-pulso e atividade locomotora), negativos (interação social) e cognitivos (labirinto Y) da esquizofrenia também foram avaliados. Glutathione (GSH), substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) e os níveis de nitrito foram medidos no córtex pré-frontal (CPF), hipocampo (HC) e no corpo estriado (CE). Os resultados dos testes comportamentais mostraram que a cetamina promoveu um déficit no filtro sensorio-motor, aumento da atividade locomotora, diminuição da interação social e prejuízo na memória de trabalho. Praticamente todos esses parâmetros foram prevenidos e revertidos pela administração de minociclina (25 e 50mg/kg) e risperidona. A cetamina também promoveu alterações nos marcadores oxidativos, através do aumento da peroxidação lipídica e diminuição dos níveis do antioxidante GSH, além do aumento dos níveis de nitrito no CE. Seguindo a mesma linha dos resultados comportamentais, a minociclina e risperidona foram capazes de prevenir e reverter tais alterações. Estes dados fornecem evidências pré-clínicas para uma melhor avaliação da minociclina como um novo agente antipsicótico e sugerem que seu mecanismo de ação inclui efeitos nos sistemas antioxidantes e nitrérgicos.

Palavras-chave: minociclina, esquizofrenia, modelo induzido por cetamina, interação social, inibição pré-pulso, cognição.

ABSTRACT

PREVENTION AND REVERSAL OF KETAMINE-INDUCED SCHIZOPHRENIA-LIKE SYMPTOMS BY MINOCYCLINE IN MICE: POSSIBLE INVOLVEMENT OF ANTIOXIDANT AND NITRERGIC PATHWAYS

Schizophrenia is a serious mental disorder that affects approximately 1 % of the population over the age of 18 and is able to compromise the thought, will, perception, social interaction and affection. The insufficient effect of current pharmacotherapy on negative symptoms and cognitive deficits reflects our poor understanding of the etiology of schizophrenia. It has been hypothesized that oxidative imbalance and alterations in nitrergic signaling play a role in the neurobiology of schizophrenia. Preliminary evidence suggests that adjunctive minocycline treatment is efficacious for cognitive and negative symptoms of schizophrenia. Thus, this study investigated the effects of minocycline in the prevention and reversal of ketamine-induced schizophrenia-like behaviors in mice. In the reversal protocol, different groups of animals received ketamine (20 mg/kg) or DMSO (vehicle used in controls) for 14 days, and, from the 8th to 14th day, additionally received minocycline (25 or 50mg/kg), risperidone (0.5 mg / kg) or DMSO 30 minutes after. In the prevention protocol, mice were pre-treated with both doses of minocycline, risperidone or DMSO for 14 days, from the 8th to 14th day, additionally received ketamine 30 minutes later. All drugs were administered intraperitoneally and once a day. Behaviors related to positive (locomotor activity and prepulse inhibition of startle), negative (social interaction) and cognitive (Y maze) symptoms of schizophrenia were also assessed. Glutathione (GSH), thiobarbituric acid-reactive substances (TBARS) and nitrite levels were measured in the prefrontal cortex (PFC), hippocampus (HC) and striatum (ST). The result of behavioral tests showed that ketamine promoted a deficit in sensorimotor filter, increased locomotor activity, decreased social interaction and prejudice in working memory. Virtually all of these parameters were prevented and reversed by the administration of minocycline (25 and 50 mg/kg) and risperidone. Ketamine also promoted changes in oxidative markers by increasing lipid peroxidation and antioxidant GSH levels decrease, in addition to increased levels of nitrite in the ST. Following the same line of the behavioral results, minocycline and risperidone were able to prevent and reverse such changes. These data provide a rationale for evaluating minocycline as a novel psychotropic agent and suggest that its mechanism of action includes antioxidant and nitrergic systems.

Keywords: minocycline, schizophrenia, ketamine-induced model, social interaction, prepulse inhibition, cognition.

ABREVIATURAS

5-HIAA	Ácido hidroxindolacético
5-HT	Serotonina
ANOVA	Análise de Variância
Ca ²⁺	Cálcio
CE	Corpo estriado
CEPA	Comitê de Ética em Pesquisa Animal
CPF	Córtex pré-frontal
dB	Decibéis
DMSO	Dimetilsulfóxido
GSH	Glutathiona Reduzida
HC	hipocampo
IPP	Inibição Pré-pulso
KET	Cetamina
LPS	Lipopolissacarídeo
LSD	Ácido lisérgico
MDA	Malondialdeído
MINO	Minociclina
NMDAR	Receptor de N-metil-d-aspartato
NO	Óxido nítrico
NO ⁻²	Nitrito
NO ⁻³	Nitrato
P	Pulso sozinho
PCP	Fenciclidina
PP	Pré-pulso + pulso
Risp	Risperidona
SNC	Sistema Nervoso Central
SOD	Superóxido dismutase
TBARS	Espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Fatores biológicos, psicológicos e sociais e sua influência na alteração do comportamento, cognição e emoções do indivíduo.....	17
Figura 2: Representação hipotética associando a hipofunção cortical (redução da atividade de receptores NMDA) e os sintomas da esquizofrenia.....	20
Figura 3: Inibição pré-pulso (IPP).....	26
Figura 4: Estrutura química da tetraciclina e da minociclina.....	28
Figura 5: A hipótese microglial da esquizofrenia.....	29
Figura 6: Representação esquemática do protocolo experimental.....	35
Figura 7: Aparelho de inibição pré-pulso.....	37
Figura 8: Labirinto em Y.....	38
Figura 9: Efeito de prevenção (A) e de reversão (B) da minociclina no déficit de IPP induzido por cetamina em camundongos usando três diferentes intensidades de pré-pulso (70, 75 e 80dB).....	43
Figura 10: Efeito de prevenção (A) e de reversão (B) da minociclina na hiperlocomoção induzida por cetamina em camundongos.....	45
Figura 11: Efeito de prevenção (A e B) e de reversão (C e D) da minociclina nos déficits de interação social e memória de trabalho induzidos pela cetamina.....	47
Figura 12: Resumo esquemático dos resultados obtidos na presente pesquisa.....	60

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Alterações neuroquímicas (estresse oxidativo e níveis de nitrito) em áreas cerebrais de animais submetidos ao protocolo de prevenção.....	51
Tabela 2: Alterações neuroquímicas (estresse oxidativo e níveis de nitrito) em áreas cerebrais de animais submetidos ao protocolo de reversão.....	52

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	14
1.1 Esquizofrenia.....	14
1.2 Etiologia	15
1.3 Fisiopatologia da esquizofrenia.....	18
1.4 Tratamento farmacológico da esquizofrenia	22
1.5 A cetamina como modelo animal da esquizofrenia	24
1.6 Testes comportamentais para o estudo da esquizofrenia.....	25
1.7 Minociclina e seu papel neuroprotetor	28
1.8 Estresse oxidativo e esquizofrenia	20
2. JUSTIFICATIVA	32
3. OBJETIVOS	33
4. MATERIAL E MÉTODOS	34
4.1 Animais	34
4.2 Drogas	34
4.3 Procedimento experimental.....	34
4.4 Testes comportamentais	36
4.5 Determinação de parâmetros de estresse oxidativo.....	39
5. ANÁLISE ESTATÍSTICA	41
6. RESULTADOS	42
6.1 Minociclina é capaz de prevenir e reverter o déficit de IPP induzido por cetamina	42
6.2 Minociclina é capaz de prevenir e reverter a hiperlocomoção induzida por cetamina	43
6.3 Minociclina é capaz de prevenir e reverter as alterações na interação social e memória de trabalho induzidas por cetamina	46
6.4 Minociclina é capaz de prevenir e reverter as alterações pró-oxidativas e dos níveis de nitrito induzidas pela administração repetida de cetamina	48
7. DISCUSSÃO	53
8. CONCLUSÃO.....	59
REFERENCIAS	61

1. INTRODUÇÃO

1.1 Esquizofrenia

Os quatro mais sérios transtornos do pensamento e humor são: esquizofrenia, depressão, mania e estados de ansiedade. Estes transtornos comprometem o pensamento, vontade própria, percepção, afeição e interação social (SADOCK, 2000).

A esquizofrenia consiste em um transtorno mental crônico caracterizado por sintomas positivos, negativos e cognitivos (LARSON *et al.*, 2010). As anormalidades do período psicótico são chamadas sintomas positivos porque refletem a presença de comportamentos anormais como delírios, paranóia, alucinações visuais e auditivas, pensamentos desordenados e incoerentes e perda da associação normal entre as ideias. Os sintomas do período não psicótico são chamados de sintomas negativos, pois são caracterizados pela ausência de comportamentos sociais e interpessoais. Geralmente são crônicos e os mais difíceis de tratar, como retraimento social, apatia, anedonia e alogia. Já os sintomas cognitivos da esquizofrenia envolvem distúrbios nas funções executivas, como perda de memória, incapacidade de manter a atenção e falta de percepção (MEYER; FELDON, 2010).

Este transtorno mental afeta cerca de 1 % da população adulta acima de 18 anos de idade; principalmente na faixa etária de 15-35 anos. Embora a incidência seja baixa (3-10.000), a prevalência é alta devido à cronicidade. Vale ressaltar que mais de 50% das pessoas com esquizofrenia não recebem cuidados adequados (WHO, 2013).

O termo pródromo tem sido usado na esquizofrenia para se referir a fase que antecede o aparecimento inicial do surto psicótico iniciando primeiramente com a mudança de comportamento (HERZ, 1999). Os sinais do pródromo na esquizofrenia são inicialmente confundidos com comportamentos típicos da fase da adolescência, atribuídos a fatores emocionais e sociais do adulto jovem, ou relacionados a outros transtornos, como ansiedade e depressão, casos em que as pessoas chegam a ser tratadas com ansiolíticos ou antidepressivos (LOUZÃ, 2007). Estes episódios são algumas vezes separados por longos períodos nos quais o paciente não está evidentemente psicótico, entretanto, está isolado socialmente e tem um nível reduzido de ativação emocional, ausência de vida social, pobreza no falar e falta de motivação (CARPENTER; BUCHANAN, 1994). Esta fase, descrita por Klaus Conrad, na década de 1940,

caracteriza o quadro prodrômico por alterações da percepção sensorial, pensamentos idiossincráticos e um vago sentimento de estranheza (“humor delirante”), mas que não chegariam a configurar ainda um quadro psicótico, cuja manifestação plena ocorrerá posteriormente (LOUZÃ; ELKIS, 2007).

O interesse na fase prodrômica da esquizofrenia tem aumentado cada vez mais. Estudos com pacientes esquizofrênicos sugeriram que quanto mais cedo forem administrados os antipsicóticos mais eficaz o tratamento será. Tal fato levou a suposição de que se a medicação fosse iniciada antes do início do primeiro surto o prognóstico do transtorno seria melhor. Baseado nesses achados, pesquisadores começaram a usar a fase prodrômica como o ponto ideal para iniciar a intervenção farmacológica (CORNBLATT *et al.*, 2002).

O desafio é, portanto, desenvolver critérios que são capazes de detectar pessoas com uma alta probabilidade de desenvolver a psicose, ou seja, maximizar os “verdadeiros positivos” e minimizar os “falsos positivos” (YUNG; NELSON, 2011). Uma estratégia para atingir esse objetivo tem sido o desenvolvimento dos critérios para pacientes *Ultra High Risk*. Estes critérios combinam vários fatores de risco, com o intuito de determinar o nível de risco no grupo selecionado, um deles é o fator de risco da idade (adolescência e idade adulta jovem), já que esta é a faixa etária de maior incidência de psicose, combinada com fatores de risco clínicos, tais como declínio funcional e sintomas prodrômicos (BELL, 1992; HAFNER *et al.*, 1993). Outro desafio é encontrar drogas seguras para o uso nessa fase, sem tantos efeitos colaterais quanto os antipsicóticos (YUNG; NELSON, 2011).

1.2 Etiologia

A etiologia da esquizofrenia pode ser dividida em três dimensões categóricas que compõem o modelo ' biopsicossocial': biológica, psicológica e social (TSOI *et al.*, 2008). O fator genético é considerado um dos fatores biológicos, já que o risco de desenvolvimento de esquizofrenia na população em geral é de cerca de 1%, porém estudos familiares mostraram que parentes de primeiro-grau de indivíduos com esquizofrenia têm 2-9% de riscos de desenvolverem a doença quando comparados com parentes controles. Estudos com gêmeos reportaram que gêmeos monozigóticos têm

uma maior probabilidade de desenvolver a esquizofrenia do que gêmeos dizigóticos (41–79% e 0–17%, respectivamente) (SHIH *et al.*, 2004).

Alguns estudos tentaram demonstrar a relação existente entre o acometimento de quadros infecciosos no período gestacional ou complicações obstétricas e o desenvolvimento da esquizofrenia, visto que muitas evidências sugerem que este transtorno mental é de origem neurodesenvolvimental e que, portanto, processos patológicos que ocorram durante o desenvolvimento cerebral do feto podem desencadear manifestações clínicas da doença tardiamente (ZUCKERMAN; WEINER, 2005; PRASAD; KESHAVAN, 2008). Evidências epidemiológicas mostram o aumento do risco da esquizofrenia depois da exposição pré-natal a agentes infecciosos com vários patógenos, que incluem: influenza (MASI *et al.*, 2003; SCHOTTE *et al.*, 1996; BROWN *et al.*, 2011), rubéola (ARNT; SKARSFELDT, 1998), toxoplasma gondii (JANSSEN *et al.*, 1998), sarampo (PAXINOS; WATSON, 1998) e herpes simples (WOLF *et al.*, 2002).

Um dos modelos animais mais populares e amplamente utilizados hoje em dia para mimetizar a infecção viral materna é a administração de Poly I:C (“polyriboinosinic-polyribocytidylic acid”), um análogo sintético do RNA *double-stranded* (dsRNA) com um padrão molecular reconhecível como estranho pelo sistema imune dos mamíferos (JACOBS; LANGLAND, 1996 ; ALEXOPOULOU *et al.*, 2001). As reações imunológicas do hospedeiro materno induzidas por Poly I:C são limitadas pelo tempo, variando de 24 a 48 horas, dependendo a dose exata utilizada, permitindo assim que o experimentador precise o tempo de resposta imune materna segundo estágios específicos de o desenvolvimento fetal. Tais investigações experimentais parecem altamente relevantes para abordar alguns dos debates em curso, como, por exemplo, se a associação entre infecção materna pré-natal e o maior risco de esquizofrenia é dependente do tempo de infecção pré-natal preciso (MEYER *et al.*, 2007; CUNNINGHAM *et al.*, 2007).

Por exemplo, a infecção pelo vírus influenza H1N1 durante o primeiro trimestre de gravidez tem sido associada com a esquizofrenia (BROWN *et al.*, 2004). Estudos mostraram que filhotes de ratos expostos a vírus ou ao Poly I:C no 9º dia de gestação tiveram um déficit na Inibição Pré-pulso, na resposta de sobressalto, no comportamento exploratório e na interação social (SHI *et al.*, 2003). Já Bitanhirwe e colaboradores (2010) observaram mudanças como déficit social, dificuldade de

aprendizagem, deficiências locomotoras, anedonia e comportamento estereotipado em filhotes de ratas que receberam a injeção de Poly I:C no final da gestação.

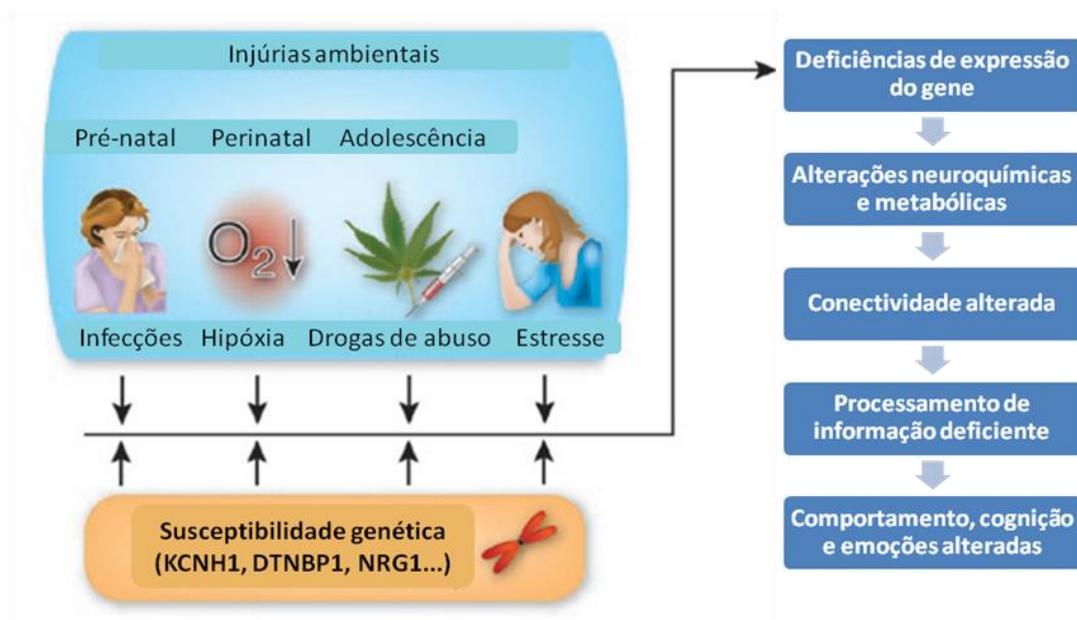


Fig 1- Fatores biológicos, psicológicos e sociais e sua influência na alteração do comportamento, cognição e emoções do indivíduo (Horváth; Mirmics, 2009).

Dentre os fatores psicológicos estão o prejuízo cognitivo, fatores de personalidade e o estresse psicológico (TSOI *et al.*, 2008). Entre os fatores sociais há um interesse particular no consumo de *cannabis* e a esquizofrenia. Antigamente, acreditava-se que a maconha poderia causar uma psicose induzida por drogas ou precipitar esquizofrenia em indivíduos predispostos. Foi relatado que o consumo de *cannabis* na adolescência pode aumentar o risco de esquizofrenia na vida adulta, especialmente em indivíduos geneticamente vulneráveis. No entanto, evidências epidemiológicas sugerem que a *cannabis* pode ser um fator de risco independente para o desenvolvimento da esquizofrenia (DI FORTI *et al.*, 2007).

Pacientes com esquizofrenia tendem a fumar mais em comparação com a população em geral e com pacientes com outros transtornos mentais (JIANG *et al.*, 2013). A razão para esse fato não foi totalmente elucidada, porém acredita-se que o tabaco pode reduzir os efeitos colaterais dos antipsicóticos (WINTERER, 2010; SALOKANGAS *et al.*, 2000). Outra hipótese seria que fumar pode aliviar os sintomas negativos, melhorando o déficit no filtro sensorio motor e aumentando os níveis de dopamina no cérebro (POTTER *et al.*, 2006; LOHR; FLYNN, 1992). Esse alto padrão

de tabagismo pelos esquizofrênicos contribui para uma redução de 20% da expectativa de vida dos mesmos (HENNEKENS *et al.*, 2005).

1.3 Fisiopatologia da Esquizofrenia

A descrição mais conhecida e antiga de associação entre fatores neuroquímicos e a manifestação clínica da esquizofrenia é a "hipótese da dopamina". Essa hipótese surgiu para justificar o fato de que o efeito terapêutico das drogas antipsicóticas se dá através do bloqueio de receptores dopaminérgicos tipo D2 (KAPUR; SEEMAN, 2001), além do fato de que a dopamina liberada no sistema nervoso central após intoxicação com estimulantes como anfetaminas, pode causar sintomas psicóticos que se assemelham à esquizofrenia (TSOI *et al.*, 2008).

Acredita-se que os sintomas positivos da esquizofrenia ocorrem como resultado de hiperfunção dopaminérgica no estriado (sistema límbico) (ABI-DARGHAM; MOORE, 2003), enquanto que os sintomas negativos e déficits cognitivos podem surgir de insuficiência de dopamina pré-frontal causada por uma hipofunção glutamatérgica (ANDREASEN, 1999; KNABLE; WEINBERGER, 1997). 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 (PIETRASZEK, 2003).

O sistema dopaminérgico de pacientes esquizofrênicos é hiperresponsivo, de acordo com um estudo realizado por Abi-Darghan *et al.* (1998) que mostrou que a liberação de dopamina foi mais intensa nos pacientes que estavam na fase de exacerbação dos sintomas psicóticos, sugerindo que este fenômeno está diretamente implicado na ocorrência de sintomas psicóticos. Porém, esta hiperresponsividade é transitória, pois nas fases de remissão de sintomas psicóticos o sistema dopaminérgico se comporta como o dos voluntários saudáveis.

Entretanto, foi visto que este sistema não poderia explicar todo o espectro da esquizofrenia, pois o uso crônico de antipsicóticos era bastante efetivo para o tratamento dos sintomas positivos, mas não dos negativos, cognitivos e afetivos (que poderiam inclusive ser piorados por estas medicações em algumas situações) (MELTZER *et al.*, 2003; MEYER, 2007; NIKAM; AWASTHI, 2008).

A primeira hipótese sobre o envolvimento da serotonina (5-HT) na esquizofrenia foi promovida por Wooley e Shaw em 1954 e Gaddum (GREEN, 2008), baseado na atribuição dos efeitos da dietilamida do ácido lisérgico (LSD, que é estruturalmente relacionado com a 5-HT) e seus antagonistas dos receptores de 5-HT cerebral em esquizofrênicos. O LSD compete em uma alta potência com a serotonina por um local no sítio de ação do receptor serotoninérgico, resultando em psicose como sintoma (HEMMINGS; HEMMINGS, 1978). Estas observações levaram a hipótese da hiperfunção de serotonina na esquizofrenia. Assim, estudos encontraram níveis elevados de serotonina em plaquetas de esquizofrênicos (KAPLAN; SADOCK, 1995). Foi reportado também que os níveis de serotonina estão aumentados no putâmen, caudado, globo pálido e no córtex pré-frontal de esquizofrênicos (KAPLAN; SADOCK, 1995).

A principal evidência do papel da serotonina na esquizofrenia é o mecanismo de ação das drogas antipsicóticas atípicas, como a clozapina e risperidona. Estas drogas, que proporcionaram melhorias importantes em pacientes que eram resistentes a outros medicamentos, interessadamente, apresentam efeito antagonista dopaminérgico direto fraco (KAPLAN; SADOCK, 1995). Sugere-se, portanto, que o principal mecanismo de ação dos antipsicóticos atípicos no tratamento dos sintomas é algum outro que não seja o mecanismo de antagonismo da dopamina. Esse mecanismo é, provavelmente, o antagonismo da serotonina. Esta hipótese foi confirmada quando combinaram antipsicóticos típicos com um antagonista 5-HT₂ como ritanserina. Quando usados combinados resultaram em um substancial alívio dos sintomas negativos e efeitos colaterais motores de pacientes esquizofrênicos (KAPLAN; SADOCK, 1995).

Estudos revelam que o aumento dos níveis de serotonina no córtex pré-frontal resultará em níveis mais baixos de dopamina nesta área cerebral. Esta redução da dopamina, que está relacionada aos sintomas negativos da esquizofrenia, parece levar ao aumento dos níveis de dopamina em sistemas dopaminérgicos secundários, ou seja, em áreas cerebrais do sistema límbico, responsáveis, portanto, pelos sintomas positivos da esquizofrenia (KAPLAN; SADOCK, 1995).

A via glutamatérgica relacionada à esquizofrenia também parece ter papel modulatório sobre a neurotransmissão dopaminérgica (MOORE *et al.*, 1999). Sabe-se que o sistema glutamatérgico atua como um controlador cortical da liberação de monoaminas, seja por um estímulo positivo através de neurônios glutamatérgicos ou

através de neurônios GABAérgicos usados como “freio”, utilizando parcialmente vias de *feedback* do estriado e do tálamo (CARLSSON *et al.*, 2001). A hiperresponsividade dopaminérgica durante a fase de exacerbação da doença parece ser regulada por vias glutamatérgicas, já que antagonistas do receptor N-metil-D-aspartato (NMDA), no córtex pré-frontal (BERTOLINO *et al.*, 1999; MEYER-LINDENBERG *et al.*, 2002) produzem aumento de liberação de dopamina (ADLER *et al.*, 1999; BREIER *et al.*, 1998).

Uma forte evidência do envolvimento do glutamato na esquizofrenia se deve ao fato de que a administração repetida (5 – 7 dias) de fenciclidina ou cetamina, antagonistas do receptor NMDA, induzem um quadro clínico semelhante à esquizofrenia com a manifestação de sintomas positivos, negativos e cognitivos, ao contrário da anfetamina, que só gera sintomas positivos (OLNEY; FARBER, 1995; KRYSTAL *et al.*, 1999). Baseado neste fato, os pesquisadores propuseram que a hipofunção dos receptores NMDA estaria envolvida na complexa fisiopatologia da esquizofrenia e que esse seria um modelo farmacológico mais convincente da doença do que o modelo de hiperfunção dopaminérgica (BRESSAN; PILOWSKY, 2003; KEGELES *et al.*, 2000). Uma visão geral da interação entre os três neurotransmissores, GABA, glutamato e dopamina na esquizofrenia pode ser vista na figura 2.

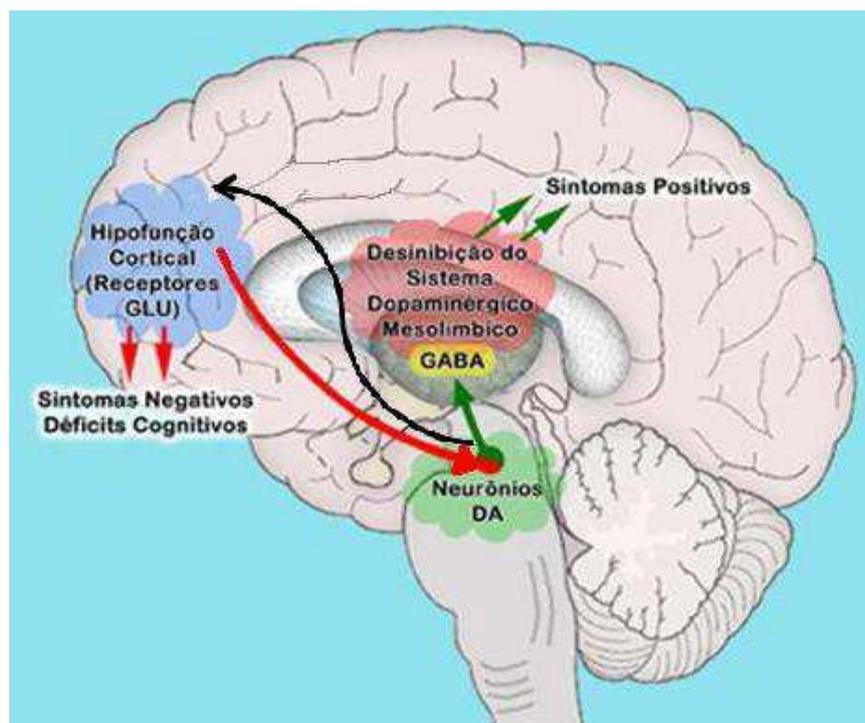


Fig. 2: Representação hipotética associando a hipofunção cortical (redução da atividade de receptores NMDA) e os sintomas da esquizofrenia. Modificado de GUIZZO, 2009.

A hipótese inflamatória surgiu através da crescente evidência de associações entre disfunção do sistema imunológico e o risco de esquizofrenia em alguns pacientes (KIRCH, 1993). De fato, infecções maternas pré-natais com uma variedade de agentes virais e bacterianos são um fator de risco replicado para esquizofrenia (BROWN; DERKITS, 2010). A correspondência desta evidência para roedores, ocorreu através de estudos em observaram-se mudanças no comportamento, neurocognição, morfologia cerebral e na função de neurotransmissor de filhotes de ratas grávidas que receberam injeções de um ácido ribonucleico de fita dupla sintético, poly I:C, que induz uma resposta inflamatória anti-viral, ou de lipopolissacarídeo (LPS), que imita a infecção bacteriana, mostrando, assim uma homologia dos sintomas da esquizofrenia nos filhos adultos. Estes resultados suportam a hipótese de que a inflamação pré-natal pode alterar o desenvolvimento do cérebro fetal, aumentando a vulnerabilidade da esquizofrenia (PATTERSON, 2009).

Marcadores pró-inflamatórios de ativação do sistema imunológico têm sido amplamente reconhecidos na esquizofrenia, com evidências de que pacientes esquizofrênicos podem possuir uma hiperatividade do sistema pró-inflamatório (KIM *et al.*, 2009), como evidenciado pelo aumento dos níveis de TNF- α , IL-6, IL-1 β e IL-1 no soro desses indivíduos (KIM *et al.*, 2009; LIU *et al.*, 2010; O'BRIEN *et al.*, 2008; WATANABE *et al.*, 2010).

O papel dos marcadores anti-inflamatórios e imunossupressores na esquizofrenia também foi analisado, mostrando que níveis reduzidos de IL-4 (uma citocina anti-inflamatória) foram encontrados em pacientes esquizofrênicos durante episódios agudos (O'BRIEN *et al.*, 2008). Curiosamente, IL-4 também foi mostrado ser um indutor da apoptose da micróglia (SORIA *et al.*, 2011).

A redução de citocinas anti-inflamatórias pode indicar uma incapacidade de limitação da resposta inflamatória nesses pacientes. No entanto, também foi encontrado um aumento nos níveis de citocinas anti-inflamatórias (IL-1RA, IL-2, IL-10, TGF- β) no soro de pacientes com esquizofrenia. Assim, enquanto a atividade anti-inflamatória é necessária para a prevenção dos efeitos potencialmente deletérios de marcadores pró-inflamatórios mais ativos, marcadores anti-inflamatórios excessivos podem induzir várias anormalidades fisiológicas e reduzir a resistência de um indivíduo a agentes infecciosos (MEYER, 2011).

Estudos que examinaram marcadores e proteínas reguladoras de apoptose em tecido cerebral *post-mortem* de esquizofrênicos indicaram uma disfunção de apoptose em diferentes regiões corticais na esquizofrenia, evidenciando um aumento na vulnerabilidade dos neurônios à apoptose (GERMAN *et al.*, 2004).

A ativação da microglia e os produtos neurotóxicos gerados por esta célula quando ativada são características comuns de distúrbios neurodegenerativos (GEHRMANN *et al.*, 1995). Dois estudos evidenciaram a ativação da microglia em cérebros *post-mortem* de pacientes com esquizofrenia, especialmente na região temporal (BAYER *et al.*, 1999; RADEWICZ *et al.*, 2000).

1.4 Tratamento farmacológico da esquizofrenia

Antes de 1950 não havia drogas para o tratamento da esquizofrenia. Desta forma, a terapia utilizada era feita por choque elétrico, terapia do coma insulínico e leucotomia pré-frontal (SWAYZE, 1995). A primeira droga a ser usada na prática clínica foi o antipsicótico típico clorpromazina (DELAY *et al.*, 1952).

Em 1964 a clorpromazina e outras drogas relacionadas da classe das fenotiazinas foram indicadas para o tratamento dos sintomas psicóticos da esquizofrenia. Os antipsicóticos típicos, os quais incluem fenotiazinas (iniciando com a clorpromazina), as butirofenonas (haloperidol), e as tioxantinas, são bastante efetivos na redução dos sintomas positivos (alucinações e delírios) em uma grande proporção de pacientes, entretanto, estes medicamentos têm efeitos mínimos contra sintomas negativos e cognitivos, além de causarem uma série de efeitos colaterais sobre o sistema extrapiramidal como a discinesia tardia (NASRALLAH; TANDON, 2009; WYATT *et al.*, 1988, TANDON *et al.*, 2009, 2010; JONES *et al.*, 2006).

O primeiro indício da ação celular das drogas antipsicóticas típicas surgiu da análise de seus efeitos colaterais. As drogas frequentemente produziam uma síndrome parkinsoniana, resultante da deficiência da dopamina. Desta forma foi descoberto que os agentes antipsicóticos bloqueavam receptores da dopamina e que esta transmissão dopaminérgica excessiva poderia ter importante ação na patogênese da esquizofrenia (SEEMAN, 1987).

A clozapina, o primeiro antipsicótico atípico, foi introduzido na prática clínica no final dos anos 60. Esta droga não causa efeitos extrapiramidais ou discinesia

tardia, no entanto, outro efeito adverso como, por exemplo, a agranulocitose limitou o uso da mesma (CRILLY, 2007).

O fato de os antipsicóticos atípicos terem sido elaborados para serem mais eficazes no tratamento de pacientes refratários e na diminuição do comportamento suicida, bem como para evitar os efeitos motores secundários a curto e longo prazo trouxe o otimismo de que melhores tratamentos antipsicóticos para a esquizofrenia fossem possíveis. Assim, foram desenvolvidos mais medicamentos da classe dos atípicos, como risperidona, olanzapina, quetiapina, ziprazidona e amisulpride (LIEBERMAN, 1996; TANDON *et al.*, 2010). No entanto, resultados de estudos em grande escala, comparando a eficácia das drogas típicas contra drogas atípicas na esquizofrenia parecem indicar que as drogas de atípicas não são mais eficazes do que as típicas e não estão associadas com melhores resultados cognitivos ou sociais (JONES *et al.*, 2006, KEEFE *et al.*, 2007, LIEBERMAN, 2007).

Com relação ao mecanismo de ação destas drogas, o receptor dopaminérgico D2 ainda representa o seu principal alvo de ação (GRAFF-GUERRERO *et al.*, 2009). As drogas típicas possuem preferência pelos receptores D2 em relação aos receptores D1, mas, apesar disso, os antipsicóticos também compartilham alta afinidade por outros receptores cerebrais (por exemplo, D1, 5-HT₂, muscarínicos, alfa adrenérgicos, etc) (RANG; DALE, 2007).

Novas drogas antipsicóticas, que não seguem o princípio farmacológico da dopamina e serotonina (BIEDERMANN; FLEISCHHACKER, 2011) são projetadas para agir em outros sistemas receptores (especialmente sistema glutamatérgico e colinérgico), como os agentes promissores LY-404039, um agonista seletivo do receptor metabotrópico do glutamato mGlu_{2/3} (PATIL, *et al.*, 2007) e AVE1625, um agonista do receptor canabinóide-1 (BLACK, *et al.*, 2011).

Cerca de 30% dos pacientes são considerados resistentes ao tratamento e continuam apresentando sintomas da esquizofrenia, embora façam uso de drogas antipsicóticas (MORENO; GONZÁLEZ-MAESO, 2013). Apesar de existir um enorme ônus social e econômico, pouco se tem progredido no desenvolvimento de novos antipsicóticos com efeito combinado englobando os sintomas positivos, negativos e cognitivos (BUCKLEY *et al.*, 2007). Isto, em parte, é atribuído à falta de modelos animais apropriados que possam simular os sintomas de comportamento associados com transtorno da esquizofrenia (CHATTERJEE *et al.*, 2012, YEE *et al.*, 2013).

1.5 A cetamina como modelo animal para esquizofrenia

Um modelo animal amplamente utilizado na esquizofrenia envolve a administração repetida ou aguda de cetamina (BECKER *et al.*, 2004, BUBENIKOVA-VALESOVA *et al.*, 2008). Essa droga tem sido usada clinicamente como um anestésico dissociativo que atua com múltiplos mecanismos de ação, incluindo o antagonismo não-competitivo do receptor NMDA do glutamato e como agonista do receptor de dopamina D2 com uma afinidade ligeiramente menor pelos receptores 5-HT2 (KAPUR *et al.*, 2002). É sabido que os antagonistas NMDA produzem um estado transiente de esquizofrenia em humanos (KRYSTAL *et al.*, 2003) e estudos mostraram que estas drogas foram capazes de produzir hiperlocomoção, comportamento estereotipado aumentado, déficits cognitivos e no filtro sensorio-motor, além de perturbações na interação social em roedores (SAMS-DODD, 1998).

Além disso, devido ao bloqueio do influxo de Ca^{2+} , os antagonistas do receptor NMDA promovem uma diminuição dos níveis de óxido nítrico neuronal (ALAGARSAMY *et al.*, 1994; NODA *et al.*, 1996; OSAWA; DAVILA, 1993). Em roedores, o bloqueio repetido do receptor NMDA induz déficits de inibição pré-pulso (IPP) (JENTSCH *et al.*, 1999, KAMIYAMA *et al.*, 2011), de memória e dificuldades de interação social (BECKER *et al.*, 2004, CHINDO *et al.*, 2012, DUAN *et al.*, 2013) que se assemelham a sintomas positivos, negativos e cognitivos da esquizofrenia em humanos (JAVITT *et al.*, 2012).

A cetamina também foi usada para restabelecer psicoses individuais em pacientes esquizofrênicos (LAHTI *et al.*, 1995a,b). Em linha com esta evidência foi demonstrado que a cetamina é capaz de agravar sintomas negativos em alguns pacientes com esquizofrenia e aumentar o comprometimento cognitivo (LI *et al.*, 2003). Estudos sugerem que a fenciclidina (outro antagonista NMDA) e a cetamina exacerbam sintomas psicóticos em pacientes esquizofrênicos e induzem sintomas positivos e negativos semelhantes a este transtorno em indivíduos saudáveis (ADLER *et al.*, 1999).

Entre os antagonistas de NMDA, a cetamina tem recebido atenção em uma série de trabalhos na literatura científica (MIYAMOTO *et al.*, 2001; BECKER *et al.*, 2003; DUNCAN *et al.*, 2000). Um deles relata que o tratamento subcrônico (1 vez por dia, durante 5 dias) com doses subanestésicas (30mg/kg) de cetamina induz alterações

relacionadas com a esquizofrenia em ratos, o que poderia ser um modelo animal útil no estudo desta doença (BECKER *et al.*, 2003).

A capacidade que estas drogas têm de induzir muitos, se não a maioria dos sintomas e déficits associados à esquizofrenia, sugere que a disfunção ou desregulação do receptor NMDA, por si só, é suficiente para explicar estas características da doença (KANTROWITZ; JAVITT, 2010).

Assim, a indução de sintomas tipo esquizofrenia através de antagonistas NMDA é considerado um modelo altamente válido, e, por isso, a cetamina vem sendo usada como agente na pesquisa para o desenvolvimento de novos antipsicóticos e para determinar a correlação neuroquímica da psicose (LEVKOVITZ *et al.*, 2007), já que o bloqueio de receptores NMDA interfere com a neurotransmissão dopaminérgica, a qual está envolvida com a esquizofrenia (VASCONCELOS *et al.*, 2005).

1.6 Testes comportamentais para o estudo da esquizofrenia

Um dos modelos comportamentais mais utilizados para a avaliação dos sintomas da esquizofrenia é o modelo da Inibição Pré-pulso (IPP) do sobressalto, que oferece uma medida operacional do filtro sensório-motor refletido pela capacidade de inibição de um reflexo de sobressalto, quando um estímulo sensorial é precedido por outro de menor intensidade (HOFFMAN; ISON, 1980). A habilidade de discriminar estímulos externos de relevância fisiológica ou cognitiva, fornecida pelo filtro sensório-motor, está comprometida em indivíduos com determinados transtornos psiquiátricos (SALUM *et al.*, 2008).

A IPP é uma forma de plasticidade do reflexo do sobressalto, caracterizada por uma redução normal no sobressalto em resposta a um estímulo auditivo intenso (pulso), quando este é precedido imediatamente (30-500 ms) por um estímulo mais fraco (pré-pulso) (BRAFF *et al.*, 1978).

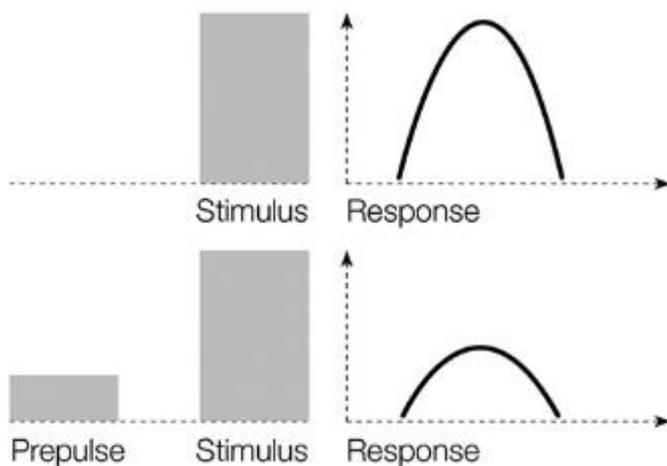


Fig. 3. Inibição de pré-pulso (IPP). É a diminuição da resposta de sobressalto quando o estímulo de sobressalto eliciador, o pulso, é precedido por um estímulo sensorial mais fraco, o pré-pulso (KOHL *et al.*, 2013).

Em resposta ao estímulo fraco a ativação de processos cerebrais é aumentada, o que impede a responsividade a eventos sensoriais posteriores durante uma rápida janela temporal. Este período protege a informação contida no estímulo inicial, para que seja adequadamente processado, durante o qual, somente estímulos suficientemente grandes serão capazes de ultrapassar este filtro protetor (SALUM *et al.*, 2008).

A inibição pré-pulso ocorre naturalmente em humanos e na maioria dos animais experimentais, mas é diminuída ou ausente em esquizofrênicos (MANSBACH *et al.*, 1988). Existem numerosos trabalhos mostrando os déficits da IPP em pacientes esquizofrênicos não medicados (BRAFF *et al.*, 2001; SWERDLOW *et al.*, 2008; MOLINA *et al.*, 2011), além de pacientes com transtornos psiquiátricos, como mania psicótica aguda no transtorno bipolar (PERRY *et al.*, 2001) e transtorno de déficit de atenção e hiperatividade (HAWK *et al.*, 2003).

Um estudo realizado mostrou que a diminuição da IPP em camundongos Swiss provocada pelo metilfenidato foi bloqueada pelos antagonistas dopaminérgicos haloperidol e clozapina (ISSY *et al.*, 2009). Outra pesquisa indicou que antipsicóticos típico (haloperidol) e atípico (clozapina) foram capazes de aumentar as respostas de IPP de ratos que naturalmente apresentam baixos níveis de IPP. A olanzapina e risperidona efetivamente melhoraram a IPP em pacientes esquizofrênicos (WYNN *et al.*, 2007; MARTINEZ-GRAS *et al.*, 2009). Assim, a IPP tem sido sugerida como um útil endofenótipo em potencial para a esquizofrenia.

Além do teste de IPP, a hiperlocomoção farmacologicamente induzida é um importante indicador dos sintomas positivos associados à esquizofrenia (BUBENÍKOVÁ-VALESOVÁ *et al.*, 2008; VAN DEN BUUSE, 2010). Assim, o objetivo do teste de campo aberto é medir mudanças comportamentais quando os ratos são colocados em um novo ambiente como no meio de um espaço aberto. À medida que os animais sentem ansiedade, medo ou tem problemas de adaptação em um novo ambiente as atividades exploratórias tendem a aumentar (TSUCHIE *et al.*, 2013).

O labirinto em Y é um teste para medir a memória de trabalho espacial (memória de curto prazo) e é baseado na tendência inata de roedores de explorar novos ambientes (DELLU *et al.*, 2000). Na esquizofrenia, a disfunção cognitiva não é global e generalizada, mas sim específica e seletiva, incluindo problemas de atenção e percepção, resolução de problemas, memória de curto e longo prazo e em particular a memória de trabalho (BEGOU *et al.*, 2008). Dessa forma, o teste do labirinto em Y foi utilizado no presente estudo para verificar os sintomas cognitivos da esquizofrenia, mais especificamente na memória de trabalho.

Existem inúmeros comportamentos sociais que são relevantes para a esquizofrenia e muitos deles são utilizados para estabelecer testes comportamentais pré-clínicos de sintomas negativos em uma variedade de espécies, variando entre roedores e primatas não humanos. O modelo que é mais amplamente utilizado neste contexto é o de interação social (NEILL *et al.*, 2010).

O teste de interação social mede uma variedade de comportamentos exibidos por um sujeito (normalmente ratos) quando exposto a um sujeito estranho. Esse teste avalia as respostas sociais ou associativas do sujeito para o estranho. A resposta é quantificada de forma diferente dependendo do grupo de pesquisa (NEILL *et al.*, 2010).

Entretanto, há uma razão para o uso extensivo desse teste para imitar os sintomas negativos da esquizofrenia em animais. Em primeiro lugar, a mensuração de interação social em animais é relativamente simples em comparação com outros sintomas negativos, como embotamento afetivo ou apatia. Esses sintomas são difíceis de mimetizar e até mesmo de identificar em animais, já que a falta de resposta à emoção evocada por estímulos em animais pode ser completamente independente da falta de emoção. Em segundo lugar, diferente de muitas tentativas frustradas de modelar os aspectos mencionados anteriormente dos sintomas negativos, vários grupos foram

capazes de mostrar com sucesso a inibição da interação social, induzida por antagonistas do receptor NMDA em animais (BECKER; GRECKSCH, 2004; BRUINS SLOT *et al.*, 2005; ELLENBROEK; COOLS, 2000; SAMS-DODD, 1999; SNIGDHA; NEILL, 2008a,b).

1.7 Minociclina e seu papel neuroprotetor

Minociclina é uma tetraciclina de segunda geração que possui efeitos neuroprotetores (GARRIDO-MESA *et al.*, 2013) como avaliado em varias condições neurodegenerativas como doença de Parkinson (DU *et al.*, 2001), Huntington (CHEN *et al.*, 2000), Alzheimer (CHOI *et al.*, 2007) e isquemia cerebral (YRJANHEIKKI *et al.*, 1998).

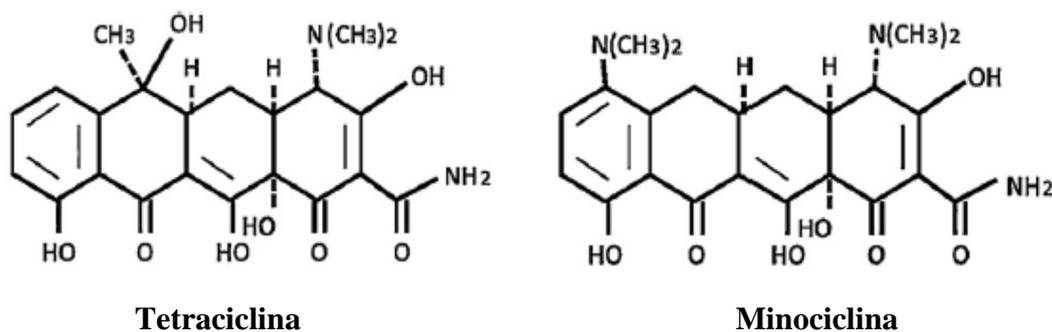


Fig. 4: Estrutura química da tetraciclina e da minociclina (GARRIDO-MESA *et al.*, 2013).

Nas últimas décadas, baseados nas propriedades neuroprotetoras da minociclina, os possíveis benefícios dessa droga para o tratamento de transtornos mentais (DEAN *et al.*, 2012), principalmente depressão e esquizofrenia, foram hipotetizados (ZHANG *et al.*, 2007). O efeito neuroprotetor dessa substância parece residir de sua propriedade anti-inflamatória, antioxidante e antiapoptótica (KRAUS *et al.*, 2005, GARRIDO-MESA *et al.*, 2013).

Os efeitos neuroprotetores da minociclina também podem ocorrer pela inibição da ativação e proliferação da microglia (YRJANHEIKKI *et al.*, 1998; TIKKA *et al.*, 2001; DOMERCQ; MATUTE, 2004; YONG *et al.*, 2004). Microglia são células apresentadoras de antígenos no cérebro. Quando ativadas por danos como inflamação ou doença, estas células imunes podem migrar para os locais da lesão (STREIT *et al.*, 2004). Assim, a ativação da microglia, uma característica comum da maioria das doenças neurodegenerativas, leva à liberação de mediadores pró-inflamatórios e outros

fatores de resposta à lesão, o que acaba por comprometer a viabilidade neuronal (DOMERCQ; MATUTE, 2004). O tratamento com minociclina em ratos se mostrou muito efetivo inibindo a ativação da micróglia e a expressão de citocinas pró-inflamatórias como IL-1 e TNF- α (TOMA'S-CAMARDIEL *et al.*, 2004).

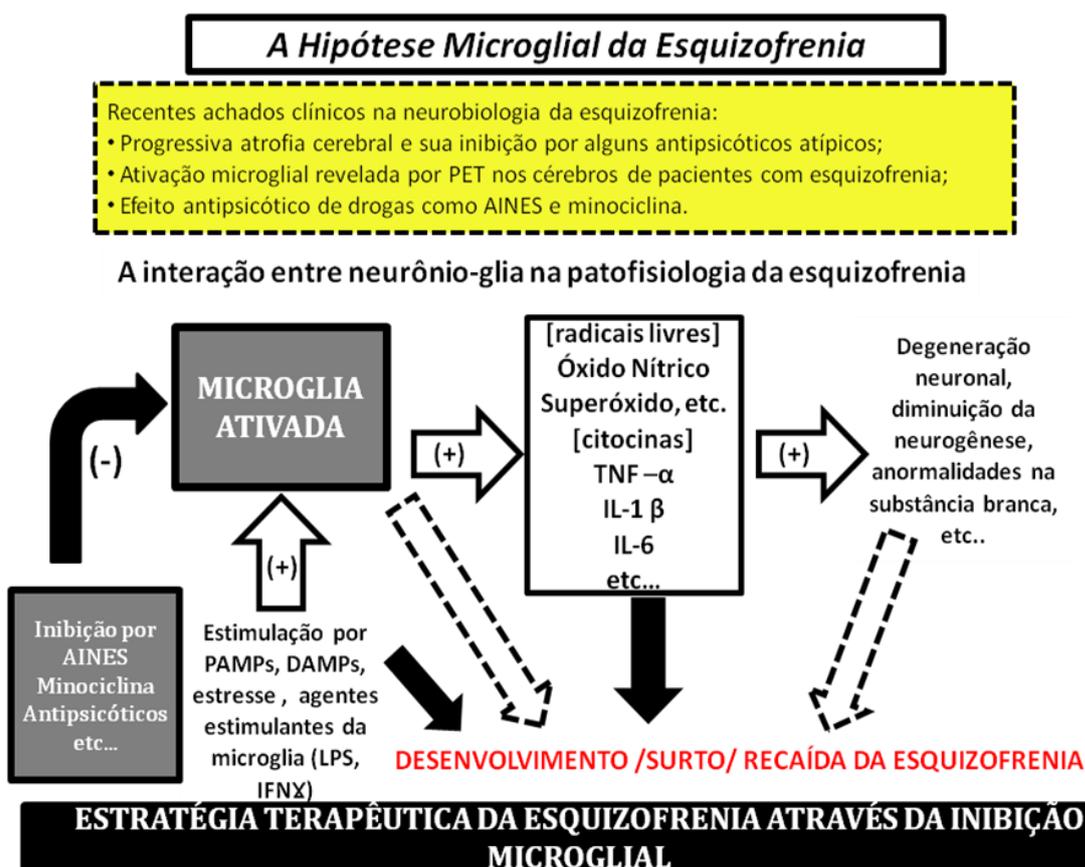


Fig 5: A hipótese microglial da esquizofrenia. Ativadores imunológicos/ inflamatórios, tais como o interferon IFN- γ e lipopolissacarídeo (LPS), que são induzidos por uma variedade de fatores de estressores e outros eventos durante a vida, ativam a microglia no sistema nervoso central, que ativa citocinas pró-inflamatórias e radicais livres. Esses mediadores são conhecidos por causar degeneração neuronal, anormalidades da substância branca e diminuição da neurogênese. Estas interações neurônio-microglia, portanto, podem ser um dos fatores importantes na fisiopatologia da esquizofrenia. IL, interleucina; TNF, fator de necrose tumoral, PAMPs, padrões moleculares associados a patógenos, DAMPs, padrões moleculares associados a danos (Modificado de MONJI *et al.*, 2009).

A redução do óxido nítrico (NO) parece ser um efeito comum da inibição da ativação da microglia. Este pode ser um fator importante na redução da inflamação pela minociclina (ZEMKE; MAJID, 2004). Como exemplo, podemos citar o fato da minociclina diminuir a liberação de citocinas inflamatórias da microglia estimulada por lipopolissacarídeos (KREMLEV *et al.*, 2004).

Atualmente, baseado em estudos clínicos, a literatura científica aponta para um possível benefício de minociclina no tratamento dos sintomas negativos e cognitivos

da esquizofrenia como terapia de complemento na fase inicial da esquizofrenia. (LEV KOVITZ *et al.*, 2010, CHAUDHRY *et al.*, 2012, MIYAMOTO *et al.*, 2013). No entanto, ainda existe um déficit de estudos sobre os mecanismos de ação da minociclina no tratamento de esquizofrenia de fontes pré-clínicas (GARRIDO-MESA *et al.*, 2013).

1.8 Estresse oxidativo e esquizofrenia

O estresse oxidativo refere-se a um desequilíbrio entre a formação de oxidantes celulares e os processos antioxidantes e ocorre quando a produção de espécies reativas de oxigênio (ou radicais livres) aumenta além dos mecanismos de proteção antioxidante fisiológicos. Ele desempenha um papel importante na injúria neuronal e na fisiopatologia da esquizofrenia (BITANIHIRWE; WOO, 2011; BOŠKOVIĆ *et al.*, 2011; CIOBICA *et al.*, 2011; O'DONNELL, 2012; SULLIVAN; O'DONNELL, 2012, WU *et al.*, 2013; YAO; KESHAVAN, 2011).

Estudos realizados com pacientes esquizofrênicos mostraram um aumento nos níveis de malondialdeído (MDA) no soro e de óxido nítrico no plasma, enquanto a atividade da superóxido dismutase (SOD) foi diminuída (DAKHALE *et al.*, 2005 e LI *et al.*, 2006). Gawryluk e colaboradores (2011) relataram níveis reduzidos de glutathiona reduzida (GSH) no córtex pré-frontal *post-mortem* de pacientes com esquizofrenia. Baixos níveis de GSH e um desequilíbrio no complexo de enzimas antioxidantes no cérebro de ratos tratados perinatalmente com fenciclidina (PCP), que representa um dos modelos animais atuais da esquizofrenia, também foram demonstrados (RADONJIĆ *et al.*, 2010 e STOJKOVIĆ *et al.*, 2012).

Um aspecto notável do NO com considerável relevância biológica é a sua aparência como radical livre, devido a seus elétrons desemparelhados (-NO). A citotoxicidade mediada por -NO em altas concentrações é devida, pelo menos em parte, a conjugação do radical -NO com superóxido, gerando peroxinitrito (ONOO-) (BERNSTEIN *et al.*, 2005). O peroxinitrito reage com uma grande variedade de moléculas biológicas, tais como antioxidantes celulares (glutathiona e ascorbato) podendo iniciar a peroxidação lipídica, danos a proteínas, aminoácidos e ácidos nucleicos. Isso pode levar à inibição da enzima e auto-oxidação do neurotransmissor dopamina (DRAPIER; HIBBS, 1988; ANTUNES *et al.*, 2005). Além disso, ONOO- representa, no pH fisiológico, um oxidante forte (BECKMAN; KOPPENOL, 1996;

NOACK *et al.*, 1999), porém decai rapidamente para formar o metabólito estável nitrato (TOHGI *et al.*, 1998).

O nitrito é frequentemente usado como marcador do NO (FLATOW *et al.*, 2013), pois em solução aquosa, o NO reage com o oxigênio molecular e se acumula no plasma/soro como os íons nitrito (NO^{-2}) e nitrato (NO^{-3}) (KOLTUKSUZ *et al.*, 2000). Uma revisão sistemática e quantitativa de marcadores de estresse oxidativo encontrou um aumento significativo nos níveis de espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) e NO em pacientes com esquizofrenia em comparação com pacientes controles (ZHANG *et al.*, 2010).

Na tentativa de compreender a estreita relação entre o estresse oxidativo e a lesão neuronal induzida no modelo de crônico, medimos os níveis de TBARS, GSH e Nitrito nos homogenatos de diferentes regiões cerebrais dos camundongos tratados com cetamina.

2. JUSTIFICATIVA

O efeito insuficiente da farmacoterapia atual sobre os sintomas negativos e déficits cognitivos reflete nossa má compreensão da etiologia da esquizofrenia (AGID, *et al.*, 2008; LEUCHT, *et al.*, 2009; TANDON, *et al.*, 2008). Assim, o uso de modelos animais dessa síndrome através dos quais estes sintomas possam ser acessados é importante para se esclarecer sua fisiopatologia e facilitar o desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas. Com este intuito resolvemos utilizar o modelo de esquizofrenia pela administração repetida de cetamina que é capaz de simular os diversos sintomas da esquizofrenia. Também foi feita uma pequena adaptação ao modelo convencional com o intuito de se acessar prevenção e reversão.

Devido ao crescente interesse da psiquiatria pela minociclina (DEAN *et al.*, 2012,;TORREY *et al.*, 2012), bem com à deficiência de estudos pré-clínicos com esta droga na esquizofrenia e seu potencial uso clínico nesse transtorno (MIYAMOTO *et al.*, 2013), há uma necessidade de maiores estudos a respeito das ações desta droga, já que o real mecanismo de sua ação antipsicótica não está estabelecido, bem como se a mesma teria efeitos como monoterapia.

Desta forma, pretendeu-se com a realização deste projeto contribuir para a determinação dos efeitos da minociclina nos diferentes sintomas da esquizofrenia, avaliando sua ação preventiva e terapêutica e com o intuito de determinar parte do possível mecanismo da sua ação antipsicótica, estudar as alterações oxidativas e nitrérgicas induzidas por esta droga, bem como os mecanismos envolvidos com a fisiopatologia da esquizofrenia.

3. OBJETIVOS

Gerais:

Determinar as alterações comportamentais de camundongos submetidos ao modelo de esquizofrenia pela administração repetida de cetamina, bem como verificar o possível efeito preventivo e terapêutico da minociclina nos sintomas tipo esquizofrenia. Além de avaliar as alterações oxidativas e nitrérgicas, com o intuito de contribuir para um maior conhecimento da fisiopatologia e tratamento da esquizofrenia.

Específicos:

- Observar as alterações comportamentais em animais submetidos ao modelo de esquizofrenia induzida pela administração repetida de cetamina utilizando os testes de:
 - ✓ Inibição pré-pulso e campo aberto (sintomas positivos);
 - ✓ Labirinto em Y (sintomas cognitivos);
 - ✓ Interação social (sintomas negativos);
- Verificar as possíveis ações preventivas e terapêuticas da minociclina no comportamento dos animais submetidos ao modelo de esquizofrenia induzida por cetamina;
- Observar as alterações no equilíbrio oxidativo induzidas por cetamina através dos seguintes testes realizados em córtex pré-frontal (CPF), hipocampo (HC) e corpo estriado (CE) dos animais:
 - ✓ Peroxidação lipídica (TBARS)
 - ✓ Glutathiona reduzida (GSH)
 - ✓ Nitrito (medida indireta dos níveis de óxido nítrico (NO))
- Determinar os possíveis efeitos da minociclina na prevenção e reversão do estresse oxidativo e alterações nitrérgicas.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Animais

Camundongos Swiss adultos (25 - 30g) machos, provenientes do Biotério Central da Universidade Federal do Ceará (UFC), foram alojados em gaiolas de polipropileno com 414 x 344 x 168 mm de dimensão, com alimentos (ração) e água (oriunda da torneira) *ad libitum*. Os animais foram mantidos a um ciclo claro/escuro de 12 h e ambientados em grupos de 30 por gaiola. O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa Animal (CEPA) da UFC através do protocolo nº 91/11 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.

4.2 Drogas

Os animais receberam injeções intraperitoneais (i.p.) de cloridrato de minociclina (Sigma-Aldrich, St. Louis, USA, MINO 25 ou 50 mg/kg) dissolvida em 2% de dimetilsulfóxido (DMSO). Cloridrato de Cetamina (König, Brazil, KET 20 mg/kg) foi diluído em água destilada. Risperidona (Risperdal® Jassen-Cilag, Brazil, RISP 0.5 mg/kg) foi dissolvida em água destilada. Grupos controles receberam DMSO 2%. Todas as soluções foram administradas em um volume de 0,1ml a cada 10g de peso corporal.

4.3 Procedimento Experimental

A Figura 6 representa o desenho experimental. No tratamento de prevenção simulamos a fase de manutenção da esquizofrenia, que, dentro de uma abordagem clínica, estaria relacionada a uma prevenção das recaídas (LEUCHT *et al.*, 2003). Para este fim, diferentes grupos de animais (n = 10-15) foram administrados com DMSO, minociclina (25 ou 50mg/kg, i.p.) ou risperidona 0,5 mg/kg, i.p., durante 14 dias uma vez por dia.

Entre o 8º e o 14º dia, estes animais receberam, além das drogas supracitadas, uma dose de cetamina 20mg/kg, i.p. ou DMSO diariamente, 30 min depois. No modelo de reversão, buscou-se a reproduzir os sintomas de esquizofrenia

aguda (HATTA *et al.*, 2009). Resumidamente, cada grupo (n = 10-15) recebeu uma injeção de i.p. diária de cetamina 20 mg/kg ou DMSO por 14 dias. Do 8º dia do tratamento em diante, estes animais receberam adicionalmente administração i.p. de DMSO, minociclina (25 ou 50 mg/kg) ou risperidona 0,5 mg/kg uma vez por dia, com intervalo de 30 min entre os tratamentos.

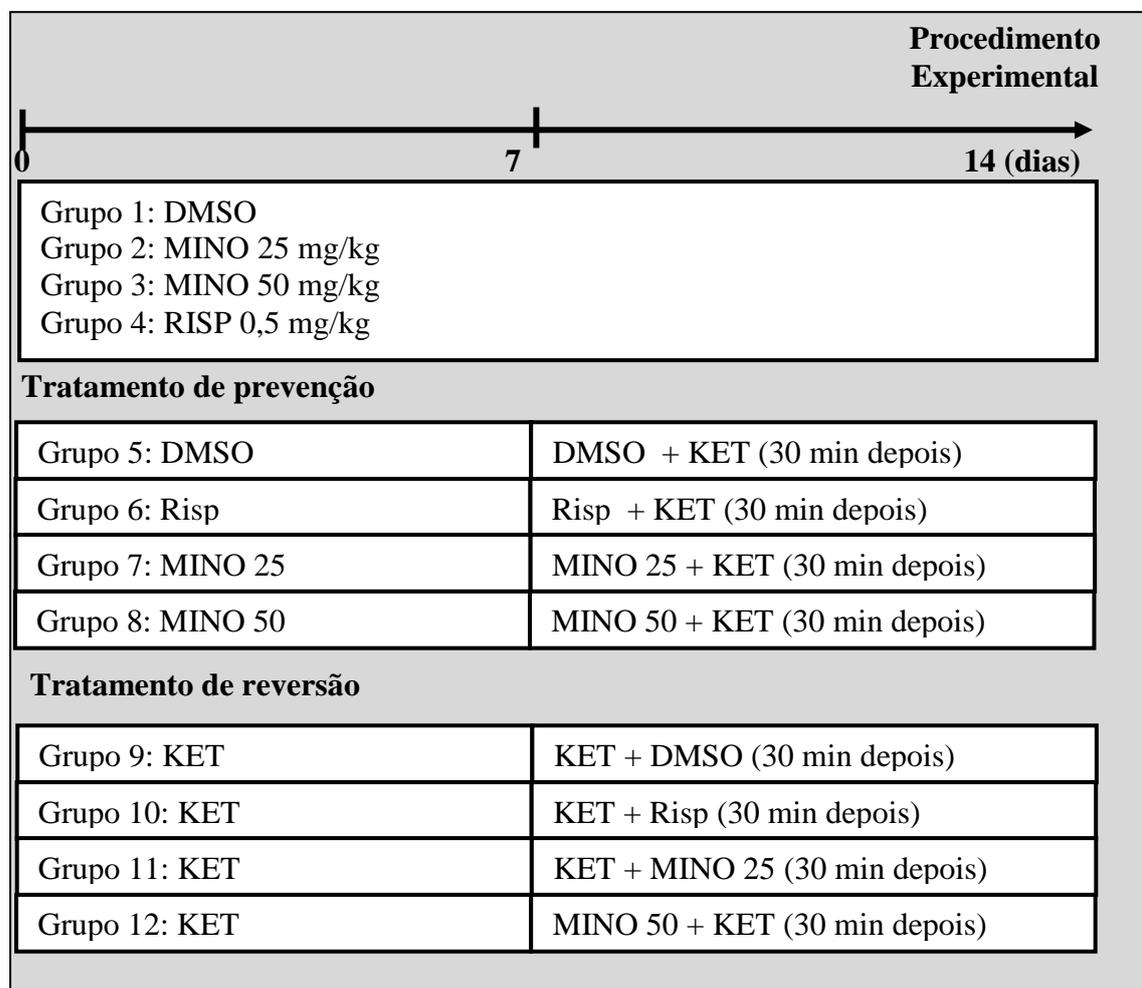


Fig.6. Representação esquemática do protocolo experimental. MINO: minociclina, RISP: risperidona, KET: cetamina.

Risperidona foi usada como antipsicótico padrão já que o modelo de esquizofrenia induzida por cetamina é mais sensível a antipsicóticos atípicos (BECKER *et al.*, 2004) e também porque esta droga foi superior aos outros antipsicóticos atípicos para o tratamento agudo da psicose (HATTA *et al.*, 2009).

Determinações comportamentais de IPP, atividade locomotora (avaliada pelo teste de campo aberto), memória de trabalho (avaliada pelo teste do labirinto em Y) e interação social registraram-se no 14º dia de tratamento, 30 min após a administração

da última droga, aproximadamente das 13:00h às 17:00h. Seguindo as determinações comportamentais, os camundongos foram sacrificados por decapitação e o CPF, HC e CE foram dissecados, rapidamente congelado e armazenado em -70°C até o ensaio.

4.4 Testes Comportamentais

Inibição Pré-pulso (IPP)

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) (HOFFMAN; ISON, 1980; SWERDLOW *et al.*, 2001). A reação corporal dos ratos 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 fechada ventilada.

Os camundongos foram colocados em um contensor ($4,5 \times 5,0 \times 5,5$ cm) consistido de 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 foram localizados dentro de uma câmara acústica ventilada ($64 \times 60 \times 40$ cm). Procedimentos de calibração foram realizados antes dos experimentos para garantir sensibilidades equivalentes das plataformas de resposta ao longo do período de teste.

A sessão de testes começou ao colocar um animal no contensor para a aclimação, este procedimento consistiu em uma exposição de 5 minutos ao ruído de fundo (65 dB). Após o período de aclimação os camundongos foram apresentados a uma série de 10 estímulos de treino (pulso sozinho - 120 dB, 50 ms de duração), com um ensaio de inter-intervalo de 20s. O objetivo desta fase foi permitir a habituação da resposta de sobressalto do animal. Posteriormente, a modulação 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).

Esperou-se que o grupo de animais tratados repetidamente com cetamina (controle positivo) apresentasse déficits de IPP neste teste comportamental e que os animais tratados com o antipsicótico padrão, risperidona, não apresentassem alterações neste parâmetro.



Fig. 7. Aparelho de Inibição pré-pulso

Teste de campo aberto

A atividade locomotora foi avaliada através do teste de campo aberto (ARCHER, 1973). Este teste foi realizado em um campo de 30 cm × 30 cm rodeado por paredes de 15 cm de altura feitas de acrílico. O chão preto do campo aberto foi dividido em nove partes iguais por linhas brancas. O aparelho foi colocado em uma sala com luz

vermelha. Os animais foram cuidadosamente colocados no centro do campo e foi permitido que eles explorassem livremente o cenário por 1 min (período de habituação). O parâmetro observado foi o número de quadrados cruzados (com as quatro patas) por um período de 5 minutos.

Teste do Labirinto em Y

A memória de trabalho foi avaliada por meio de um teste de Labirinto em Y, 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 foi 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 foi considerada correta se o animal visitou um novo braço e não retornou ao braço anteriormente visitado (exemplo de alternância correta: braços 1,2,3 ou 3,1,2). Assim, a porcentagem das alternâncias foi calculada como a razão entre as alternâncias corretas (n) e o número de visitas realizadas durante o período de observação ($n-2$), multiplicado por 100 (YAMADA *et al.*, 1996, DALL'IGNA *et al.*, 2007).



Fig. 8.: Labirinto em Y

Teste de Interação Social

O aparato do teste consiste em uma caixa de acrílico 60×40 cm dividida em três câmaras. Os animais foram capazes de mover-se entre as câmaras através de uma pequena abertura (6×6 cm) em divisores. Nas câmaras das extremidades havia uma gaiola de ferro, uma com um camundongo desconhecido e do mesmo sexo (câmara social) e outra vazia (câmara oposta). Os animais teste foram colocados na câmara

central, cada um teve um tempo de 5 min de exploração na caixa (RADYUSHKIN *et al.*, 2009). Foi medido o tempo gastado em cada uma das três câmaras, e a preferência social foi definida como: (% o tempo gastado na câmara social) – (% o tempo gastado na câmara oposta).

4.5 Determinação de parâmetros de estresse oxidativo

Determinação de Glutathiona Reduzida (GSH)

Os níveis de GSH foram avaliados para estimar defesas endógenas contra o estresse oxidativo. O método é baseado na reação de reagente de Ellman (DTNB), com grupos tiol livres. As áreas do cérebro foram diluídas em tampão de 0,02 M de EDTA (10% w / v) e adicionadas a uma solução de ácido tricloroacético a 50%. Após centrifugação (3000 rpm/15 min), o sobrenadante do homogeneizado foi recolhido e os níveis de GSH foram determinados (SEDLAK *et al.*, 1968). Resumidamente, as amostras foram misturadas com 0,4 M de tampão tris-HCl, pH 8,9 e 0,01 M de DTNB. Níveis de GSH foram determinados por espectrofotometria a 412 nm, calculada com base numa curva padrão de glutathiona e expressos como ng de GSH/g de tecido úmido.

Níveis de espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS)

A peroxidação lipídica será avaliada pela mensuração de substâncias tiobarbitúricas ácido-reativas (TBARS) nos homogenatos. As amostras foram homogenizadas com tampão fosfato de potássio monobásico 50 mM pH 7,4, 63µL do homogenato foi misturado a 100 µL de ácido perclórico 35%, sendo estas centrifugadas (7000 rpm/15 min), no qual 150 µL do sobrenadante foram recuperados e misturado com 50 µL de ácido tiobarbitúrico 1,2%, e em seguida, estas amostras foram aquecidas em um banho de água fervente por 30 min. Após o resfriamento, a peroxidação lipídica foi determinada por absorbância a 535 nm e foi expressa como mmol tecido malonaldeído (MDA) / mg de proteína (OHKAWA *et al.*, 1979).

Determinação dos níveis de Nitrito

Para avaliar os efeitos de tratamentos com as respectivas drogas na produção de NO, foram determinados níveis de nitrito em homogenatos dos cérebros dos

camundongos imediatamente após a decapitação em todos os grupos. Após centrifugação ($800 \times g/10 \text{ min}$), o sobrenadante do homogeneizado foi coletado e a produção não foi determinada com base na reação de Griess (GREEN *et al.*, 1981, RADENOVIC *et al.*, 2005). Para esse experimento 100 μL do reativo de Griess (sulfanilamida a 1% / cloridrato de N-(1-naftil)- etilenediamina 0.1% / ácido fosfórico a 5% / água destilada, na proporção de 1:1:1:1) será adicionado a 100 μL do sobrenadante do homogenato tecidual e incubado a temperatura ambiente por 10 min. A curva padrão será elaborada com varias concentrações de NaNO_2 (variando de 0,75 a 100 mM) sob as mesmas condições. Os brancos serão preparados pela adição de 100 μL do reativo de Griess a 100 μL do tampão usado para o homogenato e a absorbância será medida em leitor de microplacas em 560 nm.

5. ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise dos dados foi realizada através do software GraphPad Prism, versão 5.0 para Windows, GraphPad Software, San Diego Califórnia EUA Copyright (c) 1992 – 2007. Os resultados comportamentais de Inibição Pré-pulso foram analisados por two-way ANOVA seguido pelo teste de Bonferroni. Os resultados dos experimentos dos demais testes comportamentais e parâmetros do estresse oxidativo e avaliação nitrérgica foram analisados através de one-way ANOVA seguida pelo teste de Tukey como teste *post hoc* para comparações múltiplas, sendo previamente analisada a fidelidade dos dados. Valores significativos para as análises foram consideradas quando $p < 0,05$.

6. RESULTADOS

6.1 Minociclina é capaz de prevenir e reverter o déficit de IPP induzido por cetamina

O déficit de IPP é considerado como um endofenótipo para a esquizofrenia. No presente estudo, a análise dos dados de IPP por two way ANOVA revelou uma interação significativa entre "intensidades de pré-pulso" e "grupos experimentais" em ambos os protocolos de prevenção ($df = 14$, $F = 2.799$, $P = 0,0012$) e reversão ($df = 14$, $F = 5.13$, $P < 0,0001$) (Fig. 9A e B).

No protocolo de prevenção o teste de Bonferroni mostrou uma redução significativa nos níveis de IPP após a administração de cetamina nas intensidades de pré-pulso de 70 ($P < 0.001$), 75 ($P < 0.01$) e 80 dB ($P < 0.001$) em relação ao grupo de animais tratados com veículo. O pré-tratamento com minociclina 25, 50 mg/kg e risperidona foi capaz de prevenir significativamente o prejuízo na IPP causado pela cetamina nas intensidades de pré-pulso de 70 e 80 dB ($P < 0.001$). Na intensidade de pré-pulso de 75 dB este efeito foi observado apenas nos grupos tratados com minociclina 50 mg/kg e risperidona ($P < 0.001$) (Fig. 9A).

No protocolo de reversão (Fig. 9B) a administração de cetamina causou uma redução significativa dos níveis de IPP em todas as intensidades de pré-pulso avaliadas ($P < 0.001$) quando comparadas aos animais tratados com veículo. Assim como foi observado no protocolo de prevenção, a administração de ambas as doses de minociclina e risperidona foi capaz de reverter o déficit de IPP induzido por cetamina nas intensidades de pré-pulso de 75 e 80 dB ($P < 0.01$). Na intensidade de pré-pulso de 70 dB apenas risperidona conseguiu reverter o prejuízo na IPP provocado por cetamina ($P < 0.001$). A administração de minociclina (25 e 50 mg/kg) e risperidona sozinhas não causaram alterações nos níveis de IPP em nenhum dos protocolos estudados.

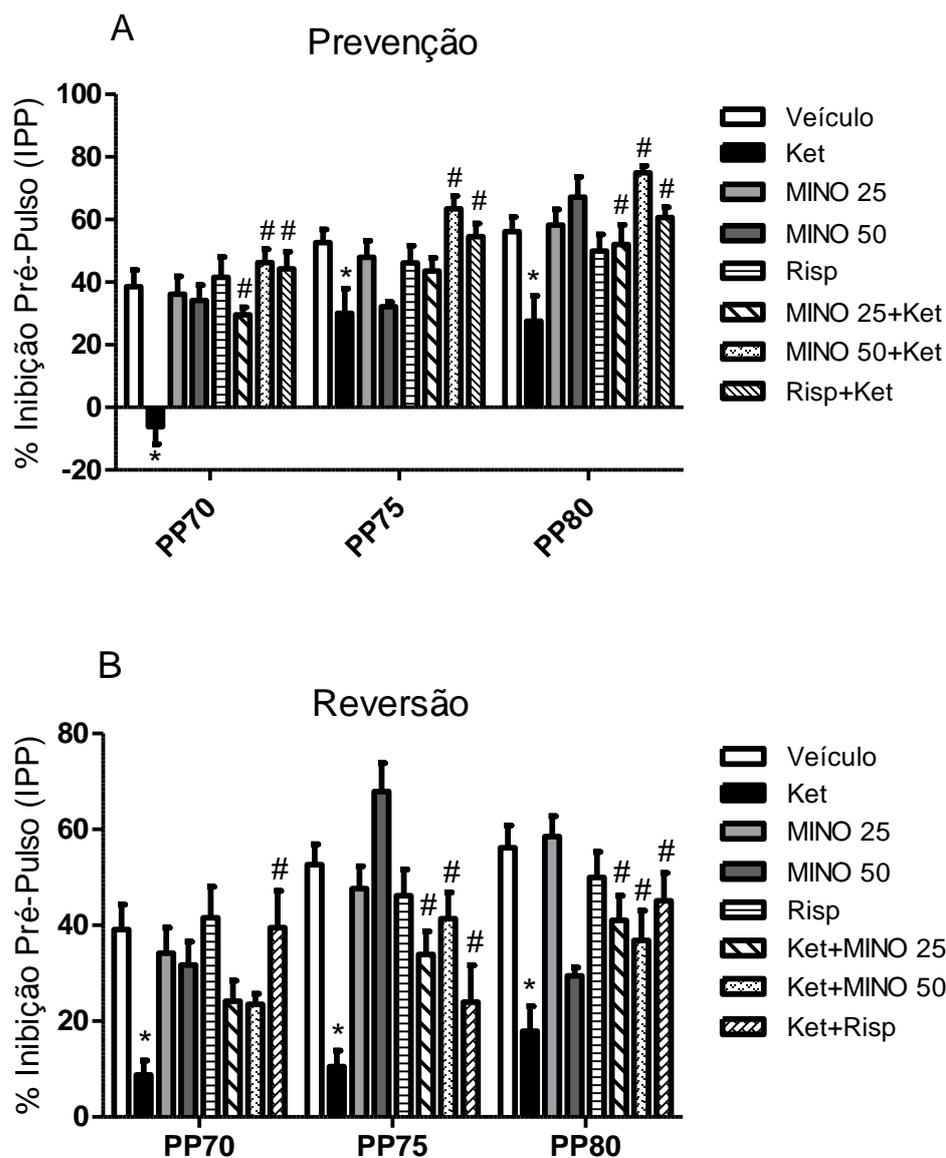


Fig.9. Efeito da minociclina na prevenção (A) e reversão (B) do déficit de IPP induzido pela administração repetida de cetamina em camundongos usando três diferentes intensidades de pré-pulso (70, 75 e 80 dB). Cada barra representa a média \pm erro padrão da média (n=10–15 por grupo) do percentual de IPP. * $p \leq 0.05$ quando comparado com o grupo veículo, # $p \leq 0.05$ quando comparado com grupo KET de acordo com two way ANOVA seguido pelo teste *post hoc* de Bonferroni.

6.2 Minociclina é capaz de prevenir e reverter a hiperlocomoção induzida por cetamina

A hiperlocomoção no teste do campo aberto pode ser relacionada aos sintomas positivos da esquizofrenia. Dessa forma, nos protocolos de prevenção (KET: $57,00 \pm 3,93$) (Fig 10A) e de reversão (KET: $67,29 \pm 7,68$) (Fig. 10B) a administração de cetamina aumentou significativamente o número de *crossings* no teste do campo aberto, quando comparados com os animais tratados com veículo (VEI: $22,5 \pm 1,2$). Em ambos os protocolos a administração de minociclina 25, 50 mg/kg e risperidona foi capaz de prevenir (MINO25+KET: $25,17 \pm 3,19$; MINO50+KET: $25,57 \pm 5,19$; RISP+KET: $2,0 \pm 1,15$) e reverter (KET+MINO25: $26,67 \pm 4,77$; KET+MINO50: $27,00 \pm 3,63$; KET+RISP: $10,67 \pm 4,18$) o aumento da atividade locomotora induzida por cetamina. Risperidona, quando administrada sozinha (RISP: $4,11 \pm 1,28$), causou uma significativa redução da atividade locomotora, quando comparada aos animais tratados com veículo no protocolo de prevenção, enquanto que a administração de minociclina sozinha não causou alterações em ambos os protocolos estudados.

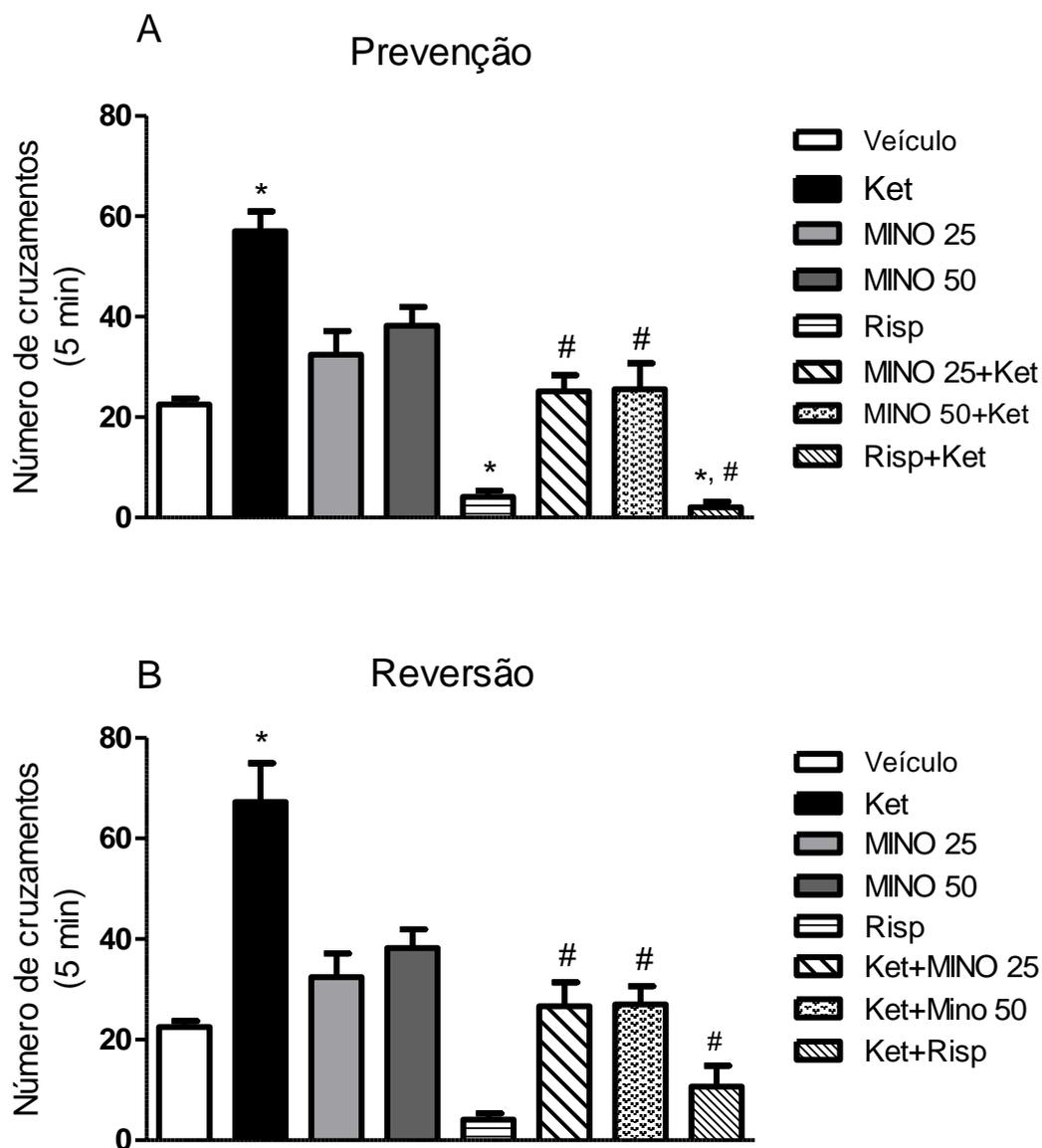


Fig. 10. Efeito da minociclina na prevenção (A) e reversão (B) da hiperlocomção induzida pela administração repetida de cetamina em camundongos. Cada barra representa a média \pm erro padrão da média ($n=10-15$ por grupo) do número de cruzamentos registrados em 5 min. $*p \leq 0.05$ quando comparado com o grupo veículo, $\#p \leq 0.05$ quando comparado com grupo veículo + KET (A) e quando comparado com o grupo KET (B) de acordo one-way ANOVA seguido pelo teste de *post hoc* Tukey.

6.3 Minociclina é capaz de prevenir e reverter as alterações na interação social e memória de trabalho induzidas por cetamina

Os sintomas negativos e cognitivos da esquizofrenia podem ser avaliados pela determinação da porcentagem de preferência social no teste de interação social e do desempenho no teste de memória de trabalho, respectivamente. Nossos dados mostraram que a administração de cetamina diminuiu significativamente o percentual de interação social nos protocolos de prevenção (KET: $-21,67 \pm 67,68$) e de reversão (KET: $-3,63 \pm 18,94$) quando comparados aos animais tratados com veículo (VEI: $240,5 \pm 18,94$).

No protocolo de prevenção, minociclina 50 mg/kg e risperidona (MINO50+KET: $261,2 \pm 17,93$; RISP+KET: $192,0 \pm 50,7$) foram capazes de impedir esta alteração trazendo este parâmetro para os níveis dos animais tratados apenas com o veículo. No protocolo de reversão minociclina 25, 50 mg/kg e risperidona (KET+MINO 25: $245,3 \pm 14,95$; KET+MINO 50: $217,00 \pm 14,86$; KET+RISP: $177,1 \pm 50,15$) foram capazes de reverter a diminuição da porcentagem de interação social induzida por cetamina (figs. 11A e C).

Na avaliação de desempenho da memória de trabalho (Fig. 11B e D), os animais tratados com cetamina no protocolo de prevenção (KET: $59,57 \pm 3,07$) e reversão (KET: $56,07 \pm 2,39$) tiveram seu percentual de alterações corretas no teste do labirinto Y significativamente diminuído em comparação aos animais tratados com veículo (VEI: $80,33 \pm 2,12$). A administração de minociclina 25 e 50 mg/kg impediu (MINO25+KET: $78,55 \pm 2,11$; MINO50+KET: $81,33 \pm 1,93$) e reverteu (KET+MINO25: $71,18 \pm 2,20$; KET+MINO50: $70,86 \pm 2,70$) significativamente as alterações causadas pela administração de cetamina. Risperidona, pelo contrário, diminuiu o percentual de alterações corretas em relação ao grupo tratado com veículo e ao grupo tratado com cetamina no protocolo de prevenção (RISP+KET: $30,60 \pm 10,30$), mas, foi capaz de reverter as alterações induzidas por cetamina no protocolo de reversão (KET+RISP: $72,71 \pm 7,52$). Minociclina (25 e 50 mg/kg) e risperidona quando administradas sozinhas não causaram nenhuma alteração na porcentagem de interação social e alterações corretas no labirinto em Y.

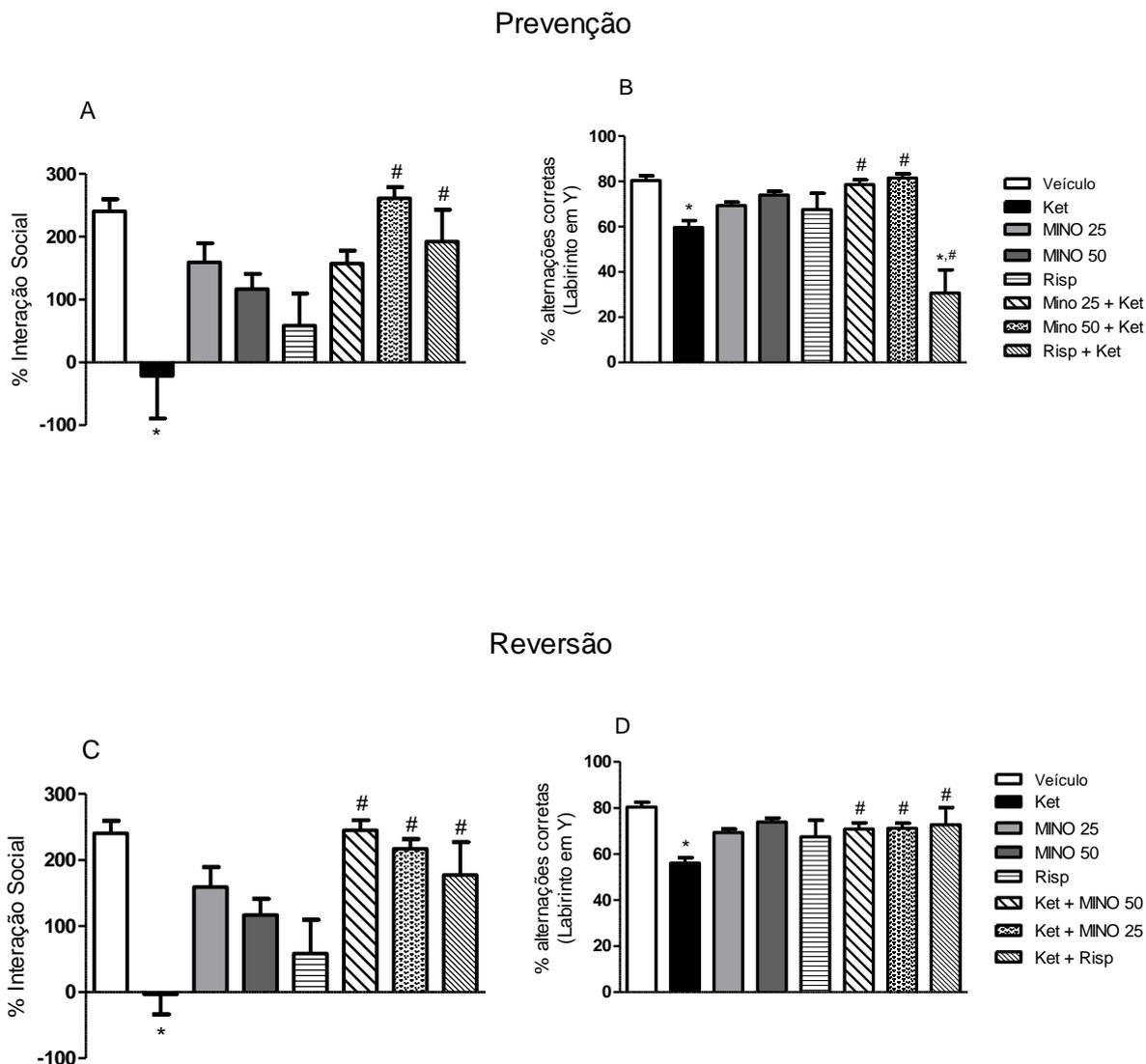


Fig. 11. Efeito da MINO na prevenção (A e B) e reversão (C e D) dos déficits de interação social e memória de trabalho induzidos pela administração repetida de cetamina. Cada barra representa a média \pm erro padrão da média (n=10–15 por grupo). * $p \leq 0.05$ quando comparado com o grupo veículo, # $p \leq 0.05$ quando comparado com grupo veículo + KET (A) e quando comparado com o grupo KET (B) de acordo one-way ANOVA seguido pelo teste de post hoc de Tukey.

6.4 Minociclina é capaz de prevenir e reverter as alterações pró-oxidativas e dos níveis de nitrito induzidas pela administração repetida de cetamina

A fim de determinar as alterações oxidativas induzidas pela administração de cetamina, os níveis de TBARS (usada para a determinação da peroxidação lipídica) e GSH das áreas cerebrais CPF, HC e CE de todos os animais submetidos ao protocolo de prevenção e reversão foram determinados, no caso do nitrito este foi utilizado como medida indireta dos níveis de óxido nítrico, conforme descrito na metodologia. No protocolo de prevenção mostrado na Tabela 1, a administração de cetamina diminuiu significativamente os níveis de GSH no CPF [$F(7,77)= 253.8$, $P < 0.001$] e CE [$F(7,62)= 243.1$, $P < 0.001$] em comparação com animais tratados com veículo. O pré-tratamento com minociclina em ambas as doses preveniu significativamente a diminuição nos níveis de GSH no CPF ($p < 0,01$) e CE ($p < 0,05$). Risperidona, por outro lado, quando administrada sozinha aumentou cerca de dez vezes os níveis de GSH no CPF e seis vezes no HC e CE quando comparados com os animais tratados com veículo. Observou-se quase o mesmo padrão de aumento no CPF ($P < 0,01$), HC ($P < 0,001$) e CE ($P < 0,001$) no grupo de animais pré-tratados com risperidona antes da cetamina. A administração de minociclina sozinha não causou alterações nos níveis de GSH nas áreas cerebrais usadas para avaliação. Também não houve alteração no HC de animais tratados com minociclina antes de cetamina.

Um aumento nos níveis de MDA (marcador da peroxidação lipídica) foi verificado após administração de cetamina em todas as áreas do cérebro estudadas quando comparadas ao grupo tratado com veículo (CPF [$F(7,94)= 23.94$, $P < 0.001$], HC [$F(7,92)= 29.74$, $P < 0.05$] e CE [$F(7,96)= 31.46$, $P < 0.001$]). O pré-tratamento com minociclina na maior dose preveniu as alterações induzidas por cetamina em todas as áreas estudadas ($p < 0,001$), enquanto que o pré-tratamento com minociclina 25mg/kg preveniu essa alteração apenas no CE ($p < 0,01$). O pré-tratamento com risperidona diminuiu significativamente os níveis de TBARS quando comparados aos grupos tratados com veículo e com cetamina em todas as áreas estudadas ($p < 0,001$). Em relação à administração de minociclina e risperidona sozinhas, minociclina, em ambas as doses utilizadas, não provocou alterações nos níveis de TBARS, enquanto risperidona diminuiu esse parâmetro no HC ($p < 0,001$) e CE ($p < 0,001$).

Ainda no protocolo de prevenção, os experimentos revelaram um aumento nos níveis de nitrito apenas no CE dos camundongos submetidos à administração com cetamina quando comparados àquele que receberam apenas veículo ($p < 0,01$). O pré-tratamento com minociclina 50mg/kg e risperidona antes de cetamina foi capaz de prevenir esse aumento ($P < 0,05$). Nenhuma alteração nesse parâmetro foi observada nas outras áreas estudadas.

Quanto às alterações em parâmetros oxidativos e níveis de nitrito em animais submetidos ao tratamento de reversão como mostrado na Tabela 2, a administração de cetamina diminuiu significativamente os níveis GSH no CPF [$F(7,76) = 987,3$, $P < 0,001$], HC [$F(7,80) = 377,5$, $P < 0,001$] e CE [$F(7,90) = 108,3$, $P < 0,001$] quando comparados aos animais tratados com veículo. Esta diminuição foi revertida apenas por minociclina na maior dose e risperidona em todas as áreas cerebrais estudadas ($P < 0,001$). Risperidona, da mesma maneira como no protocolo de prevenção, causou um enorme aumento, tanto quando usado sozinho ($P < 0,001$) como quando administrado após cetamina em todas as áreas ($P < 0,001$). Minociclina 25mg/kg quando administrada depois de cetamina manteve a diminuição nos níveis de GSH induzida por cetamina no CPF ($P < 0,05$) e HC ($P < 0,05$). A administração de minociclina sozinha em ambas as doses estudadas não causou alterações nos níveis de GSH.

Os níveis de peroxidação lipídica avaliados aqui pelo TBARS foram aumentados pela administração de cetamina no CPF [$F(7,95) = 16,18$, $P < 0,001$], HC [$F(7,105) = 24,62$, $P < 0,001$] e CE [$F(7,112) = 36,68$, $P < 0,001$] quando comparados aos animais tratados com veículo. A administração de minociclina, 25 e 50mg/kg e risperidona depois de cetamina reverteram essas alterações no HC ($P < 0,05$) e no CE ($P < 0,05$). No CPF esta inversão foi observada apenas nos animais tratados com a menor dose de minociclina após cetamina.

Risperidona sozinha diminuiu os níveis de TBARS em todas as áreas quando comparada ao grupo tratado com veículo (CPF ($P < 0,001$), HC ($P < 0,001$) e CE ($P < 0,001$)). Quando administrada depois de cetamina foi capaz de reverter o aumento de TBARS em todas as áreas, tanto quando comparados com o grupo tratado apenas com cetamina e no HC e CE, como quando comparado com o grupo tratado com veículo. Por outro lado, a administração de minociclina sozinha nas duas doses não causou nenhuma alteração nos níveis de TBARS.

Assim como foi observado no protocolo de prevenção, na reversão, os níveis de nitrito foram aumentados significativamente apenas no CE de animais tratados com cetamina [$F(7,126) = 4.190, P < 0,001$]. Apenas minociclina 50mg/kg e risperidona foram capazes de reverter significativamente esta alteração ($P < 0,001$). A administração de minociclina (25 e 50mg/kg) e risperidona sozinhos não causou nenhuma alteração nos níveis de nitrito.

Tabela 1 – Alterações neuroquímicas (estresse oxidativo e níveis de nitrito) em áreas cerebrais de animais submetidos ao protocolo de **prevenção**.

GSH (ng/g tecido)	Córtex pré-frontal	Hipocampo	Corpo estriado
Veículo	839.3 ± 31.5	1122 ± 113.3	1308 ± 115.9
KET	345.1 ± 23.0*	878.9 ± 79.03	463.4 ± 77.2*
MINO 25	550.7 ± 45.1	607.9 ± 67.7	895.2 ± 64.0
MINO 50	502.5 ± 57.8	607.3 ± 69.1	896.4 ± 121.1
Risp	8041 ± 108.9*	8116.0 ± 90.2*	7899 ± 162.9*
MINO 25 + KET	882.0 ± 60.7 [#]	993.9 ± 47.6	733.8 ± 123 [#]
MINO 50 + KET	795.6 ± 49.6 [#]	956.6 ± 48.0	846.9 ± 71.1 [#]
Risp + KET	6682 ± 407.8 ^{*,#}	5629 ± 608.1 ^{*,#}	6425 ± 213.1 ^{*,#}
TBARS (µmol de MDA /mg de proteína)			
Veículo	290.6 ± 22.2	401.9 ± 27.3	340.9 ± 17.6
KET	480.7 ± 22.1*	529.3 ± 22*	474.3 ± 20.2*
MINO 25	398.9 ± 21.8	304.7 ± 32.9	374.4 ± 26.3
MINO 50	398.9 ± 21.8	378.9 ± 18	381.1 ± 14.5
Risp	199.6 ± 30.9	116.6 ± 26.4*	135.6 ± 14.3*
MINO 25 + KET	457.5 ± 26.2	457.9 ± 43.8	344.3 ± 34.2 [#]
MINO 50 + KET	372.0 ± 13.4 [#]	328.5 ± 29.5 [#]	329.9 ± 21.1 [#]
Risp + KET	82.8 ± 8.1 ^{*,#}	124.9 ± 18.4 ^{*,#}	99.5 ± 6.3 ^{*,#}
Nitrito (µmol/mg de proteína)			
Veículo	1.36 ± 0.06	2.06 ± 0.65	1.31 ± 0.06
KET	1.2 ± 0.08	1.50 ± 0.08	2.82 ± 0.55*
MINO 25	1.58 ± 0.17	1.41 ± 0.06	1.48 ± 0.07
MINO 50	1.50 ± 0.09	0.96 ± 0.09	1.42 ± 0.06
Risp	1.08 ± 0.16	2.24 ± 0.32	0.91 ± 0.08
MINO 25 + KET	2.25 ± 0.5	1.68 ± 0.09	2.07 ± 0.17
MINO 50 + KET	1.44 ± 0.06	1.31 ± 0.08	1.27 ± 0.08 [#]
Risp + KET	1.10 ± 0.13	0.91 ± 0.10	1.26 ± 0.35 [#]

Camundongos (8-10/grupo) foram administrados com de veículo, MINO (25 ou 50mg/kg, i.p.) ou RISP 0,5 mg/kg durante 14 dias uma vez por dia. Entre o 8º e o 14º dia, estes animais receberam uma dose de KET 20mg/kg, i.p. 30 min depois do primeiro tratamento. Grupos adicionais receberam os tratamentos independentes com veículo, MINO e RISP. Os resultados foram expressos como média ± erro padrão da média e analisados pelo teste ANOVA e Tukey como um *post hoc*. ^{*}P < 0,05 vs grupo veículo e grupo KET, respectivamente. Abreviaturas: MDA-malondialdeído; KET-cetamina; MINO-minociclina; RISP – Risperidona; TBARS - substâncias reativas do ácido tiobarbitúrico.

Tabela 2 – Alterações neuroquímicas (estresse oxidativo e níveis de nitrito) em áreas cerebrais de animais submetidos ao protocolo de reversão.

GSH (ng/g tecido)	Córtex pré-frontal	Hipocampo	Corpo estriado
Veículo	808.0 ± 31.4	1260 ± 123.7	1250 ± 115.0
KET	341.1 ± 22.0*	399.7 ± 13.6*	388.7 ± 15.2*
MINO 25	550.7 ± 45.1	504.5 ± 43.0	659 ± 52.6
MINO 50	677 ± 112.7	713.2 ± 96.8	1001 ± 158.9
Risp	8041 ± 108.9*	8116.0 ± 90.2*	7899 ± 162.9*
KET + MINO 25	230.4 ± 11.2*	221.1 ± 6.3*	364.5 ± 49.6
KET + MINO 50	1781 ± 221.3 #	3549 ± 536.9*.#	2418 ± 317.7#
KET + Risp	7499 ± 170.6*.#	7657 ± 184*.#	6692 ± 778.4*.#
TBARS (µmol de MDA /mg de proteína)			
Veículo	293.4 ± 16.6	393.2 ± 28.4	341.1 ± 13.7
KET	490.5 ± 26.8*	498.9 ± 13.4*	469.5 ± 11.8*
MINO 25	285.0 ± 25.9	304.7 ± 32.9	374.4 ± 26.3
MINO 50	379.3 ± 21.2	374.3 ± 18.2	380.4 ± 13.4
Risp	156.3 ± 30.0*	117.0 ± 27.0*	121.4 ± 14.4*
KET + MINO 25	303.9 ± 30.7#	348.2 ± 38.2#	371.6 ± 24.7#
KET + MINO 50	414.1 ± 40.7	348.6 ± 18.4#	343.4 ± 17.4#
KET + Risp	213.4 ± 24.3#	186.2 ± 22.5*.#	181.7 ± 26.3*.#
Nitrito (µmol/mg de proteína)			
Veículo	1.31 ± 0.05	1.32 ± 0.08	1.28 ± 0.05
KET	1.37 ± 0.11	1.57 ± 0.13	2.60 ± 0.41*
MINO 25	1.58 ± 0.17	1.68 ± 0.14	1.65 ± 0.10
MINO 50	1.5 ± 0.09	1.61 ± 0.10	1.58 ± 0.11
Risp	1.08 ± 0.17	0.96 ± 0.09	0.91 ± 0.08
KET + MINO 25	1.79 ± 0.17	1.99 ± 0.23	1.81 ± 0.14
KET + MINO 50	1.40 ± 0.12	1.49 ± 0.12	1.32 ± 0.08#
KET + Risp	1.16 ± 0.08	1.05 ± 0.08	1.26 ± 0.12#

Camundongos (8-10/grupo) foram administrados com KET 20mg/kg, i.p., durante 14 dias uma vez por dia. Entre o 8º e o 14º dia, estes animais além disso receberam uma dose de veículo, MINO (25 ou 50mg/kg, i.p.) ou RISP 0,5 mg/kg 30 min depois KET. Grupos adicionais receberam os tratamentos independentes com veículo, MINO e RISP. Os resultados foram expressos como média ± erro padrão da média e analisados pelo teste ANOVA e Tukey como um post hoc. *#P < 0,05 vs grupo veículo e grupo KET, respectivamente. Abreviaturas: MDA-malondialdeído; KET-cetamina; MINO-minociclina; RISP – Risperidona; TBARS - substâncias reativas do ácido tiobarbitúrico.

7. DISCUSSÃO

O presente estudo, que foi desenhado com o intuito de avaliar os efeitos da minociclina no modelo experimental de sintomas tipo-esquizofrenia induzidos pela administração repetida de cetamina em camundongos (HOU *et al.*, 2013), revelou que a administração da tetraciclina de segunda geração, minociclina, administrada antes e após o tratamento com cetamina foi capaz de, como tratamento único, prevenir e reverter, respectivamente, os sintomas positivos, negativos e cognitivos, bem como as alterações neuroquímicas induzidas por cetamina.

Esses fatos denotam que a minociclina pode ser uma importante ferramenta farmacológica para o tratamento de manutenção (pela sua capacidade de prevenir os sintomas induzidos pela cetamina), bem como para o tratamento da fase aguda da esquizofrenia (pela sua capacidade de reverter os sintomas induzidos pela cetamina). Além disso, essa droga parece ser útil não só para o tratamento dos sintomas negativos e cognitivos deste transtorno mental, como se pensava, mas também para o tratamento dos sintomas positivos (LEVKOVITZ *et al.*, 2010; CHAUDHRY *et al.*, 2012).

Alterações comportamentais e sintomas da esquizofrenia

Os sintomas positivos e negativos, bem como o prejuízo cognitivo induzido por cetamina (HOU *et al.*, 2013) foram parcialmente atribuídos ao bloqueio dos receptores NMDA (NMDARs). Em consonância com esta evidência, o bloqueio dos NMDARs, localizado nos neurônios inibitórios GABAérgicos das regiões límbica e subcortical do cérebro, produz um aumento da atividade neuronal no circuito límbico-estriatal, devido aumento da liberação de glutamato e de dopamina, sendo este evento relacionado aos sintomas positivos da esquizofrenia (JAVITT; ZUKIN, 1991; MOGHADDAM *et al.*, 1997; CHATTERJEE *et al.*, 2012; GASS *et al.*, 1993; LORRAIN *et al.*, 2003; BALLA *et al.*, 2009).

Além disso, o bloqueio dos NMDARs na área tegumentar ventral (ATV) induz uma diminuição da liberação de dopamina no CPF, pois a produção basal de neurônios dopaminérgicos que se projetam para o CPF está sob o controle excitatório dos receptores glutamatérgicos NMDA e AMPA na ATV, bem como dos receptores AMPA no CPF, sendo, portanto, esse bloqueio parcialmente responsável pelo os

sintomas negativos e cognitivos (TAKAHATA *et al.*, 1998, SEAMANS *et al.*, 2004, NEILL *et al.*, 2010).

Portanto, a esquizofrenia é associada com anormalidades fortemente interligadas às transmissões glutamatérgicas e dopaminérgicas (LARUELLE *et al.*, 2003) que, pelo menos em parte, são reproduzidas pela administração crônica de cetamina em camundongos (CHATTERJEE *et al.*, 2012). Além de modelar os sintomas da esquizofrenia, a administração repetida de cetamina também é capaz de induzir danos oxidativos e alterações nitrérgicas e gabaérgicas que lembram as descritas em cérebros *post-mortem* de esquizofrênicos humanos (KEILHOFF *et al.*, 2004; DE OLIVEIRA *et al.*, 2009). Baseado na semelhança com a fisiopatologia da esquizofrenia e na utilização generalizada deste modelo, o mesmo foi escolhido e adaptado (pela inserção dos protocolos de prevenção e reversão) para o presente estudo, a fim de verificar a prevenção e a reversão de alterações induzidas por cetamina.

A validade de face dos sintomas positivos em modelos animais é questionável na medida em que é impossível imitar totalmente esse fenômeno. Assim, a literatura sobre modelos animais que avaliam estes sintomas se concentra em duas categorias principais de alterações comportamentais: hiperatividade locomotora e déficits da IPP (VAN DEN BUUSE, 2010). A hiperatividade locomotora pode ser induzida por doses moderadas de cetamina (VAN DEN BUUSE, 2010), já a deficiência de IPP é indicativa de um prejuízo nos mecanismos associados ao correto funcionamento do filtro sensorio-motor, um processo antecipatório que impede a sobrecarga sensorial e a fragmentação cognitiva (GEYER *et al.*, 2002; GEYER, 1999; POWELL *et al.*, 2009). Assim, o modelo de IPP representa a "interface entre a psicose e cognição" (DESBONNET *et al.*, 2009).

Nesse contexto, nossos resultados sugerem que a administração de minociclina em ambas as doses utilizadas (25 e 50mg/kg) foi capaz de prevenir e reverter os sintomas positivos e cognitivos induzidos pela cetamina, ou seja, corrigiu as alterações na atividade locomotora e nos níveis de IPP induzidas por cetamina, com resultados comparáveis aos da risperidona, um antipsicótico atípico, pois vale ressaltar que no modelo de esquizofrenia induzida por cetamina apenas antipsicóticos da classe dos atípicos apresentam capacidade de reversão dos sintomas.

Nossos resultados corroboram com estudos anteriores que revelaram a diminuição da hiperlocomoção e do déficit na resposta de sobressalto da inibição pré-

pulso pela administração aguda de minociclina (40 mg/kg) utilizando o modelo de esquizofrenia induzida por uma única administração da dizocilpina, um antagonista dos NMDAR (ZHANG *et al.*, 2007), e reversão de déficits cognitivos (LEVKOVITZ *et al.*, 2007, FUJITA *et al.*, 2008) no mesmo modelo.

Dessa forma, nossos resultados fornecem evidências pré-clínicas para a realização de testes clínicos com a utilização da minociclina para o tratamento de sintomas positivos da esquizofrenia. Vale salientar que a minociclina tem sido testada em ensaios clínicos principalmente como um tratamento complementar que teve como alvo os sintomas negativos e cognitivos da esquizofrenia, mostrando resultados encorajadores (LEVKOVITZ *et al.*, 2010; CHAUDHRY *et al.*, 2012; DEAN *et al.*, 2012). Entretanto, até o momento, a literatura científica não tem estudos pré-clínicos de minociclina na esquizofrenia.

Interessantemente, nosso estudo mostrou que a minociclina preveniu e reverteu a deficiência na memória de trabalho induzida por cetamina como visualizado no teste do labirinto em Y, enquanto a risperidona não conseguiu prevenir esta alteração. De fato, um estudo recente mostrou que a risperidona não foi capaz de promover uma melhoria na memória de trabalho e fluência verbal em pacientes (REMBERK *et al.*, 2012). A ausência de efeitos benéficos das drogas antipsicóticas conhecidas sob a cognição chama ainda mais atenção para a importância dos estudos com minociclina sobre este assunto. Neste sentido, sabendo que os benefícios dessa droga para os sintomas cognitivos não têm sido bem relatados, essa pesquisa abre novos caminhos para estudos com esta abordagem.

Quanto à sintomatologia negativa da esquizofrenia, o isolamento social é um dos sintomas principais desta desordem mental (LYSAKER *et al.*, 2012). Em nosso estudo a minociclina foi capaz de prevenir e reverter as diminuições das porcentagens de interações sociais induzidas pela cetamina. Os sintomas negativos e cognitivos deste transtorno mental têm sido relacionados à ativação microglial e à resultante resposta inflamatória e neurodegenerativa (MONJI *et al.*, 2009; LIEBERMAN, 1999; PEREZ-NERI *et al.*, 2006).

A ativação microglial em cérebro de roedores é conhecidamente induzida por antagonistas do receptor NMDA, como a cetamina (NAKKI *et al.*, 1995; NAKKI *et al.*, 1996). O aumento da densidade celular microglial também tem sido sugerido em estudos *post-mortem* de indivíduos com esquizofrenia (BAYER *et al.*, 1999;

RADEWICZ *et al.*, 2000; SCHNEIDER; DWORK, 2011; STEINER *et al.*, 2006; STEINER *et al.*, 2008).

Diferentes estudos têm relatado que a minociclina é capaz de inibir a ativação de células microgliais, células tipo macrófago do SNC que regulam a reatividade imune dentro do cérebro e, portanto, diminuem a produção de micróglia derivada de mediadores inflamatórios (ZEMK; MAJID, 2004; HENRY *et al.*, 2008).

Assim, devido a sua capacidade de estabilizar micróglia, a minociclina pode exercer seu papel protetor, bem como evitar a neuroprogressão do transtorno, entretanto, os exatos mecanismos moleculares por trás dessa atividade não são ainda totalmente compreendidos (GARRIDO-MESA *et al.*, 2013). Ou seja, os efeitos da minociclina sobre os sintomas negativos podem resultar parte de sua propriedade anti-inflamatória e inibidora da ativação da micróglia, bem como dos seus efeitos na neurotransmissão glutamatérgica (CHAUDHRY *et al.*, 2012).

Alterações nos níveis de estresse oxidativo e nitrito e sua relação com esquizofrenia

Os efeitos benéficos da minociclina nas alterações comportamentais induzidas por cetamina foram acompanhados por alterações no equilíbrio oxidativo. Assim, a administração de minociclina foi capaz de restaurar os níveis GSH e também de amenizar a peroxidação lipídica induzida por cetamina. De fato, GSH está envolvida na fisiopatologia da esquizofrenia e juntamente com a superóxido dismutase e glutatona peroxidase são indicadores de severidade de esquizofrenia em fase aguda, sendo também afetadas pela terapia antipsicótica (TSAI *et al.*, 2013). Além disso, camundongos deficientes de GSH têm sido usados como um modelo animal de esquizofrenia e transtorno bipolar (KULAK *et al.*, 2012). Interessantemente, no presente estudo a risperidona promoveu um grande aumento nos níveis de GSH corroborando com um estudo recente que mostrou que o tratamento com essa droga restaurou os níveis GSH, bem como, reverteu em grande magnitude as alterações nas defesas antioxidantes em cérebros de ratos tratados perinatalmente com fenciclidina (STOJKOVIC *et al.*, 2012).

A correção do desequilíbrio oxidativo induzido pela cetamina através da administração de minociclina, como relatado no presente estudo, pode ser uma característica importante relacionada aos benefícios desta droga na esquizofrenia. Isto é

reforçado pelo fato de que um desequilíbrio no estado redox do cérebro faz parte da fisiopatologia da esquizofrenia (BEHRENS *et al.*, 2009).

Neste contexto, estudos anteriores relataram que a exposição repetida de roedores adultos à cetamina provocou um aumento dos níveis da citocina pró-inflamatória IL-6 no cérebro, a qual, através da ativação da enzima NADPH oxidase (NOX2), levou a perda do fenótipo GABAérgico dos interneurônios marcados com parvalbumina, diminuindo, assim, a atividade inibitória destes neurônios no CPF. Em outras palavras, IL-6, encontrada em estado alterado em pacientes com esquizofrenia, pode levar o equilíbrio redox para um estado pró-oxidante (BEHRENS *et al.*, 2009).

Importantemente, em nossa pesquisa foram observadas alterações oxidativas induzidas por cetamina em todas as áreas do cérebro estudadas. Portanto, os efeitos anti-inflamatórios da minociclina podem explicar, em parte, suas propriedades antioxidantes, observadas aqui.

Estas propriedades antioxidantes são consistentes com a semelhança da sua estrutura química com vitamina E, já que a minociclina é composta por anel de fenol multi-substituídos e, portanto, pertencente à classe de antioxidantes fenólicos (MIYACHI *et al.*, 1986). De fato, a minociclina tem mostrado efeitos antioxidantes diretos em uma variedade de ensaios com radicais livres (KRAUS *et al.*, 2005; LEITE *et al.*, 2011), tendo sua capacidade de eliminação de radical comparada com a do α -tocoferol (vitamina E) independentemente da quelação com o Fe^{2+} (MIYACHI *et al.*, 1986). Além disso, estudos sugeriram que a minociclina mostrou ser mais potente do que a tetraciclina na inibição da peroxidação lipídica (MIYACHI *et al.*, 1986; LEITE *et al.*, 2011). Este fato provavelmente deve-se a presença de um grupo dietilamino sobre o carbono fenólico, o que é exclusivo da minociclina entre as tetraciclinas e que fornece um melhor rearranjo estérico (KRAUS *et al.*, 2005).

No presente estudo, por outro lado, ocorreu um aumento nos níveis de nitrito somente no CE de camundongos tratados com cetamina, sendo que, com a administração de minociclina na maior dose (50 mg/kg) e risperidona, tanto no protocolo de prevenção quanto no de reversão, os níveis voltaram ao normal. Resultados semelhantes foram mostrados recentemente, em um estudo clínico em que houve um acréscimo significativo nos níveis de SOD e NO em pacientes com esquizofrenia, em comparação aos controles normais (ZHANG *et al.*, 2012).

De fato, a neurobiologia da esquizofrenia é caracterizada por anormalidades nas vias glutamatérgicas, gabaérgicas e dopaminérgicas (BRESSAN; PILOWSKY, 2003; THORNBERG; SAKLAD, 1996). Quando ativados, os receptores NMDA promovem um influxo celular de cálcio, que estimula a enzima óxido nítrico sintase neuronal (nNOS) a produzir NO, que, por sua vez, ativa a guanilato ciclase, que produz GMP cíclico em grande quantidade. Assim, a disfunção na via “NMDA-NO-GMP cíclico” tem sido relacionada com a esquizofrenia (BERNSTEIN *et al.*, 2005; OLIVEIRA *et al.*, 2011)

A alteração na neurogênese também pode contribuir para a disfunção da dopamina, dos sistemas de NO e da psicose através da convergência de fatores genéticos e ambientais associados à doença (INTA *et al.*, 2011). Além disso, os níveis de NO estriatal regulam a atividade basal e a responsividade dos neurônios dopaminérgicos das áreas cortical e estriatal. Por exemplo, estudos com microdiálise demonstraram que a produção endógena de NO estriatal aumenta os níveis de dopamina extracelular estriatal (WEST *et al.*, 2000). Essa propriedade do NO de regular os níveis de dopamina no CE pode, parcialmente, explicar o aumento dos níveis de nitrito induzido por cetamina, especialmente nesta área do cérebro no presente estudo, já que a administração repetida dessa droga aumenta os níveis de dopamina nessa área cerebral, e este mecanismo refere-se principalmente aos sintomas positivos da esquizofrenia (CHATTERJEE *et al.*, 2012).

O NO desempenha um papel fundamental na fisiopatologia da inflamação crônica e de processos neurodegenerativos (LIBERATORE *et al.*, 1999). Assim, durante a inflamação há um aumento na produção de NO, gerando produtos como o peroxinitrito, que induz diretamente a neurodegeneração (REDFORD *et al.*, 1997).

A idéia que a isoforma induzida da enzima óxido nítrico sintase (iNOS) é prejudicial durante inflamação do SNC é compatível com o achado de que o tratamento com amino-guanidina, que em doses mais baixas atua de maneira específica inibindo a atividade da enzima iNOS e reduzindo o estresse nitrosativo (SZABÓ *et al.*, 1997), promoveu a diminuição da necrose de axônios (ROSE *et al.*, 1998). Nesse contexto, estudos constataram que a minociclina é capaz de inibir a atividade da iNOS e sua atividade inibitória pode ser devido a um efeito a nível transcricional e/ou translacional, o que explicaria a diminuição da atividade específica da enzima e a consequente

redução na produção de NO (AMIN *et al.*, 1996; CHEN *et al.*, 2000; YRJANHEIKKI *et al.*, 1998, 1999; TIKKA; KOISTINAHO, 2001).

Assim, a capacidade da minociclina de inibir a atividade da iNOS pode justificar seus efeitos protetores adicionais na inflamação e em doenças neurodegenerativas através da normalização dos níveis de nitrito, já que além de o NO promover efeitos deletérios devido sua superprodução em doenças auto-imunes, inflamatórias e doenças do SNC, ele é conhecido por mediar várias atividades catabólicas de IL-1 (TASKIRAN *et al.*, 1994; HUANG *et al.*, 2009; DU *et al.*, 2001).

Outra possível explicação para a diminuição nos níveis de nitrito induzida pela minociclina é a sua atividade de eliminação química direta contra o peroxinitrito (SCHILDKNECHT *et al.*, 2011).

Dessa forma, devido ao fato das doenças neurodegenerativas serem sempre acompanhadas por condições inflamatórias (FALSIG, *et al.*, 2008) a combinação de potenciais ações diretas (nos neurônios) e indiretas (como prevenção da síntese de mediadores inflamatórios prejudiciais) da minociclina explicaria a boa atividade neuroprotetora dessa droga vista em modelos animais (SCHILDKNECHT *et al.*, 2011).

8. CONCLUSÃO

Concluímos que a minociclina é capaz de prevenir e reverter de maneira dose-dependente os sintomas positivos, negativos e cognitivos tipo esquizofrenia induzidas pela administração repetida de cetamina. Estes efeitos comportamentais da minociclina foram acompanhados pela normalização do desequilíbrio oxidativo induzido pela cetamina em todas as áreas do cérebro estudadas, bem como a restauração dos níveis de nitrito no CE. Estes dados fornecem um embasamento racional para o desenho de ensaios clínicos com minociclina como um agente antipsicótico na forma de monoterapia e como terapia combinada visando uma investigação mais ampla dos seus efeitos na esquizofrenia e na neuroprogressão deste transtorno, já que essa droga teve resultados comparáveis aos do antipsicótico atípico risperidona.

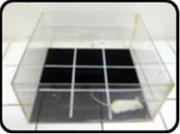
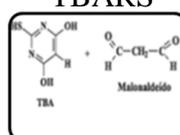
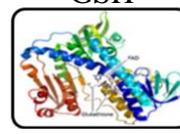
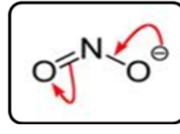
Teste	Cetamina	Minociclina				Risperidona	
		Prevenção		Reversão		Prevenção	Reversão
		25	50	25	50		
Inibição pré-pulso 	↓	↑	↑	↑	↑	↑	↑
Atividade locomotora 	↑	↓	↓	↓	↓	↓	↓
Memória de trabalho 	↓	↑	↑	↑	↑	↓	↑
Interação Social 	↓	⊘	↑	↑	↑	↑	↑
TBARS 	↑ CPF HC CE	↓ CE	↓ CPF HC CE	↓ CPF HC CE	↓ HC CE	↓ CPF HC CE	↓ HC CE
GSH 	↓ CPF CE	↑ CPF CE	↑ CPF CE	⊘	↑ CPF HC CE	↑ CPF HC CE	↑ CPF HC CE
Nitrito 	↑ CE	⊘	↓ CE	⊘	↓ CE	↓ CE	↓ CE

Figura 12: Resumo esquemático dos resultados obtidos na presente pesquisa.

REFERENCIAS

- ABI-DARGHAM, A.; GIL, R.; KRYSTAL, J.; BALDWIN, R.M.; SEIBYL, J.P.; BOWERS, M.; *et al.* Increased striatal dopamine transmission in schizophrenia: confirmation in a second cohort. **Am J Psychiatry** v.155, p.761-7, 1998.
- ABI-DARGHAM, A.; MOORE, H. Prefrontal DA transmission at D1 receptors and the pathology of schizophrenia. **Neuroscientist** v. 9, p.404–16, 2003.
- ADLER, C.M.; MALHOTRA, A.K.; ELMAN, I.; CARSON, R.E.; PICKAR, D.; BREIER, A. Effects of N-methyl-D-aspartate receptor antagonist ketamine on striatal dopamine release in esquizofrenia. **Schizophrenia Res** v.36, p.299, 1999.
- ADLER, C.M.; MALHOTRA, A.K.; ELMAN, I.; GOLDBERG, T.; EGAN, M.; PICKAR, D.; BREIER, A. Comparison of ketamine – induced thought disorder in healthy volunteers and thought disorder in schizophrenia. **Amer J Psychiat** v.156, p.1646-9, 1999.
- AGID, O.; KAPUR, S.; REMINGTON, G. Emerging drugs for schizophrenia. **Expert Opinion on Emerging Drugs**, v.13, p. 479–495, 2008.
- ALAGARSAMY, S.; LONART, G.; JOHNSON, K.M. Regulation of nitric oxide synthase activity in cortical slices by excitatory amino acids and calcium. **J. Neurosci. Res.** v.38, p.648–653, 1994.
- ALEXOPOULOU, L.; HOLT, A.C.; MEDZHITOV, R.; FLAVELL, R.A. Recognition of double-stranded RNA and activation of NF-kB by Toll-like receptor 3. **Nature**, v. 413, p. 732–738, 2001.
- AMIN, A.R.; ATTUR, M.G.; THAKKER, G.D.; PATEL, P.D.; VYAS, P.R.; PATEL, R.N.; *et al.* A novel mechanism of action of tetracyclines: effects on nitric oxide synthases. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America** v.93(24), p.14014–9, 1996.
- AMMINGER, G.P.; SCHÄFER, M.R.; KLIER, C.M.; *et al.* Decreased nervonic acid levels in erythrocyte membrane predict psychosis in help-seeking ultra-high-risk individuals. **Mol. Psychiatry**. 2011 <http://dx.doi.org/10.1038/mp.2011.167> (Dec 20, [Epub ahead of print])
- ANDREASEN, N.C. A unitary model of schizophrenia: Bleuler’s ‘fragmented phrene’ as schizencephaly. **Arch Gen Psychiatry** v.56, p.781–87, 1999.
- ANTUNES, F.; NUNES, C.; LARANJINHA, J.; CADENAS, E. Redox interaction of nitric oxide with dopamine and its derivatives. **Toxicology**, v.208, p.207–212, 2005.
- ARCHER, J. Tests for emotionality in rats and mice. A review, **Anim. Behav.** v. 21, p. 205–235, 1973.

ARNT, J.; SKARSFELDT, T. Do novel antipsychotics have similar pharmacological characteristics? A review of the evidence. **Neuropsychopharmacology** v.18, p.63–101, 1998.

BALLA, A.; NATTINI, M.E.; SERSHEN, H.; LAJTHA, A.; DUNLOP, D.S.; JAVITT, D.C. GABAB/ NMDA receptor interaction in the regulation of extracellular dopamine levels in rodent prefrontal cortex and striatum. **Neuropharmacology** v.56, p.915-921, 2009.

BARBARA, A.; LENCZ, C.B.; KANE, J.M. Treatment of the schizophrenia prodrome: is it presently ethical? *Schizophrenia Research*, v.51(1), p.31-38, 2001 .

BAYER, T.A.; BUSLEI, R.; HAVAS, L.; FALKAI, P. Evidence for activation of microglia in patients with psychiatric illnesses. **Neurosci. Lett.** v.271(2), p.126–128, 1999.

BECKER, A.; PETERS, B.; SCHROEDER, H.; MANN, T.; HUETHER, G; GRECKSCH, G. Ketamine-induced changes in art behavior: a possible animal model of schizophrenia. **Prog Neuro-psychoph**, v.27, p.687-700, 2003.

BECKER, A.; GRECKSCH, G. Ketamine-Induced Changes in Rat Behaviour: A Possible Animal Model of Schizophrenia. Test of Predictive Validity. **Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry** v.28, p.1267-1277, 2004.

BECKMAN, J.S.; KOPPENOL, W.H. Nitric oxide, superoxide, peroxynitrite: the good, the bad, the ugly. **Am. J. Physiol.**, v.271, p. C424–C432, 1996.

BEHRENS, M.M.; SEJNOWSKI, T.J. Does Schizophrenia Arise from Oxidative Dysregulation of Parvalbumin-Interneurons in the Developing Cortex? **Neuropharmacology** v.57, p.193-200, 2009.

BERNSTEIN, H.G.; BOGERTS, B.B.; KEILHOFF, G. The many faces of nitric oxide in schizophrenia. A review **Schizophrenia Research**, v.78(1), p.69-86, 2005.

BEGOU, M.; VOLLE, J.; BERTRAND, J.B.; BRUN, P.; JOB D.; SCHWEITZER, A.; SAOUD, M.; D'AMATO, T.; ANDRIEUX, A.; SUAUD-CHAGNY, M.F. The stop null mice model for schizophrenia displays [corrected] cognitive and social deficits partly alleviated by neuroleptics. **Neuroscience**. v.157(1), p.29-39, 2008.

BEISER, M.; ERICKSON, D.; FLEMING, J.A.; IACONO, W.G. Establishing the onset of psychotic illness. **Am J Psychiatry**. v.150(9), p.1349-54, 1993.

BELL, R.J. Multiple-risk cohorts and segmenting risk as solutions to the problem of false positives in risk for the major psychoses. **Psychiatry** v. 55, p.370–81, 1992.

BERNSTEIN, H.G.; BOGERTS, B.; KEILHOFF, G. The many faces of nitric oxide in schizophrenia. A review. **Schizophr Res**. v.78, p.69-86, 2005.

BERTOLINO, A.; KNABLE, M.B.; SAUNDERS, R.C.; CALLICOTT, J.H.; KOLACHANA, B.; MATTAY, V.S.; *et al.* The relationship between dorsolateral prefrontal N-acetylaspartate measures and striatal dopamine activity in schizophrenia. **Biol Psychiatry** v.45p.660-67, 1999.

BIEDERMANN, F.; FLEISCHHACKER, W.W. Emerging drugs for schizophrenia. *Expert Opin. Emerg. Drugs* v.16, p.271–282, 2011.

BITANIHIRWE, B.K.Y.; PELEG-RAIBSTEIN, D.; MOUTTET, F.; FELDON, J.; MEYER, U. Late prenatal immune activation in mice leads to behavioral and neurochemical abnormalities relevant to the negative symptoms of schizophrenia. **Neuropsychopharmacology** v.35, p.2462–78, 2010.

BITANIHIRWE, B.K.; WOO, T.U. Oxidative stress in schizophrenia: an integrated approach. **Neurosci Biobehav Rev**, v.35, p.878–893, 2011.

BLACK, M.D.; STEVENS, R.J.; ROGACKI, N.; FEATHERSTONE, R.E.; SENYAH, Y.; GIARDINO, O.; BOROWSKY, B.; STEMMELIN, J.; COHEN, C.; PICHAT, P.; ARAD, M.; BARAK, S.; DE LEVIE, A.; WEINER, I.; GRIEBEL, G.; VARTY, G.B. AVE1625, a cannabinoid CB1 receptor antagonist, as a co-treatment with antipsychotics for schizophrenia: improvement in cognitive function and reduction of antipsychotic-side effects in rodents. **Psychopharmacology (Berl)** v.215, p.149–163, 2011.

BOŠKOVIĆ, M.; VOVK, T.; KORES PLESNIČAR, B.; GRABNAR I. Oxidative stress in schizophrenia. **Curr Neuropharmacol**, v. 9, p. 301–312, 2011.

BRAFF, D.L.; GEYER M.A.; SWERDLOW, N.R. Human studies of prepulse inhibition of startle: normal subjects, patient groups and pharmacological studies. **Psychopharmacology** v.156, p.234–58, 2001.

BREIER, A.; ADLER, C.M.; WEISENFELD, N.; SU, T.P.; ELMAN, I.; PICKEN, L.; MALHOTRA, A.K.; PICKAR, D. Effects of NMDA antagonism on striatal dopamine release in healthy subjects: application of a novel PET approach. **Synapse** v.29, p.142–7, 1998.

BRESSAN, R.A.; PILOWSKY, L.S. Glutamatergic hypothesis of schizophrenia. **Rev Bras Psiq.** v.25, p.177–183, 2003.

BROWN, A.S.; BEGG, M.D.; GRAVESTINE, S.; SCHAEFER, C.A.; WYATT, R.J.; BRESNAHAN, M.; *et al.* Serologic evidence of prenatal influenza in the etiology of schizophrenia. **Arch Gen Psychiatry** v.61(8), p.774–80, 2004.

BROWN, A.; DERKITS, E. prenatal infection and schizophrenia: a review of epidemiologic and translational studies. **Am J Psychiatry** v.167, p.261 – 80, 2010.

BROWN, A.S.; VINOGRADOV, S.; KREMEN, W.S.; POOLE, J.H.; BAO, Y.; KERN, D.; MCKEAGUE, I.W. Association of maternal genital and reproductive infections with verbal memory and motor deficits in adult schizophrenia **Psychiatry Research**

v.188(2), p.179-186, jul 2011.

BRUINS SLOT, L.; KLEVEN, M.S.; NEWMAN-TANCREDI, A. Effects of novel antipsychotics with mixed D 2 antagonist/5-HT 1A agonist properties on PCP-induced social interaction deficits in the rat. **Neuropharmacology** v.49(7), p.996, 2005.

BUBENIKOVA-VALESOVA, V.; HORACEK, J.; VRAJOVA, M.; *et al.* Models of Schizophrenia in Humans and Animals Based on Inhibition of Nmda Receptors. **Neurosci Biobehav Rev** v.32(1), p.014-1023, 2008.

BUCHANAN, R.W.; JAVITT, D.C.; MARDER, S.R.; SCHOOLER, N.R.; GOLD, J.M.; MCMAHON, R.P.; HERESCO-LEVY, U.; CARPENTER, W.T. The Cognitive and Negative Symptoms in Schizophrenia Trial (CONSIST): The Efficacy of Glutamatergic Agents for Negative Symptoms and Cognitive Impairments. **Am J Psychiatry** v.164, p.1593–1602,2007.

BUCKLEY, P.F.; STAHL, S.M. Pharmacological Treatment of Negative Symptoms of Schizophrenia: Therapeutic Opportunity or Cul-De-Sac? **Acta Psychiatr Scand** v.115, p.93-100, 2007.

CARLSSON, A.; WATERS, N.; HOLM-WATERS, S.; TEDROFF, J.; NILSSON, M.; CARLSSON, M.L. Interactions Between Monoamines, Glutamate, and GABA in Schizophrenia: New Evidence. **Annual Review Pharmacology Toxicology**. v.41, p.237-60, 2001.

CARPENTER, W.T.; BUCHANAN, R.W. Schizophrenia. **N Engl J Med**, v.330, p. 681–690, 1994.

CHATTERJEE, M.; VERMA, R.; GANGULY, S.; *et al.* Neurochemical and Molecular Characterization of Ketamine-Induced Experimental Psychosis Model in Mice. **Neuropharmacology** v.63, p.1161-1171, 2012.

CHAUDHRY, I.B.; HALLAK, J.; HUSAIN, N.; MINHAS, F.; STIRLING, J.; RICHARDSON, P.; DURSUN, S.; DUNN, G.; DEAKIN, B. Minocycline benefits negative symptoms in early schizophrenia: a randomised double-blind placebo-controlled clinical trial in patients on standard treatment. **J Psychopharmacol**. v.26(9), p.1185-93, 2012

CHINDO, B.A.; ADZU, B.; YAHAYA, T.A.; *et al.* Ketamine-Enhanced Immobility in Forced Swim Test: A Possible Animal Model for the Negative Symptoms of Schizophrenia. **Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry** v.38, p.310-316, 2012.

CHEN, M.; ONA, V.O.; LI, M.; FERRANTE, R.J.; FINK, K.B.; ZHU, S.; *et al.* Minocycline inhibits caspase-1 and caspase-3 expression and delays mortality in a transgenic mouse model of Huntington disease. **Nature Medicine** v.6(7), p.797–801, 2000.

- CHOI, Y.; KIM, H-S.; SHIN, K.Y.; KIM, E-M.; KIM, M.; KIM, H-S.; *et al.* Minocycline attenuates neuronal cell death and improves cognitive impairment in Alzheimer's disease models. **Neuropsychopharmacology** v.32(11), p.2393–404, 2007.
- CIOBICA, A.; PADURARIU, M.; DOBRIN, I.; STEFANESCU, C.; DOBRIN, R. Oxidative stress in schizophrenia-focusing on the main markers. **Psychiatr Danub** v.23, p. 237–245, 2011.
- CRILLY, J. The history of clozapine and its emergence in the US market: a review and analysis. **Hist. Psychiatry** v.18, p.39–60, 2007.
- CORNBLATT, B.; LENCZ, L.; OBUCHOWSKI, M. The schizophrenia prodrome: treatment and high-risk perspectives. **Schizophrenia Research** v.54, p.177–186, 2002.
- CUNNINGHAM, C.; CAMPION, S.; TEELING, J.; FELTON, L.; PERRY, V.H. The sickness behaviour and CNS inflammatory mediator profile induced by systemic challenge of mice with synthetic double-stranded RNA (poly I:C). **Brain Behav Immun**, v.21, p. 490–502, 2007.
- DAKHALE, G.N.; KHANZODE, S.D.; KHANZODE, S.S.; SAOJI A. Supplementation of vitamin C with atypical antipsychotics reduces oxidative stress and improves the outcome of schizophrenia. **Psychopharmacology (Berl)** v.182, p. 494–498, 2005.
- DALL'IGNA OP, FETT P, GOMES MW *et al.* Caffeine and Adenosine a(2a) Receptor Antagonists Prevent Beta-Amyloid (25-35)-Induced Cognitive Deficits in Mice. **Exp Neurol** v.203, p.241-245, 2007.
- DAWSON, N.; MORRIS, B.J.; PRATT, J.A. Subanaesthetic KETamine Treatment Alters Prefrontal Cortex Connectivity With Thalamus and Ascending Subcortical Systems. **Schizophrenia Bulletin**. doi:10.1093/schbul/sbr144. Nov, 2012.
- DEAN, O.M.; DATA-FRANCO, J.; GIORLANDO, F.; *et al.* Minocycline: Therapeutic Potential in Psychiatry. **CNS Drugs** v.26, p.391-401, 2012.
- DELAY, J.; DENIKER, P.; HARL, J. Traitement des etats d'excitation et d'agitation par une methode medicamenteuse derive de l'hibernotherapie. **Ann. Medicopsychol.** v.119, p.267–273, 1952.
- DELLU, F.; CONTARINO, A.; SIMON, H.; KOOB, G.F.; GOLD, L.H. Genetic differences in response to novelty and spatial memory using a two-trial recognition task in mice. **Neurobiol Learn Mem** v.73,p.31–48, 2000.
- DE OLIVEIRA, L.; SPIAZZI, C.M.; BORTOLIN, T.; *et al.* Different sub-anesthetic doses of KETamine increase oxidative stress in the brain of rats. **Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry** v.33, p.1003–1008, 2009.
- DE OLIVEIRA, L.; FRAGA, D.B.; DE LUCA, R.D. Behavioral changes and mitochondrial dysfunction in a rat model of schizophrenia induced by KETamine. **Metab. Brain Dis.** v.26, p.69–77, 2011.

DESBONNET, L.; WADDINGTON, J.L.; O'TUATHAIGH, C.M. Mutant models for genes associated with schizophrenia. **Biochem Soc Trans** v.37, p.308-312, 2009.

DI FORTI, M.; MORRISON, P.D.; BUTT, A.; MURRAY, R.M. Cannabis use and psychiatric and cognitive disorders: the chicken or the egg? **Curr Opin Psychiatry** v.20, p. 228–34, 2007.

DRAPIER, J.C.; HIBBS, J.B. Differentiation of murine macrophages to express non-specific cytotoxicity for tumor cells results in L-arginine-dependent inhibition of mitochondrial iron-sulfur enzymes in the macrophage effector cells. **J. Immunol.**, v.140, p. 2238–2829, 1988.

DUAN, T.T.; TAN, J.W.; YUAN, Q.; *et al* Acute Ketamine Induces Hippocampal Synaptic Depression and Spatial Memory Impairment through Dopamine D1/D5 Receptors. **Psychopharmacology** v.14, p.14, 2013.

DUNCAN, G.E.; MIYAMOTO, S.; LEIPZIG, J.N.; LIEBERMAN, J.A. Comparison of the effects of clozapine, risperidone, and olanzapine on ketamine-induced alterations in regional brain metabolism. **J Pharmacol Exp Ther** v.293, p.8-14, 2000.

DU, Y.; MA, Z.; LIN, S.; DODEL, R.C.; GAO, F.; BALES, K.R.; *et al*. Minocycline prevents nigrostriatal dopaminergic neurodegeneration in the MPTP model of Parkinson's disease. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America** v.98(25), p.4669–74, 2001.

EATON, W.W.; BYRNE, M.; EWALD, H.; *et al*. Association of schizophrenia and autoimmune diseases: linkage of Danish national registers. **Am J Psychiatry** v.163, p.521–528, 2006.

EGERTON, A.; REID, L.; MCGREGOR, S.; COCHRAN, S.M.; MORRIS, B.J.; PRATT, J.A. Subchronic and chronic PCP treatment produces temporally distinct deficits in attentional set shifting and prepulse inhibition in rats. **Psychopharmacology**. v.198, p.37–49, 2008.

ELLENBROEK, B.A.; WILLEMEN, A.P.; COOLS, A.R. Are antagonists of dopamine D1 receptors drugs that attenuate both positive and negative symptoms of schizophrenia? A pilot study in Java monkeys. **Neuropsychopharmacology** v.2, p.191-199 1989.

ELLENBROEK, B. A.,; COOLS, A. R. Animal models for the negative symptoms of schizophrenia. **Behav Pharmacol** v.11(3–4), p.223–233, 2000.

FALSIG, J.; VAN BEEK, J.; HERMANN, C.; LEIST, M. Review Molecular basis for detection of invading pathogens in the brain. **J Neurosci Res**. v.86(7), p.1434-47, 2008.

FLATOW J, BUCKLEY P, MILLER BJ. Meta-Analysis of Oxidative Stress in **Schizophrenia**. *Biol Psychiatry*. 2013 May 15. doi:pii: S0006-3223(13)00296-5. 10.1016/j.biopsych.2013.03.018.

FOSTER, R.; KANDANEARATCHI, A.; BEASLEY, C.; *et al.* Calprotectin in microglia from frontal cortex is up-regulated in schizophrenia: evidence for an inflammatory process? **Eur J Neurosci** v.24, p.3561-3566, 2006.

FUJITA, Y.; ISHIMA, T.; KUNITACHI, S.; *et al.* Phencyclidine-Induced Cognitive Deficits in Mice Are Improved by Subsequent Subchronic Administration of the Antibiotic Drug Minocycline. **Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry** v.32, p.336-339, 2008.

GASS, P.; HERDEGEN, T.; BRAVO, R.; KIESSLING, M. Induction and suppression of immediate early genes in specific rat brain regions by the non-competitive N-methyl-D-aspartate receptor antagonist MK-801. **Neuroscience** v.53, p.749-758, 1993.

GAWRYLUK, J.W.; WANG, J.F.; ANDREAZZA, A.C.; SHAO, L.; YOUNG L.T. Decreased levels of glutathione, the major brain antioxidant, in post-mortem prefrontal cortex from patients with psychiatric disorders. **Int J Neuropsychopharmacol**, v.14, p. 123–130, 2011.

GEYER, M.A.; MCILWAIN, K.L.; PAYLOR, R. Mouse genetic models for prepulse inhibition: an early review. **Mol Psychiatry** v.7, p.1039-1053, 2002.

GEYER, M.A. Assessing prepulse inhibition of startle in wild-type and knockout mice. **Psychopharmacology (Berl)** v.147, p.11-13, 1999.

GARRIDO-MESA, N.; ZARZUELO, A.; GALVEZ, J. Minocycline: Far Beyond an Antibiotic. **Br J Pharmacol** v.169, p.337-352, 2013.

GARRIDO-MESA, N.; ZARZUELO, A.; GÁLVEZ, J. What is behind the non-antibiotic properties of minocycline? **Pharmacological Research** v.67, p.18– 30, 2013.

GEHRMANN, J.; MATSUMOTO, Y.; KREUTZBERG, G.W. Microglia: intrinsic immune effector cell of the brain. **Brain Res Rev** v.20, p.269–87, 1995.

GERMAN, T.T.; TONG, R.I.; GILMORE, J.H.; LIEBERMAN, J.A.; JARSKOG, L.F. Regulation of apoptosis by typical and atypical antipsychotics in rat frontal cortex. **Eur Neuropsychopharmacol** v.55, p.214, 2004.

GRAFF-GUERRERO, A.; MAMO, D.; SHAMMI, C.M.; MIZRAHI, R.; MARCON, H.; BARSOUM, P.; RUSJAN, P.; HOULE, S.; WILSON, A.A.; KAPUR, S. The effect of antipsychotics on the high-affinity state of D2 and D3 receptors: a positron emission tomography study With [11C]-(+)-PHNO. **Arch Gen Psychiatry**.v.66(6), p.606-15, jun 2009.

GREEN, A.R. Gaddum and LSD: the birth and growth of experimental and clinical neuropharmacology research on 5-HT in the UK. **Br J Pharmacol**. v.154(8), p.1583–1599, 2008.

GREEN, L.C.; TANNENBAUM, S.R.; GOLDMAN, P. Nitrate Synthesis in the Germfree and Conventional Rat. **Science** v.212, p.56-58, 1981.

GUIZZO, R. Transtornos depressivos: uma primeira abordagem. **INeC – Instituto de Neurociências e Comportamento**, 2009. Disponível em <<http://www.inecusp.org/cursos/cursoIV/cursoIV.htm>> Acesso em: 28 nov. 2011.

HAFNER, H.; RIECHER, R.A.; AN, D.H.W.; MAURER, K.; FATKENHEUER, B.; LOFFLER, W. Generating and testing a causal explanation of the gender difference in age at first onset of schizophrenia. **Psychol Med** v.23, p.925–40, 1993.

HATTA, K.; SATO, K.; HAMAKAWA, H.; *et al.* Effectiveness of Second-Generation Antipsychotics with Acute-Phase Schizophrenia. **Schizophr Res** v.113, p.49-55, 2009.

HAWK, JR.L.W.; YARTZ, A.R.; PELHAM, JR.W.E.; LOCK, T.M. The effects of methylphenidate on prepulse inhibition during attended and ignored prestimuli among boys with attention-deficit hyperactivity disorder. **Psychopharmacology**, v.165, p.118–27, 2003.

HEMMINGS, G.; HEMMINGS, W.D. (Eds.). The Biological Basis of Schizophrenia. Baltimore, MD: **University Park Press**. 1978.

HENNEKENS, C.H.; HENNEKENS, A.R.; HOLLAR, D.; CASEY, D.E. Schizophrenia and increased risks of cardiovascular disease. **Am Heart J** v.150, p.1115–1121, 2005.

HENRY, C.J.; HUANG, Y.; WYNNE, A.; HANKE, M.; HIMLER, J.; BAILEY, M.T.; *et al.* Minocycline attenuates lipopolysaccharide (LPS)-induced neuroinflammation, sickness behavior, and anhedonia. **Journal of Neuroinflammation** v.5, p.15, 2008.

HERZ, M. Early intervention in different phases of schizophrenia. **J. Prac. Psych. Behav. Health**. v.5, p.197-208, 1999.

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. **Psychol Ver**. v.87, p.175–89, 1980.

HORVÁTH, S.; MIRNICS, K. Breaking the gene barrier in schizophrenia. **Nature Medicine** v.15, p.488 – 490, 2009.

HOU, Y.; ZHANG, H.; XIE, G.; *et al.* Neuronal Injury, but Not Microglia Activation, Is Associated with Ketamine-Induced Experimental Schizophrenic Model in Mice. **Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry** v.17, p. 00072-00079, 2013.

HUANG, T.Y.; CHU, H.C.; LIN, Y.L.; LIN, C.K.; HSIEH, T.Y.; CHANG, W.K.; *et al.*, Minocycline attenuates experimental colitis in mice by blocking expression of inducible nitric oxide synthase and matrix metalloproteinases. **Toxicology and Applied Pharmacology** v.237(1), p.69–82, 2009.

INTA, D.; MEYER-LINDENBERG, A.; GASS, P. Alterations in Postnatal Neurogenesis and Dopamine Dysregulation in Schizophrenia: A Hypothesis. **Schizophr Bull** v.37, p.674-680, 2011.

ISSY, A.C.; SALUM, C.; DEL BEL, E.A. Nitric oxide modulation of methylphenidate-induced disruption of prepulse inhibition in Swiss mice. **Behavioural Brain Research** v.205, p.475-481, 2009.

JACOBS, B.; LANGLAND J.O. When two strands are better than one: the mediators and modulators of the cellular responses to double-stranded RNA. **Virology**, v.219, p. 339-349, 1996.

JANSSEN, P.A.; NIEMEGEREERS, C.J.; AWOUTERS, F.; SCHELLEKENS, K.H.; MEGENS, A.A.H.P.; MEERT, T.F. et al. Pharmacology of risperidone (R 64766), a new antipsychotic with serotonin-S2 and dopamine-D2 antagonistic properties. **J Pharmacol Exp Ther**. v.244, p.685-693, 1988.

JAVITT, D.C.; ZUKIN, S.R.; HERESCO-LEVY, U.; *et al.* Has an Angel Shown the Way? Etiological and Therapeutic Implications of the Pcp/Nmda Model of Schizophrenia. **Schizophr Bull** v.38, p.958-966, 2012.

JAVITT, D.C.; ZUKIN, S.R. Recent advances in the phencyclidine model of schizophrenia. **Am J Psychiatry** v.148, p.1301-1308, 1991.

JENTSCH, J.D.; ROTH, R.H. The Neuropsychopharmacology of Phencyclidine: From Nmda Receptor Hypofunction to the Dopamine Hypothesis of Schizophrenia. **Neuropsychopharmacology** v.20, p.201-225, 1999.

JIANG, J.; SEE, Y.M.; SUBRAMANIAM, M.; LEE, J. Investigation of Cigarette Smoking among Male Schizophrenia Patients. **PLoS One**. v.8(8), p.71343, 2013.

JONES, P.B.; BARNES, T.R.; DAVIES, L.; *et al.* Randomized controlled trial of the effect on quality of life of second- vs first-generation antipsychotic drugs in schizophrenia. **Arch. Gen. Psychiatry** v.63, p.1079-1087, 2006.

KAMIYAMA, H.; MATSUMOTO, M.; OTANI, S.; *et al.* Mechanisms Underlying Ketamine-Induced Synaptic Depression in Rat Hippocampus-Medial Prefrontal Cortex Pathway. **Neuroscience** v.177, p.159-169, 2011

KANTROWITZ, J.T.; JAVITT, D.C. N-methyl-d-aspartate (NMDA) receptor dysfunction or dysregulation: The final common pathway on the road to schizophrenia? **Brain Research Bulletin** v.83, p.108-121, 2010.

KAPLAN, H.I., & SADOCK, B.J. (Eds.). *Comprehensive Textbook of Psychiatry*. Baltimore, MD: Williams & Wilkins, 1995.

KAPUR, S.; SEEMAN, P. Nmda Receptor Antagonists Ketamine and Pcp Have Direct Effects on the Dopamine D(2) and Serotonin 5-Ht(2)Receptors-Implications for Models of Schizophrenia. **Mol Psychiatry** v.7, p.837-844, 2002.

KAPUR, S.; SEEMAN, P. Does fast dissociation from the dopamine d(2) receptor explain the action of atypical antipsychotics? A new hypothesis. **Am J Psychiatry** v.158, p.360-9, 2001.

KEEFE, R.S.; BILDER, R.M.; DAVIS, S.M.; *et al.* Neurocognitive Effects of Antipsychotic Medications in Patients with Chronic Schizophrenia in the Catie Trial. **Arch Gen Psychiatry** v.64, p.633-647, 2007.

KEGELES, L.S.; ABI-DARGHAM, A.; ZEA-PONCE, Y.; RODENHISER-HILL, J.; MANN, J.J.; VAN HEERTUM, R.L.; COOPER, T.B.; CARLSSON, A.; LARUELLE, M. Modulation of amphetamine-induced striatal dopamine release by ketamine in humans: implications for schizophrenia. **Biol. Psychiatry**. v.48, p.627– 640, 2000.

KEILHOFF, G.; BECKER, A.; GRECKSCH, G.; *et al.* Repeated Application of Ketamine to Rats Induces Changes in the Hippocampal Expression of Parvalbumin, Neuronal Nitric Oxide Synthase and Cfos Similar to Those Found in Human Schizophrenia. **Neuroscience** v.126, p.591-598, 2004.

KIM, Y.K.; MYINT, A.M.; VERKERK, R.; SCHARPE, S.; STEINBUSCH, H.; LEONARD, B. Cytokine changes and tryptophan metabolites in medication-naïve and medication-free schizophrenic patients. **Neuropsychobiology** v.59(2), p.123–9, 2009.

KIRCH DG. Infection and autoimmunity as etiologic factors in schizophrenia: a review and reappraisal. **Schizophr Bull** v.19, p.355–70, 1992.

KNABLE, M.B.; WEINBERGER, D.R. Dopamine, the pre-frontal cortex and schizophrenia. **J Psychopharmacol** v.11, p.123-236, 1997.

KOHL, S.; HEEKEREN, K.; KLOSTERKÖTTER, J.; KUHN, J. Prepulse inhibition in psychiatric disorders e Apart from schizophrenia. **Journal of Psychiatric Research** v.47, p.445- 452, 2013.

KOLTUKSUZ, U.; IRMAK, M.K.; KARAMAN, A.; UZ, E.; VAR, A.; OZYURT, H.; AKYOL, O. Testicular nitric oxide levels after unilateral testicular torsion/detorsion in rats pretreated with caffeic acid phenethyl ester. **Urol Res**. v.28, p.360-3, 2000.

KRAUS, R.L.; PASIECZNY, R.; LARIOSAWILLINGHAM, K.; *et al.* Antioxidant Properties of Minocycline: Neuroprotection in an Oxidative Stress Assay and Direct Radical-Scavenging Activity. **J Neurochem** v.94, p.819-827, 2005.

KREMLEV, S.G.; ROBERTS, R.L.; PALMER, C. Differential expression of chemokines and chemokine receptors during microglial activation and inhibition. **J Neuroimmunol**. v.149, p.1–9, 2004.

KRYSTAL, J.; BELGER, A.; D'SOUZA, C.; ANAND, A.; CHARNEY, D.S.; AGHAJANIAN, G.K.; MOGHADDAM, B. Therapeutic implications of the hyperglutamatergic effects of NMDA antagonists. **Neuropsychopharmacol**. v.21, p.S143-S157, 1999.

KRYSTAL, J.H.; D'SOUZA, D.C.; MATHALON, D.; PERRY, E.; BELGER, A.; HOFFMAN, R. NMDA receptor antagonist effects, cortical glutamatergic function, and schizophrenia: toward a paradigm shift in medication development. **Psychopharmacology (Berl)** v.169, p.215–233, 2003.

KULAK, A.; CUENOD, M.; DO, K.Q. Behavioral Phenotyping of Glutathione-Deficient Mice: Relevance to Schizophrenia and Bipolar Disorder. **Behav Brain Res** v.226, p.563-570, 2012.

LAHTI, A.C.; HOLCOMB, H.H.; MEDOFF, D.R.; TAMMINGA, C.A. Ketamine activates psychosis and alters limbic blood flow in schizophrenia. **NeuroReport** v.6, p.869–872, 1995a.

LAHTI, A.C.; KOFFEL, B.; LAPORTE, D.; TAMMINGA, C.A. Subanesthetic doses of ketamine stimulate psychosis in schizophrenia. **Neuropsychopharmacology**, v.13, p.9–19, 1995b.

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 Rev Neurother** p.10, p.1347-1359, 2010.

LARUELLE, M.; KEGELES, L.S.; ABI-DARGHAM, A. Glutamate, Dopamine, and Schizophrenia: From Pathophysiology to Treatment. **Ann N Y Acad Sci** p.138-158, 2003.

LEITE, L.M.; CARVALHO, A.G.G.; TAVARES FERREIRA, P.L.F.; PESSOA, I.X.; GONÇALVES, D.O.; DE ARAÚJO LOPES, A.; *et al.* Anti-inflammatory properties of Doxycycline and Minocycline in experimental models: an in vivo and in vitro comparative study. **Inflammopharmacology** v.19, p.99–110, 2011.

LEUCHT, S.; CORVES, C.; ARBTER, D.; ENGEL, R.R.; LI, C.; DAVIS, J.M. Second-generation versus first-generation antipsychotic drugs for schizophrenia: a meta-analysis. **Lancet**, v.373, p. 31–41, 2009.

LEUCHT, S.; BARNES, T.R.; KISSLING, W.; *et al.* Relapse Prevention in Schizophrenia with New-Generation Antipsychotics: A Systematic Review and Exploratory Meta-Analysis of Randomized, Controlled Trials. **Am J Psychiatry** v.160, p.1209-1222, 2003.

LEVIN, R.; CALZAVARA, M.B.; SANTOS, C.M.; *et al.* Spontaneously Hypertensive Rats (Shr) Present Deficits in Prepulse Inhibition of Startle Specifically Reverted by Clozapine. **Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry** v.35, p.1748-1752, 2011.

LEVKOVITZ, Y.; LEVI, U.; BRAWA, Y.; COHENB, H. Minocycline, a second-generation tetracycline, as a neuroprotective agent in an animal model of schizophrenia. **Brain Research**. v.1154, p.154–162, 2007.

LEVKOVITZ, Y.; MENDLOVICH, S.; RIWKES, S.; *et al.* A Double-Blind, Randomized Study of Minocycline for the Treatment of Negative and Cognitive Symptoms in Early-Phase Schizophrenia. **J Clin Psychiatry** v.71, p.138-149, 2010.

LI, H.C; CHEN, Q.Z; MA, Y; ZHOU. J.F. Imbalanced free radicals and antioxidant defense systems in schizophrenia: a comparative study. *J Zhejiang Univ Sci B*, v.7, p.981–986, 2006.

LI, Z.; KIM, C.H.; ICHIKAWA, J.; MELTZER, H.Y. Effect of repeated administration of phencyclidine on spatial performance in an eight-arm radial maze with delay in rats and mice. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**. v.75 p.335–340, 2003.

LIBERATORE, G.T.; JACKSON-LEWISM, V.; VUKOSAVIC, S.; MANDIR, A.S.; *et al.* Inducible nitric oxide synthase stimulates dopaminergic neurodegeneration in the MPTP model of Parkinson disease. **Nature Medicine** v.5, p.1403–1409, 1999.

LIEBERMAN, J.A. Atypical antipsychotic drugs as a first-line treatment of schizophrenia: a rationale and hypothesis. **Clin Psychiatry**. v.57 n.11 p. 68-71, 1996.

LIEBERMAN, J.A. Is schizophrenia a neurodegenerative disorder? A clinical and neurobiological perspective. **Biol Psychiatry**, v.46, p.729–739, 1999.

LIEBERMAN, J.A.; STROUP, T.S.; MCEVOY, J.P., *et al.* Effectiveness of antipsychotic drugs in patients with chronic schizophrenia. **N Engl J. Med.** v.353, p.1209–1233, 2005.

LIEBERMAN, J.A. Effectiveness of Antipsychotic Drugs in Patients with Chronic Schizophrenia: Efficacy, Safety and Cost Outcomes of Catie and Other Trials. **J Clin Psychiatry** p.68, 2007.

LIU, L.; JIA, F.; YUAN, G.; CHEN, Z.; YAO, J.; LI, H.; FANG, C. Tyrosine hydroxylase, interleukin-1beta and tumor necrosis factor-alpha are over expressed in peripheral blood mononuclear cells from schizophrenia patients as determined by semi-quantitative analysis. **Psychiatry Res** v.176(1), p.1–7, 2010.

LOHR, J.B.; FLYNN, K. Smoking and schizophrenia. **Schizophr Res** v.8, p.93–102, 1992.

LOUZÃ, M.R.; ELKIS, H. - **Psiquiatria Básica**, 2ª. Edição. Porto Alegre: Artmed, 2007.

LOUZÃ, M.R. Detecção precoce: é possível prevenir a esquizofrenia? **Rev. Psiq. Clín.** v.34(2), p.169-173, 2007.

LORRAIN, D.S.; BACCEI, C.S.; BRISTOW, L.J.; ANDERSON, J.J.; VARNEY, M.A. Effects of KETamine and N-methyl-D-aspartate on glutamate and dopamine release in the rat prefrontal cortex: modulation by a group II selective metabotropic glutamate receptor agonist LY379268. **Neuroscience** v.117, p.697-706, 2004.

LYSAKER, P.H.; ERIKSON, M.; MACAPAGAL, K.R.; *et al.* Development of Personal Narratives as a Mediator of the Impact of Deficits in Social Cognition and Social Withdrawal on Negative Symptoms in Schizophrenia. **J Nerv Ment Dis** v.200, p. 290-295, 2012.

MANSBACH, R.S.; GEYER, M.A.; BRAFF, D.L. Dopaminergic stimulation disrupts sensorimotor gating in the rat. **Psychopharmacology**. v.94, p.507-514, 1988.

MARTIN, D.; LODGE, D. KETamine acts as a non-competitive Nmethyl-d-aspartate antagonist on frog spinal cord in vitro, **Neuropharmacology** v.24, 999–1003, 1985.

MARTINEZ-GRAS, I.; RUBIO, G.; DEL MANZANO, B.A.; RODRIGUEZ-JIMENEZ, R.; GARCIA-SANCHEZ, F.; BAGNEY, A.; LEZA, J.C; BORRELL. J. The relationship between prepulse inhibition and general psychopathology in patients with schizophrenia treated with long-acting risperidone. **Schizophrenia Research** v.115, p.215–221, 2009.

MASI, G.; COSENZA, A.; MUCCI, M.; BROVEDANI, P. A 3-year naturalistic study of 53 preschool children with pervasive developmental disorders treated with risperidone. **J Clin Psychiatry**. v.64, p.1039–1047, 2003.

MCGORRY, P.D.; MCFARLANE, C.; PATTON, G.C.; BEL, R.; HIBBERT, M.E.; JACKSON, H.J.; BOWES, G. The prevalence of prodromal features of schizophrenia in adolescence: a preliminary survey. **Acta Psychiatrica Scand**. v.92, p.241-249, 1995.

MELTZER, H.Y.; LI, Z.; KANEDA, Y.; ICHIKAWA, J. Serotonin receptors: their key role in drugs to treat schizophrenia. **Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry** v.27, p.1159- 72, 2003.

MEYER, J.M. Antipsychotic safety and efficacy concerns. **Journal of Clinical Psychiatry**. v.68, p.20-26, 2007.

MEYER, U.; FELDON, J. Epidemiology-driven neurodevelopmental animal models of schizophrenia. **Progress in Neurobiology**. v.90, p.285–326, 2010.

MEYER-LINDENBERG, A.; MILETICH, R.S.; KOHN, P.D.; ESPOSITO, G.; CARSON, R.E.; QUARANTELLI, M.; *et al.* Reduced prefrontal activity predicts exaggerated striatal dopaminergic function in schizophrenia. **Nat Neurosci** v.5, p.267-71, 2002.

MEYER U. Anti-inflammatory signaling in schizophrenia. **Brain Behav Immun** v.25, p.1507–18, 2011.

MEYER, U.; YEE, B.K.; FELDON, J. The neurodevelopmental impact of prenatal infections at different times of pregnancy: The earlier the worse? **Neuroscientist**, v.13, p. 241–256, 2007.

MIYACHI, Y.; YOSHIOKA, A.; IMAMURA, S.; NIWA, Y. Effect of antibiotics on the generation of reactive oxygen species. **Journal of Investigative Dermatology** v.86(4), p.449–53, 1986.

MIYAMOTO, S.; JARSKOG, L.F.; FLEISCHHACKER, W.W. Alternative Pharmacologic Targets for the Treatment of Schizophrenia: Results from Phase I and II Trials. **Curr Opin Psychiatry** v.26, p. 158-165, 2013.

MIYAMOTO, S.; MAILMAN, R.B.; LIEBERMAN, J.A.; DUNCAN, J.E. Blunted brain metabolic response to ketamine in mice lacking D(1A) dopamine receptors. **Brain Res**, v.894, p.167-80, 2001.

MOGHADDAM, B.; ADAMS, B.; VERMA, A.; DALY, D. Activation of glutamatergic neurotransmission by KETamine: a novel step in the pathway from NMDA receptor blockade to dopaminergic and cognitive disruptions associated with the prefrontal cortex. **J. Neurosci.** v.17, p.2921-2927, 1997.

MOLINA, V.; LOPEZ, D.E.; VILLA, R.; PEREZ, J.; MART, C.; BALLESTEROS, A.; CARDOSO, A.; SANCHO, C. Prepulse inhibition of the startle reflex in schizophrenia remains stable with short-term quetiapine. **European Psychiatry** v.26, p.271–275, 2011.

MONJI, A.; KATO, T.; KANBA, S. Cytokines and Schizophrenia: Microglia Hypothesis of Schizophrenia. **Psychiatry Clin Neurosci** v.63, p.257-265, 2009.

MOORE, H.; WEST, A.R.; GRACE, A.A. The regulation of forebrain dopamine transmission: relevance to the pathophysiology and psychopathology of schizophrenia. **Biol Psychiatry** v.46, p.40-55, 1999.

MORENO, J.L.; GONZÁLEZ-MAESO, J. Preclinical models of antipsychotic drug action. **Int J Neuropsychopharmacol.** v.10, p.1-14, 2013.

NAKKI, R.; NICKDENKO, J.; CHANG, J.; SAGAR, S.M.; SHARP, F.R. Haloperidol prevents ketamine- and phencyclidine-induced HSP70 protein expression but not microglial activation. **Exp Neurol**, v.137, p. 234–241, 1996.

NAKKI, R.; KOISTINAHO, J.; SHARP, F.R.; SAGAR, S.M. Cerebellar toxicity of phencyclidine. **J Neurosci**, v.15, p.2097–2108, 1995.

NASRALLAH, H.A.; TANDON, R. Classic antipsychotic medications, In: Nemeroff, C., Schatzberg, A. (Eds.), *American Psychiatric Press Textbook of Psychopharmacology*, 4th edition. Washington D.C, **American Psychiatric Press**, p.533–554, 2009.

NEILL, J.C.; BARNES, S.; COOK, S.; GRAYSON, B.; IDRIS, N.F.; MCLEAN, S.L.; SNIGDHA, S.; RAJAGOPAL, L.; HARTE, M.K. Animal models of cognitive dysfunction and negative symptoms of schizophrenia: Focus on NMDA receptor antagonism. **Pharmacology & Therapeutics**, v.128(3), p.419-432, 2010.

NIKAM, S.S.; AWASTHI, A.K. Evolution of schizophrenia drugs: a focus on dopaminergic systems. **Current opinion in investigational drugs**. v.9, p.37-46, 2008.

NOACK, H.; POSSEL, H.; RETHFELDT, C.; KEILHOFF, G.; WOLF, G. Peroxynitrite mediated damage and lowered superoxide tolerance in primary cortical glial cultures after induction of the inducible isoform of NOS. **Glia**, v.28, p. 13–24, 1999.

NODA, Y.; YAMADA, K.; KOMORI, Y.; SUGIHARA, H.; FURUKAWA, H.; NABESHIMA, T. Role of nitric oxide in the development of tolerance and sensitization to behavioural effects of phencyclidine in mice. **Br. J. Pharmacol.** v.117, p.1579–1585, 1996.

O'BRIEN, S.M.; SCULLY, P.; DINAN, T.G. Increased tumor necrosis factor-alpha concentrations with interleukin-4 concentrations in exacerbations of schizophrenia. **Psychiatry Res** v.160(3), p.256 – 62, 2008.

O'DONNELL, P. Cortical interneurons, immune factors and oxidative stress as early targets for schizophrenia. **Eur J Neurosci**, v.35, p. 1866–1870, 2012.

OLIVEIRA, J.P.; LOBÃO, B.; MACHADO-DE-SOUSA, J.P.; BAKER, G.B.; DURSUN S, HALLAK JE. Targeting the NMDA receptor-nitric oxide-cyclic GMP pathway to develop non-dopaminergic antipsychotic medications for schizophrenia. **Rev Bras Psiquiatr**. v.33, p.223-4, 2011.

OHKAWA, H.; OHISHI, N.; YAGI, K. Assay for Lipid Peroxides in Animal Tissues by Thiobarbituric Acid Reaction. **Analytical Biochemistry** 95: 351-358, 1979.

OLNEY, J.W.; FARBER, N.B. Glutamate receptor dysfunction and schizophrenia. **Arch Gen Psychiatry**. v.52, p.998-1007, 1995.

OSAWA, Y.; DAVILA, J.C. Phencyclidine, a psychotomimetic agent and drug of abuse, is a suicide inhibitor of brain nitric oxide synthase. **Biochem. Biophys. Res. Commun.** v.194, p.1435–1439, 1993.

PATIL, S.T.; ZHANG, L.; MARTENYI, F.; LOWE, S.L.; JACKSON, K.A.; ANDREEV, B.V.; AVEDISOVA, A.S.; BARDENSTEIN, L.M.; GUROVICH, I.Y.; MOROZOVA, M.A.; MOSOLOV, S.N.; NEZNANOV, N.G.; REZNIK, A.R.; SMULEVICH, A.B.; TOCHILOV, V.A.; JOHNSON, B.G.; MONN, J.A.; SCHOEPP, D.D. Activation of mGlu2/3 receptors as a new approach to treat schizophrenia: a randomized Phase 2 clinical trial. **Nat. Med.** v.13(9), p.1102–1107, 2007.

PATTERSON, P. Immune involvement in schizophrenia and autism: etiology, pathology and animal models. **Behav Brain Res** v.204, p.313 – 21, 2009.

PAXINOS, G.; WATSON, C. **The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates**. San Diego: Academic Press; 1998.

PEREZ-NERI, I.; RAMIREZ-BERMUDEZ, J.; MONTES, S.; RIOS, C. Possible mechanisms of neurodegeneration in schizophrenia. **Neurochem Res**, v.31, p.1279–1294, 2006.

PERRY, W.; MINASSIAN, A.; FEIFEL, D.; BRAFF, D.L. Sensorimotor gating deficits in bipolar disorder patients with acute psychotic mania. **Biol. Psychiatry**, v.50, p.418–24, 2001.

PIETRASZEK, M. Significance of dysfunctional glutamatergic transmission for the development of psychotic symptoms. **Pol J Pharmacol** v.55, p.133-54, 2003.

PORSOLT, R.D.; BERTIN, A.; JALFRE, M. Behavioral despair in mice: a primary screening test for antidepressants, **Arch. Int. Pharmacodyn. Ther.** v.229, p.327–336, 1977.

PORSOLT, R.D.; ANTON, G.; BLAVET, N.; JAFRE, M.; Behavioral despair in rats: anewmodel sensitive to antidepressant treatments. **Eur. J. Pharmacol.** v.47, p.339–379, 1978.

POTTER, D.; SUMMERFELT, A.; GOLD, J.; BUCHANAN, R.W. Review of clinical correlates of P50 sensory gating abnormalities in patients with schizophrenia. **Schizophr Bull** v.32, p.692–700, 2006.

POTVIN, S.; STIP, E.; SEPEHRY, A.A.; *et al.* Inflammatory cytokine alterations in schizophrenia: a systematic quantitative review. **Biol Psychiatry** v.63, p.801–808, 2008.

POWELL, S.B.; ZHOU, X.; GEYER, M.A. Prepulse inhibition and genetic mouse models of schizophrenia. **Behav Brain Res** v.204, p.282-294, 2009.

PRASAD, K.M.; KESHAVAN, M.S. Structural cerebral variations as useful endophenotypes in schizophrenia: do they help construct “extended endophenotypes”? **Schizophr Bull.** v.34, p.774–790, 2008.

RADENOVIC, L.; SELAKOVIC, V. Differential effects of NMDA and AMPA/kainite receptor antagonists on nitric oxide production in rat brain following intrahippocampal injection, **Brain Res. Bull.** v.67, p.133–141, 2005.

RADEWICZ, K.; GAREY, L. J.; GENTLEMAN, S. M.; REYNOLDS, R. Increase in HLA-DR immunoreactive microglia in frontal and temporal cortex of chronic schizophrenics. **J. Neuropathol. Exp. Neurol.** v.59, p.137–150, 2000.

RADONJIĆ, N.V.; KNEZEVIĆ, I.D.; VILIMANOVICH, U.; KRAVIĆ-STEVOVIĆ, T.; MARINA, L.V.; NIKOLIĆ T. *et al.* Decreased glutathione levels and altered antioxidant defense in an animal model of schizophrenia: long-term effects of perinatal phencyclidine administration. **Neuropharmacology**, v.58, p. 739–745, 2010.

RADYUSHKIN, K.; HAMMERSCHMIDT, K.; BORETIUS, S.; VAROQUEAUX, F.; EL-KORDI, A.; RONNENBERG, A.; WINTER, D.; FRAHM, J.; FISCHER, J.;

BROSE, N.; EHRENREICH, H. Neuroligin-3 deficient mice: model of a monogenic heritable form of autism with an olfactory deficit. **Genes Brain Behav.** v.8(4), p.416–425, 2009.

RANG, H.P.; DALE, M.M. **Farmacologia.** 6.ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2007.

REDFORD, E.J.; KAPOOR, R.; SMITH, K.J. Nitric oxide donors reversibly block axonal conduction: demyelinated axons are especially susceptible. **Brain** v.120, p.2149–2157, 1997.

REMBERK, B.; NAMYSLOWSKA, I.; RYBAKOWSKI, F. Cognition and Communication Dysfunctions in Early-Onset Schizophrenia: Effect of Risperidone. **Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry** v.39, p.348-354, 2012.

ROSE, J.W.; HILL, K.E.; WADA, Y.; KURTZ, C.I.; *et al.* Nitric oxide synthase inhibitor, aminoguanidine, reduces inflammation and demyelination produced by Theiler's virus infection. **Journal of Neuroimmunology** v.81, p.82–89, 1998.

SADOCK, B.J. In: KANDEL, E.R.; SCHWARTZ, J. H.; JESSELL, T. M. (eds.), **Principles of Neural Sciences**, New York: McGraw-Hill, p. 998–1013, 2000.

SALOKANGAS, R.K.; VILKMAN, H.; ILONEN, T.; TAIMINEN, T.; BERGMAN, J.; *et al.* High levels of dopamine activity in the basal ganglia of cigarette smokers. **Am J Psychiatry** v.157, p. 632–634, 2000.

SALUM, C.; RAISMAN-VOZARI, R.; MICHEL, P.P.; ZANARDO GOMES, M.; MITKOVSKI, M.; FERRARIO, J.E.; GINESTET, L.; DEL BEL, E.A. Modulation of dopamine uptake by nitric oxide in cultured mesencephalic neurons. **Brain Res** v.1198, p.27–33, 2008.

SAMS-DODD, F. Phencyclidine in the social interaction test: an animal model of schizophrenia with face and predictive validity. **Rev Neurosci** v.10(1), p.59–90, 1999.

SAMS-DODD, F. Effects of continuous d-amphetamine and phencyclidine administration on social behaviour, stereotyped behaviour, and locomotor activity in rats. **Neuropsychopharmacology** v.19, p.18–25, 1998.

SCHNEIDER, T.P.; DWORK. A.J. Searching for neuropathology: gliosis in schizophrenia. **Biol Psychiatry**, v.69, p.134–139, 2011.

SCHILDKNECHT, S.; PAPE, R.; MULLER, N.; *et al.* Neuroprotection by Minocycline Caused by Direct and Specific Scavenging of Peroxynitrite. **J Biol Chem** v.286, p.4991-5002, 2011.

SCHOTTE, A.; JANSSEN, P.F.; GOMMEREN, W.; LUYTEN, W.H.; VAN GOMPEL, P.; LESAGE, A.S.; DE LOORE, K.; LEYSEN, J.E. Risperidone compared with new and reference antipsychotic drugs: in vitro and in vivo receptor binding. **Psychopharmacology (Berl)**. v.124, p.57–73, 1996.

SEEMAN, P. Dopamine receptors and the dopamine hypothesis of schizophrenia. **Synapse**, v. 1, p.133-52, 1987.

SEAMANS, J.K.; YANG, C.R. The Principal Features and Mechanisms of Dopamine Modulation in the Prefrontal Cortex. **Prog Neurobiol** v.74, p.1-58, 2004.

SEDLAK, J.; LINDSAY, R.H. Estimation of Total, Protein-Bound, and Nonprotein Sulfhydryl Groups in Tissue with Ellman's Reagent. **Anal Biochem** v.25, p.192-205, 1968.

SHI, L.; FATEMI, S.H.; SIDWELL, R.W.; PATTERSON, P.H. Maternal influenza infection causes marked behavioral and pharmacological changes in the offspring. **J Neurosci** v.23, p.297–302, 2003.

SHIH, R.A.; BELMONTE, P.L.; ZANDI, P.P. A review of the evidence from family, twin and adoption studies for a genetic contribution to adult psychiatric disorders. **Int Rev Psychiatry** v.16, p.260–83, 2004.

SNIGDHA, S.; NEILL, J. C. Efficacy of antipsychotics to reverse phencyclidine-induced social interaction deficits in female rats — a preliminary investigation. **Behav Brain Res** v.187 (2), p.489–494, 2008a.

SNIGDHA, S.; NEILL, J. C. Improvement of phencyclidine induced social behaviour deficits in rats: involvement of 5-HT1A receptors. **Behav Brain Res** v.191(1), p.26–31, 2008b.

SORIA, J.A.; ARROYO, D.S.; GAVIGLIO, E.A.; RODRIGUEZ-GALAN, M.C.; WANG, J.M.; *et al.* Interleukin 4 induces the apoptosis of mouse microglial cells by a caspase-dependent mechanism. **Neurobiol Dis** v.43(3), p.616–24, 2011.

STEINER, J.; MAWRIN, C.; ZIEGELER, A.; BIELAU, H.; ULLRICH, O.; BERNSTEIN, H.G.; *et al.* Distribution of HLA-DR-positive microglia in schizophrenia reflects impaired cerebral lateralization. **Acta Neuropathol (Berl)**, v.112, p.305–316, 2006.

STEINER, J.; BIELAU, H.; BRISCH, R.; DANOS, P.; ULLRICH, O.; MAWRIN, C.; *et al.* Immunological aspects in the neurobiology of suicide: elevated microglial density in schizophrenia and depression is associated with suicide. **J Psychiatr Res**, v.42, p. 151–157, 2008.

STOJKOVIC, T.; RADONJIC, N.V.; VELIMIROVIC, M. *et al.* Risperidone Reverses Phencyclidine Induced Decrease in Glutathione Levels and Alterations of Antioxidant Defense in Rat Brain. **Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry** v.39, p.192-199, 2012.

STREIT, W.J.; MRAK, R.E.; GRIFFIN, W.S. Microglia and neuroinflammation: a pathological perspective. **J. Neuroinflammation** v.1, p.14, 2004.

SULLIVAN, E.M.; O'DONNELL, P. Inhibitory interneurons, oxidative stress, and schizophrenia. **Schizophr Bull** v.38, p. 373–376, 2012.

SWARTZ, M.S.; PERKINS, D.O.; STROUP, T.S.; *et al.* Effects of antipsychotic medications on psychosocial functioning in patients with chronic schizophrenia: findings from the NIMH CATIE study. **Am. J. Psychiatry** v.164, p.428–436, 2007.

SWAYZE, V.W.I. Frontal leucotomy and related psychosurgical procedures in the era before antipsychotics (1935–1954): a historical review. **Am. J. Psychiatry** v.152, p.505–515, 1995.

SWERDLOW, N.R.; WEBER, M.; QU, Y.; LIGHT, G.A.; BRAFF, D.L. Realistic expectations of prepulse inhibition in translational models for schizophrenia research. **Psychopharmacology (Berl)** v.199, p.331–88, 2008.

SZABÓ, C.; FERRER-SUETA, G.; ZINGARELLI, B.; SOUTHAN, G.J.; SALZMAN, A.L.; RADI, R. Mercaptoethylguanidine and guanidine inhibitors of nitric-oxide synthase react with peroxynitrite and protect against peroxynitrite-induced oxidative damage. **J Biol Chem**. v.272(14), p.9030–6, 1997.

TAKAHATA, R.; MOGHADDAM, B. Glutamatergic Regulation of Basal and Stimulus-Activated Dopamine Release in the Prefrontal Cortex. **J Neurochem** v.71, p.1443–1449, 1998.

TANDON, R.; KESHAVAN, M.S.; NASRALLAH, H.A. Schizophrenia, “Just the Facts”: what we know in 2008 part 1: overview. **Schizophrenia Research**, v.100, p. 4–19, 2008.

TANDON, R.; NASRALLAH, H.A.; KESHAVAN, M.S. Schizophrenia, "Just the Facts" 4. Clinical Features and Conceptualization. **Schizophr Res** v.110, p.1–23, 2009.

TANDON, R.; NASRALLAH, H.A.; KESHAVAN, M.S. Schizophrenia, "Just the Facts" 5. Treatment and Prevention. Past, Present, and Future. **Schizophr Res** v.122, p.1–23, 2010.

TASKIRAN, D.; STEFANOVIC-RACIC, M.; GEORGESCU, H.; EVANS, C. Nitric oxide mediates suppression of cartilage proteoglycan synthesis by interleukin-1. **Biochemical and Biophysical Research Communications** v.200(1), p.142–8, 1994.

THOMAS, M.; LE, W.D. Minocycline: neuroprotective mechanisms in Parkinson's disease. **Current Pharmaceutical Design** v.10(6), p.679–86, 2004.

THOMAS, M.; ASHIZAWA, T.; JANKOVIC, J. Minocycline in Huntington's disease: a pilot study. **Movement Disorders** v.19 (6), p.692–5, 2004.

THORNBERG, S.A.; SAKLAD, S.R. A review of NMDA receptors and the phencyclidine model of schizophrenia. **Pharmacotherapy**.v.16, p.82–93, 1996.

TIKKA, T.M.; KOISTINAHO, J.E. Minocycline provides neuroprotection against N-methyl-d-aspartate neurotoxicity by inhibiting microglia. **Journal of Immunology** v.166(12), p.7527–33, 2001.

TIKKA, T.; FIEBICH, B.L.; GOLDSTEINS, G.; KEINANEN, R.; KOISTINAHO, J. Minocycline, a tetracycline derivative, is neuroprotective against excitotoxicity by inhibiting activation and proliferation of microglia. **J. Neurosci.** v.21, p.580–2588, 2001.

TOHGI, H.; ABE, T.; YAMAZAKI, T.; MURATA, C.; ISOBE, C.; ISHIZAKI, E. The cerebrospinal fluid oxidized NO metabolites, nitrite and nitrate, in Alzheimer's disease and vascular dementia of Biswanger type and multiple small infarct type. **J. Neural Transm.**, v.105, p. 1238–1291, 1998.

TOMA ´S-CAMARDIEL, M.; RITE, I.; HERRERA, A.J.; PABLOS, R.M.; CANO, J.; MACHADO, A.; VENERO, L.L. Minocycline reduces the lipopolysaccharide- induced inflammatory reaction, peroxynitrite-mediated nitration of proteins, disruption of the blood–brain barrier, and damage in the nigral dopaminergic system. **Neurobiology of Disease** v.16, p.190–201, 2004.

TORREY, E.F.; DAVIS, J.M. Adjunct Treatments for Schizophrenia and Bipolar Disorder: What to Try When You Are out of Ideas. **Clin Schizophr Relat Psychoses** v.5, p.208-216. 2012

TSAI, M.C.; LIOU, C.W.; LIN, T.K.; *et al.* Changes in Oxidative Stress Markers in Patients with Schizophrenia: The Effect of Antipsychotic Drugs. **Psychiatry Res** v.13, p.00044-00049, 2013.

TSOI, D.T.Y.; HUNTER, M.D.; WOODRUFF, P.W.R. History, aetiology, and symptomatology of schizophrenia. **Psychiatry**, v.7(10), p.404-409, 2008.

TSUCHIE, K.; MIYAOKA, T.; FURUYA, M.; LIAURY, K.; IEDA, M.; WAKE, R.; HORIGUCHI, J.; TAKECHI, M. The effects of antipsychotics on behavioral abnormalities of the Gunn rat (unconjugated hyperbilirubinemia rat), a rat model of schizophrenia. **Asian J Psychiatr.** v.6(2), p.119-23, 2013.

VAN BERCKEL, B.N. Microglia activation in recent-onset schizophrenia: a quantitative (R)-[11C]PK11195 positron emission tomography study. **Biol Psychiatry** v.64, p.820–822, 2008.

VAN DEN BUUSE, M. Modeling the Positive Symptoms of Schizophrenia in Genetically Modified Mice: Pharmacology and Methodology Aspects. **Schizophr Bull** v.36(2), p.246-270, 2010.

VASCONCELOS, S.M.M.; ANDRADE, M.M.; SOARES, P.M.; CHAVES, B.G.; PATROCÍNIO, M.C.A.; SOUSA, F.C.F.; MACÊDO, D.S. Cetamina: aspectos gerais e relação com a esquizofrenia. **Rev. Psiq. Clín.** v.32 (1), p.10-16, 2005.

WANG, X.; ZHU, S.; DROZDA, M.; ZHANG, W.; STAVROVSKAYA, I.G.; CATTANEO, E.; *et al* Minocycline inhibits caspase-independent and -dependent mitochondrial cell death pathways in models of Huntington's disease. **Proc Natl Acad Sci USA** v.100, p.10483–10487, 2003.

WATANABE, Y.; SOMEYA, T.; NAWA, H. Cytokine hypothesis of schizophrenia pathogenesis: evidence from human studies and animal models. **Psychiatry Clin Neurosci.** v.64(3), p.217-30, jun 2010.

WEST, A.R.; GRACE, A.A. Striatal Nitric Oxide Signaling Regulates the Neuronal Activity of Midbrain Dopamine Neurons in Vivo. **J Neurophysiol** v.83, p.1796-1808, 2000.

WINTERER, G. Why do patients with schizophrenia smoke? **Curr Opin Psychiatry** v.23, p.112–119, 2010.

WOLF, O.T.; DYAKIN, V.; VADASZ, C.; DE LEON, M.J.; McEWEN, B.S.; BULLOCH, K. Volumetric measurement of the hippocampus, the anterior cingulate cortex, and the retrosplenial granular cortex of the rat using structural MRI. **Brain Res Brain Res Protoc.**v.10, p.41–46, 2002

WOOLLEY, D.W.; SHAW, E. Some Neurophysiological Aspects of Serotonin. **Br Med J.** v.2(4880), p.122–126, 1954.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Schizophrenia, Mental health, Disorder management. 2013. Retrieved February [cited 23-01-2013].

WU, D.C.; JACKSON-LEWIS, V.; VILA, M.; TIEU, K.; TEISMANN, P.; VADSETH, C.; *et al*. Blockade of microglial activation is neuroprotective in the 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine mouse model of Parkinson disease. **J Neurosci** v.22, p.1763–1771, 2001.

WU, J.Q.; KOSTEN, T.R.; ZHANG, X.Y. Free radicals, antioxidant defense systems, and schizophrenia. **Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry** (Mar 4 2013) <http://dx.doi.org/10.1016/j.pnpbp.2013.02.015> [doi:pii: S0278-5846(13)00049-3. [Epub ahead of print]]

WYATT, R.J.; ALEXANDER, R.C.; EGAN, M.F.; KIRCH, D.G. Schizophrenia, just the facts. What do we know, how well do we know it? **Schizophr. Res.** v.1, p.3–18, 1988.

WYNN, J.K.; GREEN, M.F.; SPROCK, J.; LIGHT, G.A.; WIDMARK, C.; REIST, C.; ERHART, S.; MARDER, S.R.; MINTZ, J.; BRAFF, D.L. Effects of olanzapine, risperidone and haloperidol on prepulse inhibition in schizophrenia patients: A double-blind, randomized controlled Trial. **Schizophrenia Research** v.95, p.134–142, 2007.

YAMADA, K.; NODA, Y.; HASEGAWA, T.; KOMORI, Y.; NIKAI, T.; SUGIHARA, H.; NABESHIMA, T. The role of nitric oxide in dizocilpine-induced impairment of

spontaneous alternation behavior in mice. **J. Pharmacol. Exp. Ther.**, v.276, p. 460–466, 1996.

YAO, J.K.; KESHAVAN, M.S. Antioxidants, redox signaling, and pathophysiology in schizophrenia: an integrative view. **Antioxid Redox Signal**, v.15, p. 2011–2035, 2011.

YEE, B.K.; SINGER, P. A Conceptual and Practical Guide to the Behavioural Evaluation of Animal Models of the Symptomatology and Therapy of Schizophrenia. **Cell Tissue Res** v.12, p.12, 2013.

YRJANHEIKKI, J.; KEINANEN, R.; PELLIKKA, M.; HOKFELT, T.; KOISTINAHO, J. Tetracyclines inhibit microglial activation and are neuroprotective in global brain ischemia. **Proc Natl Acad Sci USA** v. 95, p.15769–15774, 1998.

YRJANHEIKKI, J.; TIKKA, T.; KEINANEN, R.; GOLDSTEINS, G.; CHAN, P.H.; KOISTINAHO, J. A tetracycline derivative, minocycline, reduces inflammation and protects against focal cerebral ischemia with a wide therapeutic window. **Proc Natl Acad Sci USA** v.96, p.13496–134500, 1999.

YUNG, A.R.; NELSON, B. Young people at ultra high risk for psychosis: a research update. **Early Interv Psychiatry**. v.5, 1, p.52-7, 2011.

ZHANG, L.; SHIRAYAMA, Y.; IYO, M.; *et al.* Minocycline Attenuates Hyperlocomotion and Prepulse Inhibition Deficits in Mice after Administration of the Nmda Receptor Antagonist Dizocilpine. **Neuropsychopharmacology** v.32, p. 2004–2010, 2007.

ZHANG, M.; ZHAO, Z.; HE, L.; WAN C. A meta-analysis of oxidative stress markers in schizophrenia. **Sci China Life Sci**, v.53, p. 112–124, 2010

ZHANG, X.Y.; ZHOU, D.F.; SHEN, Y.C.; *et al.* Effects of Risperidone and Haloperidol on Superoxide Dismutase and Nitric Oxide in Schizophrenia. **Neuropharmacology** v. 2, p.1928-1934, 2012.

ZEMKE, D.; MAJID A. The Potential of Minocycline for Neuroprotection in Human Neurologic Disease. **Clin Neuropharmacol.** v.27(6), nov 2004.

ZHU, S.; STAVROVSKAYA, I.G.; DROZDA, M.; KIM, B.Y.S.; ONA, V.; LI, M.; *et al.* Minocycline inhibits cytochrome c release and delays progression of amyotrophic lateral sclerosis in mice. **Nature** v.417(6884), p.74–8, 2002.

ZUCKERMAN, L.; WEINER, I. Maternal immune activation leads to behavioral and pharmacological changes in the adult offspring. **J Psychiatr Res.** v.39, p. 311–323, 2005.