



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ  
FACULDADE DE MEDICINA  
DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA E MEDICINA LEGAL  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MICROBIOLOGIA MÉDICA**

**AYANE EDWIGES MOURA DA COSTA**

**INFLUÊNCIA DO SEXO E EFEITO PREVENTIVO DOS ÁCIDOS GRAXOS POLI-  
INSATURADOS ÔMEGA-3 SOBRE ALTERAÇÕES COMPORTAMENTAIS E  
NEURO-OXIDATIVAS EM ANIMAIS SUBMETIDOS AO MODELO DE  
ESQUIZOFRENIA POR DESAFIO IMUNE NEONATAL COMBINADO A ESTRESSE  
NA ADOLESCÊNCIA**

**FORTALEZA**

**2018**

AYANE EDWIGES MOURA DA COSTA

INFLUÊNCIA DO SEXO E EFEITO PREVENTIVO DOS ÁCIDOS GRAXOS POLI-  
INSATURADOS ÔMEGA-3 SOBRE ALTERAÇÕES COMPORTAMENTAIS E NEURO-  
OXIDATIVAS EM ANIMAIS SUBMETIDOS AO MODELO DE ESQUIZOFRENIA POR  
DESAFIO IMUNE NEONATAL COMBINADO A ESTRESSE NA ADOLESCÊNCIA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-  
Graduação em Microbiologia Médica da  
Universidade Federal do Ceará, como requisito  
parcial à obtenção do título de mestre em  
Microbiologia Médica. Área de concentração:  
Neurociências.

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dra. Danielle Macêdo  
Gaspar.

FORTALEZA

2018

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

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

---

- C87i Costa, Ayane Edwiges Moura da.  
Influência do sexo e efeito preventivo dos ácidos graxos poli-insaturados ômega-3 sobre alterações comportamentais e neuro-oxidativas em animais submetidos ao modelo de esquizofrenia por desafio imune neonatal combinado a estresse na adolescência / Ayane Edwiges Moura da Costa. – 2018.  
93 f. : il. color.
- Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Médica, Fortaleza, 2018.  
Orientação: Profa. Dra. Danielle Macêdo Gaspar.
1. Esquizofrenia. 2. Ácidos graxos ômega-3. 3. Diferença de sexo. 4. Desafio imune neonatal. 5. Estresse oxidativo. I. Título.

CDD 616.9

---

AYANE EDWIGES MOURA DA COSTA

INFLUÊNCIA DO SEXO E EFEITO PREVENTIVO DOS ÁCIDOS GRAXOS POLI-  
INSATURADOS ÔMEGA-3 SOBRE ALTERAÇÕES COMPORTAMENTAIS E NEURO-  
OXIDATIVAS EM ANIMAIS SUBMETIDOS AO MODELO DE ESQUIZOFRENIA POR  
DESAFIO IMUNE NEONATAL COMBINADO A ESTRESSE NA ADOLESCÊNCIA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-  
Graduação em Microbiologia Médica da  
Universidade Federal do Ceará, como requisito  
parcial à obtenção do título de mestre em  
Microbiologia Médica. Área de concentração:  
Neurociências.

Aprovada em: 26/02/2018.

BANCA EXAMINADORA

---

Prof.<sup>a</sup> Dra. Danielle Macêdo Gaspar (Orientadora)  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Prof.<sup>a</sup> Dra. Francisca Cléa Florenço de Sousa  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Prof. Dr. David Freitas de Lucena  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

A Deus.

Aos meus avós, Orcini e Bernadete, por me ensinarem que a magnitude do amor se encontra nos detalhes.

## AGRADECIMENTOS

Expresso, a princípio, o meu agradecimento a Deus, que me envolve com Seu amor e misericórdia infinitos.

À minha mãe, Lúcia, que sempre me incentivou na busca pela realização dos meus sonhos.

Aos meus tios, Orcini Júnior, Roberta e Naíla, pelo apoio incondicional.

Ao meu primo, Naílton, pelos conselhos e paciência.

À Prof.<sup>a</sup> Dra. Danielle Macêdo, pela acolhida no Laboratório de Neuropsicofarmacologia e, sobretudo, pelos ensinamentos, motivação, docilidade e alegria. Uma verdadeira fonte de inspiração para seus alunos!

Aos professores do Laboratório de Neurofarmacologia, pelas valiosas colaborações.

Às técnicas do Laboratório de Neurofarmacologia, Vilani e Luciana, pelo apoio e amizade.

Aos veterinários, Wesley e Gabriela, pelas instruções relacionadas à ética no uso de animais.

Aos funcionários do Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento de Medicamentos (NPDM), pela solicitude e amizade.

Aos vários amigos do laboratório, com quem tive a alegria de conviver, Tati, Eliclécio, Germana, Kátia, Carlos, Nayana, Camila, Greicy, Tatiana, Manuel, Rafaela, Isabelle, Dara, Adriana, Caren, Giovanna, Mércia, Eduardo e Charliene. Obrigada por tornarem os meus dias mais alegres!

Ao Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Médica (PPGMM), pela oportunidade.

À Carol, secretária do PPGMM, pela acolhida, conselhos e instruções.

Aos alunos de iniciação científica, Paulo Henrique, Luna, Paloma e Gabi, pela disponibilidade em ajudar.

À minha amiga Arisa, pela paciência, apoio e motivação.

Aos professores da banca examinadora, pelas importantes contribuições.

Ao CNPq e CAPES, pelo apoio financeiro.

“A fé e a razão constituem como que as duas asas pelas quais o espírito humano se eleva para a contemplação da verdade.” (JOÃO PAULO II, 1998, p. 1).

## RESUMO

A esquizofrenia é um transtorno neurodesenvolvimental desencadeado por fatores ambientais como infecções virais em períodos iniciais da vida. Neste contexto, o modelo animal induzido pela ativação imune neonatal, pelo vírus mimético *Polyinosinic-polycytidylic acid* (Poly(I:C)) como um primeiro desafio, contribuindo para a vulnerabilidade da prole ao desenvolvimento de anormalidades neuroimunes e comportamentais, associado ao estresse na puberdade, como um segundo desafio tem ganho evidência nos últimos anos. Estudos apontam que, ao atenuar reações inflamatórias ocasionadas pelo estresse na adolescência, é possível prevenir a esquizofrenia. Sabe-se que os ácidos graxos poli-insaturados  $\omega$ -3 (ômega-3), podem reduzir sintomas da esquizofrenia, apresentando-se como uma boa estratégia na prevenção de psicose em indivíduos com risco elevado para o transtorno. Mediante as propriedades neuroprotetoras do ômega-3, o presente estudo buscou avaliar os efeitos deste ácido graxo, bem como a influência do sexo, sobre alterações comportamentais e oxidativas em animais submetidos ao modelo de esquizofrenia por desafio imune neonatal, combinado a estresse na adolescência. Camundongos Swiss, machos e fêmeas, foram divididos em 4 grupos após o nascimento. O Poly(I:C) foi administrado durante os dias pós-natais (DPN) 5, 6 e 7, uma vez ao dia (2 mg/Kg, i.p.). Do DPN35 ao DPN43, os animais foram submetidos a eventos estressores imprevisíveis. A administração de ácidos graxos poli-insaturados  $\omega$ -3 ocorreu do DPN30 ao DPN 60. Os testes de inibição pré-pulso (IPP), interação social e labirinto em Y, conduzidos entre os DPNs 70 e 72, avaliaram, respectivamente, as alterações comportamentais relacionadas aos sintomas positivos, negativos e cognitivos da esquizofrenia. Em busca de alterações neurobiológicas da esquizofrenia, foram analisados os níveis de glutathiona reduzida (GSH), nitrito e substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) em áreas cerebrais e no sangue dos animais quando adultos. As análises estatísticas foram realizadas por ANOVA de duas vias, seguida pelo teste de Tukey. O nível de significância foi definido como  $P \leq 0,05$ . Os resultados mostraram que machos e fêmeas, submetidos aos dois desafios, apresentaram déficits consideráveis de IPP, interação social e memória de trabalho. O ômega-3 preveniu, em ambos os sexos, estes déficits. Quanto aos parâmetros de estresse oxidativo, verificou-se que as fêmeas do grupo salina apresentaram níveis elevados de GSH no córtex pré-frontal (CPF), hipocampo (HC), corpo estriado (CE) e plasma, em comparação aos machos. Fêmeas submetidas aos dois desafios exibiram níveis reduzidos de GSH no CPF, CE e plasma. No que se referem aos níveis de nitrito, constatou-se que o ômega-3 preveniu, em fêmeas submetidas ao modelo de dois desafios, o aumento dos níveis de nitrito no CPF, HC e CE. Machos submetidos ao desafio imune neonatal, combinado a estresse na adolescência, apresentaram níveis elevados de nitrito no plasma, em comparação ao grupo salina. O ômega-3 preveniu, de forma significativa, o aumento dos níveis de TBARS no CPF, HC e CE de machos submetidos ao modelo de dois desafios. Observou-se, ainda, que o ômega-3 preveniu, em fêmeas submetidas aos dois desafios, o aumento dos níveis de TBARS no plasma. Os resultados sugerem que este ácido graxo poli-insaturado se apresenta, portanto, como uma alternativa acessível e eficaz na prevenção de alterações comportamentais e oxidativas relacionadas à esquizofrenia.

**Palavras-chave:** Esquizofrenia. Ácidos graxos ômega-3. Diferença de sexo. Desafio imune neonatal. Estresse oxidativo.

## ABSTRACT

Schizophrenia is a neurodevelopmental disorder triggered by environmental factors, such as viral infections in early stages of life. In this context, an animal model induced by neonatal immune activation has gained evidence in recent years, with the Polyinosinic-polycytidylic acid mime virus (Poly(I:C)) as a first challenge, contributing to the vulnerability of offspring to the development of neuroimmune and behavioral abnormalities associated with stress in the puberty as a second challenge. Studies indicate that by attenuating inflammatory reactions caused by stress in adolescence, it is possible to prevent schizophrenia. It is known that omega-3, a long-chain polyunsaturated fatty acid, can reduce symptoms of schizophrenia and is a good strategy in preventing psychosis in individuals at high risk for the disorder. Based on the neuroprotective properties of omega-3, the present study evaluated the effects of this fatty acid and the influence of sex on behavioral and oxidative changes in animals submitted to the schizophrenia model induced by neonatal immune challenge, combined with adolescence stress. Swiss mice, male and female, were divided into 4 groups after birth. Poly(I:C) was administered in postnatal days (PND) 5, 6 and 7 once a day (2 mg/Kg, i.p.). From PND35 to PND43, the animals were submitted to unpredictable stress events. Administration of n-3 polyunsaturated fatty acids occurred from PND30 to PND60. Pre-pulse inhibition (PPI), social interaction, and Y maze tests, conducted between PND70 and PND72, evaluated the behavioral changes associated to the positive, negative and cognitive symptoms of schizophrenia, respectively. Reduced glutathione (GSH), nitrite and thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) were investigated in brain areas and in the blood of the animals as adults in the search for neurobiological alterations of schizophrenia. Statistical analyzes were performed by two-way ANOVA, followed by the Tukey test. Significance level was defined as  $P \leq 0.05$ . The results showed that male and female mice, submitted to both challenges, presented considerable deficits in IPP, social interaction and working memory. Omega-3 prevented these deficits in both sexes. Regarding the parameters of oxidative stress, the female saline group presented high levels of GSH, in comparison to male. Females submitted to both challenges exhibited reduced levels of GSH. Regarding nitrite levels, it was verified that omega-3 prevented, in females submitted to the two-hit model, the increase of nitrite levels in the prefrontal cortex (CPF), hippocampus (HC) and striatum (ST). Males submitted to neonatal immune challenge, combined with stress in adolescence, presented high levels of plasma nitrite in comparison to the saline group. Omega-3 significantly prevented the increase of TBARS levels in CPF, HC and EC of males submitted to the two-hit model. It was also observed that omega-3 prevented, in females submitted to both challenges, the increase of plasma TBARS levels. The results suggest that this polyunsaturated fatty acid is therefore an accessible and effective alternative in the prevention of behavioral and oxidative alterations related to schizophrenia.

**Keywords:** Schizophrenia. Omega-3 fatty acids. Difference of sex. Neonatal immune challenge. Oxidative stress.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Evolução da esquizofrenia ao longo das fases da doença .....	20
Figura 2 – Regulação da função dopaminérgica por meio dos sistemas glutamatérgico e GABAérgico .....	24
Figura 3 – Espécies reativas, estresse oxidativo e sistemas de defesa antioxidante.....	27
Figura 4 – Estrutura dos ácidos eicosapentaenoico (EPA) e docosaexaenoico (DHA) .....	36
Figura 5 – Protocolo experimental .....	43
Figura 6 – Teste de inibição pré-pulso .....	45
Figura 7 – Teste do labirinto em Y .....	46
Figura 8 – Teste de interação social .....	46
Figura 9 – Influência do sexo e efeito do ômega-3 sobre a trajetória percorrida durante o teste de interação social em animais submetidos ao modelo de esquizofrenia por dois desafios .....	56

## LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 – Influência do sexo e efeito do ômega-3 sobre a porcentagem de inibição pré-pulso (IPP) em animais submetidos ao modelo de esquizofrenia por dois desafios .....	51
Gráfico 2 – Influência do sexo e efeito do ômega-3 sobre a porcentagem de alterações corretas (Y-maze) em animais submetidos ao modelo de esquizofrenia por dois desafios .....	52
Gráfico 3 – Influência do sexo e efeito do ômega-3 sobre a preferência social de animais submetidos ao modelo de esquizofrenia por dois desafios .....	54
Gráfico 4 – Influência do sexo e efeito do ômega-3 sobre os níveis de GSH em cérebro e plasma de animais submetidos ao modelo de esquizofrenia por dois desafios .....	58
Gráfico 5 – Influência do sexo e efeito do ômega-3 sobre os níveis de nitrito em cérebro e plasma de animais submetidos ao modelo de esquizofrenia por dois desafios .....	60
Gráfico 6 – Influência do sexo e efeito do ômega-3 sobre os níveis de TBARS em cérebro e plasma de animais submetidos ao modelo de esquizofrenia por dois desafios .....	62

## LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Grupos experimentais .....	42
Quadro 2 – Protocolos de estresse .....	42

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AGE	ácido graxo essencial
AGPI	ácido graxo poli-insaturado
AL	ácido linoleico
ALA	ácido $\alpha$ -linolênico
ATC	ácido tricloroacético
BDNF	fator neurotrófico derivado do cérebro
CAT	catalase
CE	corpo estriado
CEUA	Comissão de Ética no Uso de Animais
COMT	catecol-O-metiltransferase
CONCEA	Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal
COX	cicloxigenase
CPF	córtex pré-frontal
CPF <sub>DL</sub>	córtex pré-frontal dorsolateral
DA	dopamina
DG	dia gestacional
DHA	ácido docosaenoico
DISC1	<i>disrupted-in-schizophrenia</i>
DNA	ácido desoxirribonucleico
DPN	dia pós-natal
DTNB	5,5-ditiobis (ácido 2-nitrobenzóico)
EPA	ácido eicosapentaenoico
ERNs	espécies reativas de nitrogênio
EROs	espécies reativas de oxigênio
GABA	ácido gama-aminobutírico
GSH	glutathiona reduzida
GSH-Px	glutathiona peroxidase
GSR	glutathiona redutase
GSSG	glutathiona oxidada
HC	hipocampo
HClO <sub>4</sub>	ácido perclórico

H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	peróxido de hidrogênio
IL-1 $\beta$	interleucina-1 $\beta$
IL-6	interleucina-6
INF- $\alpha$	interferon- $\alpha$
INF- $\beta$	interferon- $\beta$
IPP	inibição pré-pulso
KCl	cloreto de potássio
LCR	líquido cefalorraquidiano
L-DOPA	L-3,4-dihidroxifenilalanina
LPS	lipopolissacarídeo
MDA	malondialdeído
NADPH	nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato reduzida
NaNO <sub>2</sub>	nitrito de sódio
NMDA	N-metil-D-aspartato
NO	óxido nítrico
NO <sub>2</sub>	dióxido de nitrogênio
NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	nitrito
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	nitrato
nAcc	núcleo accumbens
O <sub>2</sub>	oxigênio
O <sub>2</sub> <sup>-</sup>	superóxido
OH <sup>-</sup>	hidroxila
ONOO <sup>-</sup>	peroxinitrito
PCP	cloridrato de fenciclidina
PIC	<i>Polyinosinic-polycytidylic acid</i>
Poly(I:C)	<i>Polyinosinic-polycytidylic acid</i>
PP	pré-pulso
RNA	ácido ribonucleico
SNC	Sistema Nervoso Central
SOD	superóxido dismutase
TBARS	substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico
TLR	<i>toll-like receptor</i>
TNF- $\alpha$	fator de necrose tumoral- $\alpha$

UFC	Universidade Federal do Ceará
vHip	hipocampo ventral
4-HNE	4-hidroxinonenal
5-LOX	5-lipoxigenase

## LISTA DE SÍMBOLOS

$\alpha$	alfa
$\beta$	beta
cm	centímetro
dB	decibel
g	grama
°C	grau Celsius
Hz	hertz
$\pm$	mais ou menos
®	marca registrada
$\mu\text{g}$	micrograma
$\mu\text{L}$	microlitro
mA	miliampère
mg	miligrama
mL	mililitro
mm	milímetro
ms	milissegundo
min	minuto
nm	nanômetro
nM	nanomolar
n°	número
$\omega$	ômega
%	porcentagem
pH	potencial hidrogeniônico
Kg	quilograma
rpm	rotações por minuto
s	segundo

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	18
<b>1.1</b>	<b>Esquizofrenia</b> .....	18
<b>1.2</b>	<b>Fisiopatologia da esquizofrenia</b> .....	19
<b>1.2.1</b>	<i>Sistemas de neurotransmissores envolvidos na esquizofrenia e sua participação no pródromo</i> .....	21
<b>1.2.2</b>	<i>Estresse oxidativo e esquizofrenia</i> .....	25
<b>1.2.3</b>	<i>Influência do sexo na esquizofrenia</i> .....	29
<b>1.3</b>	<b>Modelos animais de esquizofrenia</b> .....	31
<b>1.3.1</b>	<i>Modelos genéticos</i> .....	31
<b>1.3.2</b>	<i>Modelos induzidos por drogas</i> .....	32
<b>1.3.3</b>	<i>Modelos de lesão</i> .....	32
<b>1.3.4</b>	<i>Modelos neurodesenvolvimentais</i> .....	32
<b>1.4</b>	<b>Esquizofrenia e ômega-3</b> .....	35
<b>2</b>	<b>RELEVÂNCIA E JUSTIFICATIVA</b> .....	39
<b>3</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	40
<b>3.1</b>	<b>Objetivo geral</b> .....	40
<b>3.2</b>	<b>Objetivos específicos</b> .....	40
<b>4</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	41
<b>4.1</b>	<b>Animais</b> .....	41
<b>4.2</b>	<b>Drogas e reagentes</b> .....	41
<b>4.3</b>	<b>Protocolo experimental</b> .....	41
<b>4.3.1</b>	<i>Modelo animal de esquizofrenia induzido por estimulação imune neonatal e estresse na adolescência (modelo de dois desafios)</i> .....	41
<b>4.3.2</b>	<i>Tratamento com ômega-3</i> .....	43
<b>4.4</b>	<b>Testes comportamentais</b> .....	43
<b>4.4.1</b>	<i>Teste de inibição pré-pulso</i> .....	44
<b>4.4.2</b>	<i>Teste do labirinto em Y</i> .....	45
<b>4.4.3</b>	<i>Teste de interação social</i> .....	46
<b>4.5</b>	<b>Coleta de sangue e dissecação das áreas cerebrais</b> .....	47
<b>4.6</b>	<b>Determinação de parâmetros do estresse oxidativo</b> .....	47
<b>4.6.1</b>	<i>Determinação da concentração de glutathiona reduzida (GSH)</i> .....	47

4.6.2	<i>Determinação dos níveis de nitrito</i> .....	48
4.6.3	<i>Determinação dos níveis de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS)</i> .....	48
4.7	<i>Análise estatística</i> .....	49
5	<b>RESULTADOS</b> .....	50
5.1	<b>Influência do sexo e efeito do ômega-3 sobre alterações comportamentais no modelo de esquizofrenia por dois desafios</b> .....	50
5.2	<b>Influência do sexo e efeito do ômega-3 sobre parâmetros oxidativos em cérebro e plasma de animais submetidos ao modelo de esquizofrenia por dois desafios</b> .....	57
6	<b>DISCUSSÃO</b> .....	63
7	<b>CONCLUSÃO</b> .....	71
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	72
	<b>ANEXO A – APROVAÇÃO DA PESQUISA PELA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ (CEUA-UFC)</b> .....	93

# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 Esquizofrenia

Descrita como a doença psiquiátrica mais grave, a esquizofrenia é reconhecida desde a antiguidade, havendo registros assírios na Mesopotâmia (JESTE *et al.*, 1985). Todavia, a psicose foi considerada, até o século XIX, apenas como uma forma de loucura. Neste período, os psiquiatras eram denominados alienistas, sendo a psiquiatria desprezada pela classe médica e temida pela população (KAPLAN, 2008).

Durante o encontro da Associação Alemã de Psiquiatria, em 24 de abril de 1908, o psiquiatra suíço Eugen Bleuler, diretor do Hospital Psiquiátrico *Burghölzli* localizado em Zurique, ministrou uma palestra intitulada *Die Prognose der Dementia Praecox (Schizophreniegruppe)* (KUHN, 2004). Nesta ocasião, ouviu-se, pela primeira vez no contexto psiquiátrico, o termo esquizofrenia, o qual foi utilizado de forma inédita por Bleuler, em artigo, no ano de 1910 e em livro, no ano de 1911 (KAPLAN, 2008).

Segundo Stierlin (1967), as razões pelas quais Eugen Bleuler introduziu o termo esquizofrenia são diversas. A expressão deriva do grego clássico, sendo formada por duas palavras; *schizein*, que significa divisão, e *phren*, originalmente atribuída ao diafragma e, mais tarde, à alma, espírito e mente. O termo era, portanto, evocatório e permitia adjetivação. Deste modo, Bleuler humanizou o conceito.

A esquizofrenia, bem como o transtorno de personalidade esquizotípica e outras desordens psicóticas, é definida mediante anormalidades em um ou mais dos seguintes domínios: delírios, alucinações, pensamento e/ou discurso desorganizado, comportamento motor anormal ou grosseiramente desorganizado, incluindo catatonia, e sintomas negativos (AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION, 2013).

Delírios são crenças fixas que não se alteram mediante indícios conflitantes. O conteúdo deste sintoma abrange uma variedade de temas, com características persecutórias, referenciais, somáticas, religiosas e de grandeza. As alucinações, em contrapartida, são experiências relacionadas à percepção que ocorrem sem estímulos externos (AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION, 2013). Embora as alucinações auditivas sejam as mais comuns, estas manifestações podem ocorrer em qualquer esfera sensorial (TANDON; NASRALLAH; KESHAVAN, 2009). Trata-se, portanto, de sintomas vivos e claros que apresentam a força e o impacto das percepções normais, não havendo controle voluntário (AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION, 2013).

Classificam-se os sintomas da esquizofrenia em positivos, os quais refletem alterações do funcionamento normal e abrangem delírios, alucinações, paranoia e agitação; negativos, que exprimem deficits no funcionamento e incluem isolamento social, embotamento afetivo e falta de motivação; e cognitivos, os quais exprimem deficits na aprendizagem, memória, atenção e funções executivas (FERVAHA *et al.*, 2014; TANDON *et al.*, 2013). Embora os atuais tratamentos visem prioritariamente os sintomas positivos, tendo efeitos modestos nos sintomas negativos e cognitivos, considera-se relevante a busca por novas estratégias de tratamento que enfoquem sintomas negativos e cognitivos (ORELLANA; SLACHEVSKY, 2013).

Em geral, as características desse transtorno mental, considerado devastador, aparecem na adolescência ou início da fase adulta, de forma abrupta ou insidiosa. No entanto, a maioria dos indivíduos apresenta um lento e gradual desenvolvimento de uma variedade de sinais e sintomas clinicamente relevantes. Além disso, a maioria destes pacientes morre mais cedo, cerca de uma década, em comparação com a população em geral (LAURSEN; MUNK-OLSEN; VESTERGAARD, 2012).

O elevado índice de mortalidade na esquizofrenia está mais fortemente associado à comorbidades, como alterações metabólicas e cardiovasculares, do que a fatores reconhecidamente relacionados a distúrbios psiquiátricos, como suicídio ou homicídio (ANNAMALAI; KOSIR; TEK, 2017). Ganho de peso, diabetes, síndrome metabólica, bem como doenças cardiovasculares e pulmonares, são mais comuns em indivíduos com esquizofrenia do que na população em geral. Atribui-se o aumento do risco para doenças crônicas aos medicamentos, estilo de vida, tabagismo e dieta, além do desinteresse por práticas referentes à manutenção da saúde, como exames de rotina e exercícios físicos (AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION, 2013).

Estudos apontam que as taxas de incidência de esquizofrenia variam de 7,7 a 43,0 por 100.000 pessoas (MCGRATH *et al.*, 2004; SAHA; CHANT; MCGRATH, 2008). Acredita-se que, ao longo da vida, a prevalência da esquizofrenia esteja entre 0,3% e 0,7%, embora haja variação quanto à raça/etnia, entre países, assim como origem geográfica para imigrantes e seus descendentes (AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION, 2013).

## **1.2 Fisiopatologia da esquizofrenia**

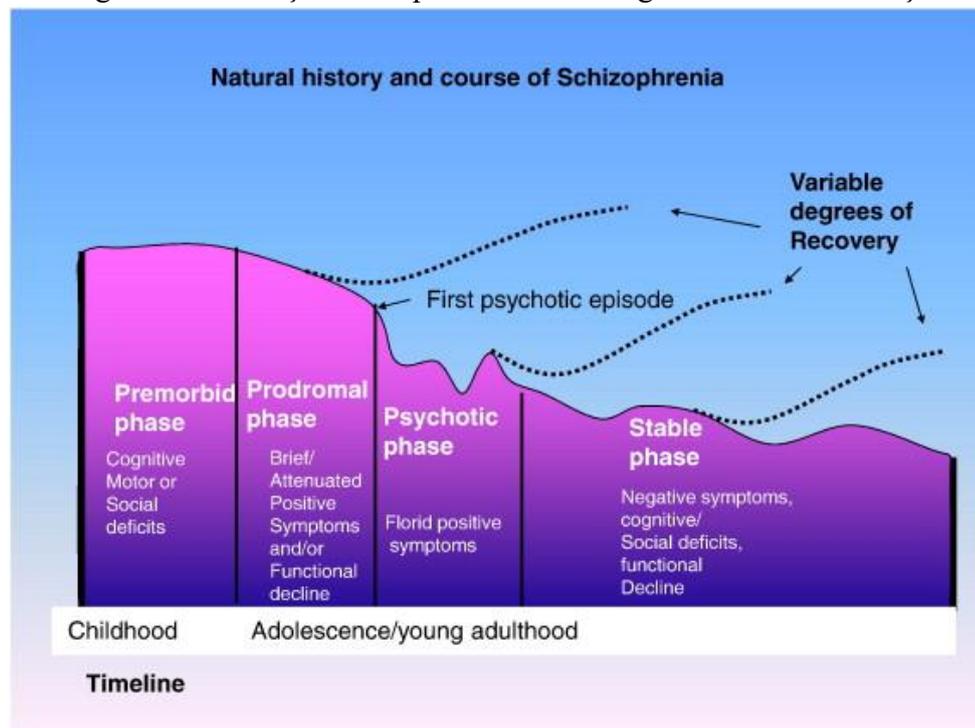
Determinantes genéticos e fatores ambientais ocorridos na vida fetal, sobretudo no final do primeiro e início do segundo trimestre da gestação, ocasionam alterações de longo

prazo no desenvolvimento e funcionamento cerebral na adolescência e idade adulta (JOHNSTONE *et al.*, 1976). Inúmeros fatores ambientais, dentre os quais hipóxia perinatal, hemorragia intraventricular (JOHNSTONE *et al.*, 1976), diabetes, hemorragia durante a gestação, conflito serológico, baixo peso ao nascer, parto pré-termo (HAUSER, 2007) e infecções virais (LEWIS, 2001) podem prejudicar o desenvolvimento do sistema nervoso central (SNC) (WÓJCIAK; REMLINGER-MOLENDA; RYBAKOWSKI, 2016).

Estudos apontam que o uso de canabinoides na adolescência eleva, em quatro vezes, o risco de esquizofrenia (HAUSER, 2007). Quanto aos fatores ambientais, destacam-se, também, a migração (CANTOR-GRAAE; PEDERSEN, 2007) e a urbanização (PEDERSEN; MORTENSEN, 2006).

De acordo com Tandon, Nasrallah e Keshavan (2009), a esquizofrenia apresenta quatro fases: pré-mórbida, prodrômica, psicótica e estável ou crônica (FIGURA 1). A fase pré-mórbida se caracteriza por atrasos no desenvolvimento motor, isolamento social, embotamento afetivo e deficits quanto à linguagem receptiva, desempenho acadêmico e atenção (SCHENKEL; SILVERSTEIN, 2004). O pródromo, período que antecede o início da psicose, exhibe sintomas psicóticos breves/atenuados, assim como deficits cognitivos, declínio funcional, sintomas negativos, bem como relacionados ao humor (CORNBLOTT *et al.*, 1999).

Figura 1 – Evolução da esquizofrenia ao longo das fases da doença



Fonte: Tandon, Nasrallah e Keshavan (2009).

Em geral, o primeiro episódio psicótico inicia com um aumento dos sintomas negativos e alterações do humor, acompanhados por elevada expressão de sintomas positivos que, após resolução, são interrompidos, embora possam ressurgir facilmente (CAMERON, 1938; CHAPMAN, 1966; CUNNINGHAM OWENS *et al.*, 2005; DOCHERTY *et al.*, 1978; DONLON; BLACKER, 1973; DRAKE *et al.*, 2003; ROTH, 1970; TANDON; GREDEN, 1989). Após este período inicial, marcado por vulnerabilidade quanto à deterioração, atinge-se um platô, indicando remissão ou cronicidade (THARA, 2004). Nesta fase, a doença estabiliza, não havendo, na maioria dos casos, declínio funcional consistente e aumento dos sintomas residuais, embora possam ocorrer exacerbações subsequentes (TANDON; NASRALLAH; KESHAVAN, 2009).

Estudos de neuroimagem, com enfoque nas estruturas do SNC na esquizofrenia, verificaram um alargamento dos ventrículos laterais, terceiro ventrículo, assim como dos sulcos e fissuras cerebrais (WÓJCIAK; REMLINGER-MOLENDA; RYBAKOWSKI, 2016). Observaram-se, também, atrofia cortical, assim como redução nos volumes da amígdala, tálamo e hipocampo (JOHNSTONE *et al.*, 1976).

Wood *et al.* (2011) constataram, na fase inicial da esquizofrenia, uma diminuição do volume de substância cinzenta presente no córtex frontal, havendo uma posterior tendência à intensificação das alterações. Ressalta-se que o alargamento dos ventrículos laterais não foi visualizado na fase inicial, mas, sim, em períodos subsequentes. Alcançaram-se resultados semelhantes, no que se referem ao hipocampo, giro temporal superior e córtex insular.

### ***1.2.1 Sistemas de neurotransmissores envolvidos na esquizofrenia e sua participação no pródromo***

Os sistemas de monoaminas do cérebro (dopamina, serotonina e noradrenalina) desempenham funções relevantes, no que se refere ao comportamento normal. Alterações patológicas nestes circuitos estão, portanto, relacionadas às condições neurológicas e psiquiátricas. O sistema dopaminérgico está envolvido em vários aspectos da função cerebral, dentre os quais locomoção, afeto e cognição. Os neurônios dopaminérgicos se localizam, principalmente, no mesencéfalo, sendo subdivididos quanto à localização, sítios de projeção e função comportamental (GRACE, 2016).

Dentre as teorias que visam explicar a etiologia da esquizofrenia, a hipótese dopaminérgica se destaca há mais de quarenta anos (HOWES *et al.*, 2012). As origens desta hipótese se remetem a duas linhas de evidências. A primeira estabeleceu, mediante ensaios

clínicos, que agonistas dopaminérgicos e estimulantes podem induzir psicoses em indivíduos saudáveis, assim como agravar o quadro em pacientes com esquizofrenia (CONNELL, 1957). A segunda se refere à descoberta de que drogas antipsicóticas interferem no sistema dopaminérgico (CARLSSON; LINDQVIST, 1963). Posteriormente, verificou-se que a potência destes medicamentos estava associada à afinidade por receptores D<sub>2</sub> de dopamina (SEEMAN; LEE, 1975).

O estado de excessiva estimulação dopaminérgica, atribuído aos pacientes com esquizofrenia, foi reestruturado como um desequilíbrio entre o excesso subcortical de dopamina (DA) e a exiguidade de DA cortical, sugerindo, portanto, um déficit no córtex pré-frontal, além do relevante papel da DA ao mediar processos cognitivos que envolvem a região pré-frontal (DAVIS *et al.*, 1991).

Tem-se verificado, na esquizofrenia, elevada ocupação basal de receptores D<sub>2/3</sub> pela DA, indicando níveis aumentados deste neurotransmissor durante o repouso (ABI-DARGHAM *et al.*, 2000; KEGELES *et al.*, 2010). Segundo Abi-Dargham *et al.* (2009), a liberação estriatal de dopamina, assim como seus níveis basais, estão estreitamente relacionados no transtorno.

O estudo de Slifstein *et al.* (2015) mostrou que indivíduos com esquizofrenia apresentam, após o desafio com anfetamina, uma liberação reduzida de DA no córtex pré-frontal dorsolateral (CPF<sub>DL</sub>), havendo relação com a atividade desta região durante uma tarefa que exige memória de trabalho. Deste modo, tem-se utilizado a hipofunção dopaminérgica no CPF<sub>DL</sub> para elucidar os sintomas negativos e cognitivos.

Substâncias que conduzem à liberação de DA ou aumentam sua transmissão, como L-3,4 dihidroxifenilalanina (L-DOPA) e anfetaminas, acentuam a psicose em pacientes com esquizofrenia. Além disso, induzem sintomas, semelhantes ao transtorno, em indivíduos saudáveis que, porventura, recebem doses repetidas ou elevadas (JANOWSKY *et al.*, 1973).

A utilização de avaliações clínicas estruturadas viabilizou a identificação de coortes com sintomas prodrômicos, em que o risco de transição para psicose pode atingir 40%, ainda que alguns estudos apontem taxas menores (YUNG *et al.*, 2003). Inúmeras pesquisas demonstram que indivíduos, com elevado risco para psicose, apresentam anormalidades dopaminérgicas (HOWES *et al.*, 2017). Ressalta-se que o bloqueio da dopamina, por meio do tratamento antipsicótico, se mostra eficaz na redução da intensidade de sintomas prodrômicos (MCGLASHAN *et al.*, 2006; RUHRMANN *et al.*, 2007) e no aumento periférico de metabólitos dopaminérgicos (SUMIYOSHI *et al.*, 2000).

Segundo Howes *et al.* (2017), o funcionamento dopaminérgico se encontra instável em indivíduos prodrômicos que, posteriormente, evoluem para esquizofrenia. Estas alterações,

no entanto, não se apresentam com tanta evidência em pacientes com o transtorno, havendo um maior desequilíbrio do pródromo para a psicose.

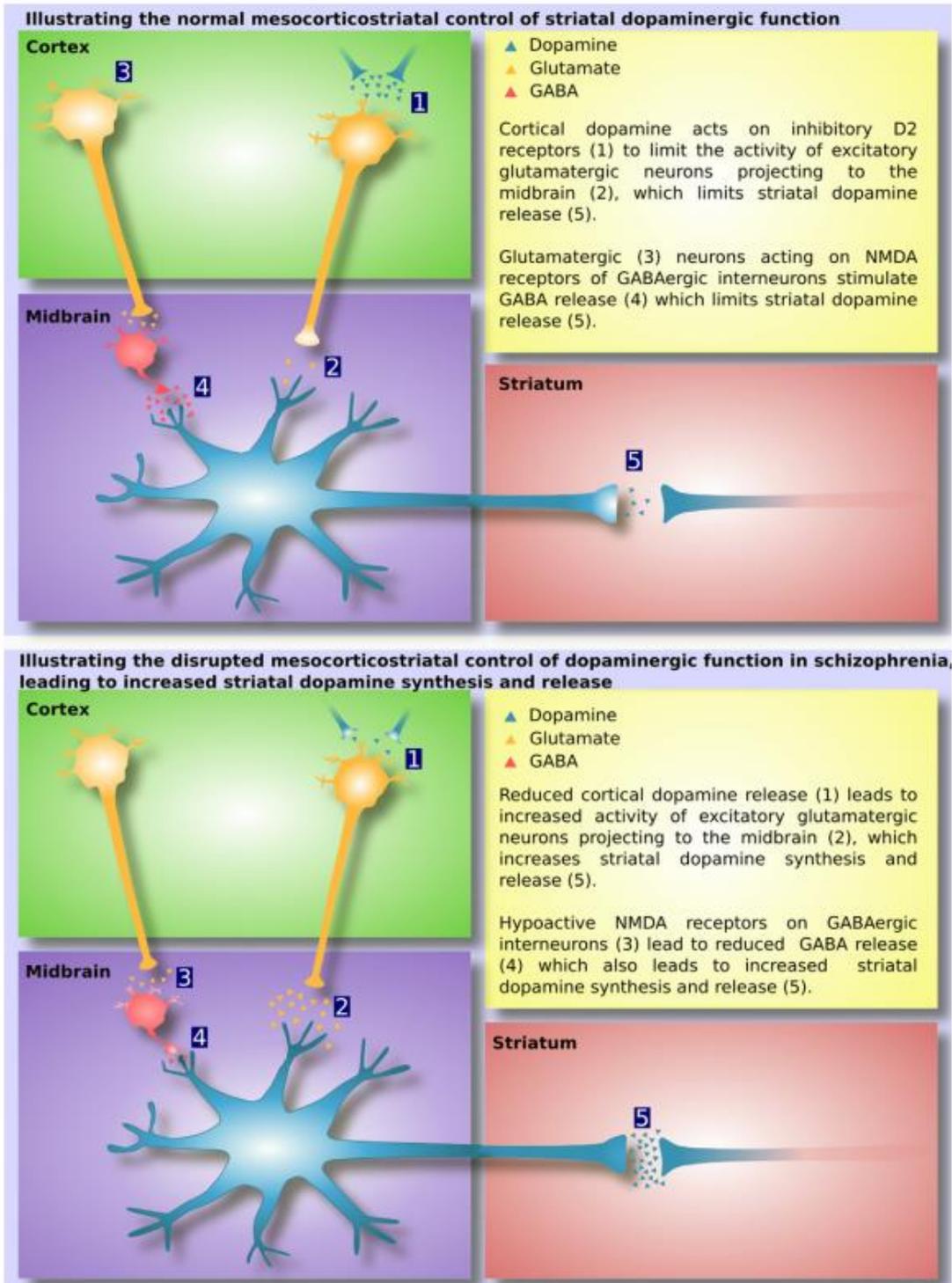
Olney, Newcomer e Farber (1999) propuseram, a partir da hipofunção dos receptores glutamatérgicos tipo N-metil-D-aspartato (NMDA), um mecanismo capaz de esclarecer, em parte, a sintomatologia e o desenvolvimento natural da esquizofrenia. A via glutamatérgica, implicada em funções cognitivas importantes como memória e aprendizado, se difunde no SNC, onde se configura o maior sistema excitatório (BRESSAN; PILOWSKY, 2003).

Os receptores NMDA integram uma classe de receptores glutamatérgicos que, quando ativada, intervém na neurotransmissão excitatória mediante a passagem de cátions não seletivos, incluindo  $Ca^{2+}$ , através do canal (LAKHAN; CARO; HADZIMICHALIS, 2013). Abundantes e extensamente distribuídos no cérebro, estes receptores exercem funções significativas quanto à plasticidade sináptica e memória (STEPHENSON; COUSINS; KENNY, 2008).

Há indícios de que a hipofunção de receptores NMDA impede o equilíbrio inibitório/excitatório em interneurônios, ocasionando o aumento da liberação de DA (HOWES; MCCUTCHEON; STONE, 2015; JACKSON; HOMAYOUN; MOGHADDAM, 2004; VERNALEKEN *et al.*, 2013). Por intermédio do glutamato e do ácido gama-aminobutírico (GABA), os sistemas glutamatérgico e GABAérgico possuem, respectivamente, efeitos excitatórios e inibitórios na função dopaminérgica, indicando que variantes genéticas, nestes sistemas, podem alterar a regulação de DA na esquizofrenia (FIGURA 2).

Segundo Grace (2016), a hiperatividade dopaminérgica hipocampal, verificada em indivíduos com esquizofrenia, está relacionada a um decréscimo considerável no número de interneurônios GABAérgicos que expressam parvalbumina.

Figura 2 – Regulação da função dopaminérgica por meio dos sistemas glutamatérgico e GABAérgico



Fonte: Howes *et al.* (2017).

### 1.2.2 Estresse oxidativo e esquizofrenia

O estresse oxidativo advém da presença copiosa de espécies reativas de oxigênio (EROs) e espécies reativas de nitrogênio (ERNs), apontadas como moléculas extremamente reativas. A presença de EROs e ERNs resulta, portanto, de estímulos desfavoráveis que produzem óxidos além da capacidade para reduzi-los, propiciando uma instabilidade entre os sistemas oxidativo e antioxidante (HUANG; LIU, 2017).

Segundo Emiliani, Sedlak e Sawa (2014), a perda da homeostase possibilita que o estresse oxidativo danifique estruturas celulares. Ressalta-se que proteínas, lipídeos e ácido desoxirribonucleico (DNA) são os principais alvos desta condição (VALKO *et al.*, 2007). Os tecidos possuem vulnerabilidades distintas quanto ao estresse oxidativo (CIOBICA *et al.*, 2011). Os níveis moderadamente baixos de antioxidantes, assim como altos níveis de ácidos graxos poli-insaturados, elevado teor de metais e utilização de oxigênio possibilitam que o tecido cerebral seja o mais susceptível ao dano oxidativo (HRITCU; CIOBICA; ARTENIE, 2008; SMITH, 2006; SULTANA *et al.*, 2008).

A formação de radicais livres deriva de várias exposições ambientais, bem como do metabolismo normal, abrangendo, inclusive, neurotransmissores relacionados à esquizofrenia, como dopamina e glutamato (FLATOW; BUCKLEY; MILLER, 2013). O insucesso na intervenção antioxidante, contra as espécies reativas, acarreta danos às membranas celulares, os quais resultam em disfunção capaz de afetar a neurotransmissão e a sintomatologia na esquizofrenia (YAO; KESHAVAN, 2011).

Fundamental no fornecimento de energia para a célula, a fosforilação oxidativa é uma prevalente fonte fisiológica de EROs, assim como nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato reduzida (NADPH) oxidase. Sabe-se que NADPH-oxidase oxida NADPH, doando os elétrons para a molécula de oxigênio ( $O_2$ ), a fim de produzir superóxido ( $O_2^-$ ) (EMILIANI; SEDLAK; SAWA, 2014). De acordo com Bitanhirwe e Woo (2011), o peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ), bem como os radicais superóxido ( $O_2^-$ ) e hidroxila ( $OH^-$ ), são as EROs mais relevantes em humanos. Quanto às ERNs, destacam-se o óxido nítrico (NO) e o peroxinitrito ( $ONOO^-$ ).

Existem inúmeros mecanismos celulares para equilibrar a síntese de espécies reativas, ressaltando-se as vias enzimática e não enzimática (NORDBERG; ARNÉR, 2001). Apontada como o maior sistema de defesa antioxidante nas células, a via enzimática abrange três importantes enzimas: superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e glutationala peroxidase (GSH-Px). Nos fluidos extracelulares, dentre os quais plasma e líquido cefalorraquidiano, destaca-se, em contrapartida, a via não enzimática (HUANG; LIU, 2017), a qual engloba as

vitaminas A, C e E (tocoferol), glutatona, ácido úrico, albumina e bilirrubina (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 1990).

No passo taxa-limitante referente ao catabolismo de purinas, a xantina oxidase catalisa a conversão de xantina para ácido úrico, além de produzir radicais superóxidos. A SOD, por sua vez, catalisa a conversão de radicais superóxidos em  $H_2O_2$ . A CAT, bem como a GSH-Px, converte  $H_2O_2$  em água e oxigênio. A glutatona reduzida (GSH) é oxidada por GSH-Px, gerando glutatona oxidada (GSSG). A GSH-Px também converte nitrato ( $NO_3^-$ ), um subproduto do NO, em nitrito. Constantemente, utiliza-se o nitrito como um marcador da atividade do NO. Sabe-se que os radicais hidroxila, produzidos a partir de  $H_2O_2$  e NO, provocam apoptose, carbonilação de proteínas, peroxidação lipídica e danos ao DNA. A vitamina C possibilita a reciclagem de radicais, formados por meio da ação antioxidante da vitamina E ao inibir a peroxidação lipídica, conforme a Figura 3 (FLATOW; BUCKLEY; MILLER, 2013).

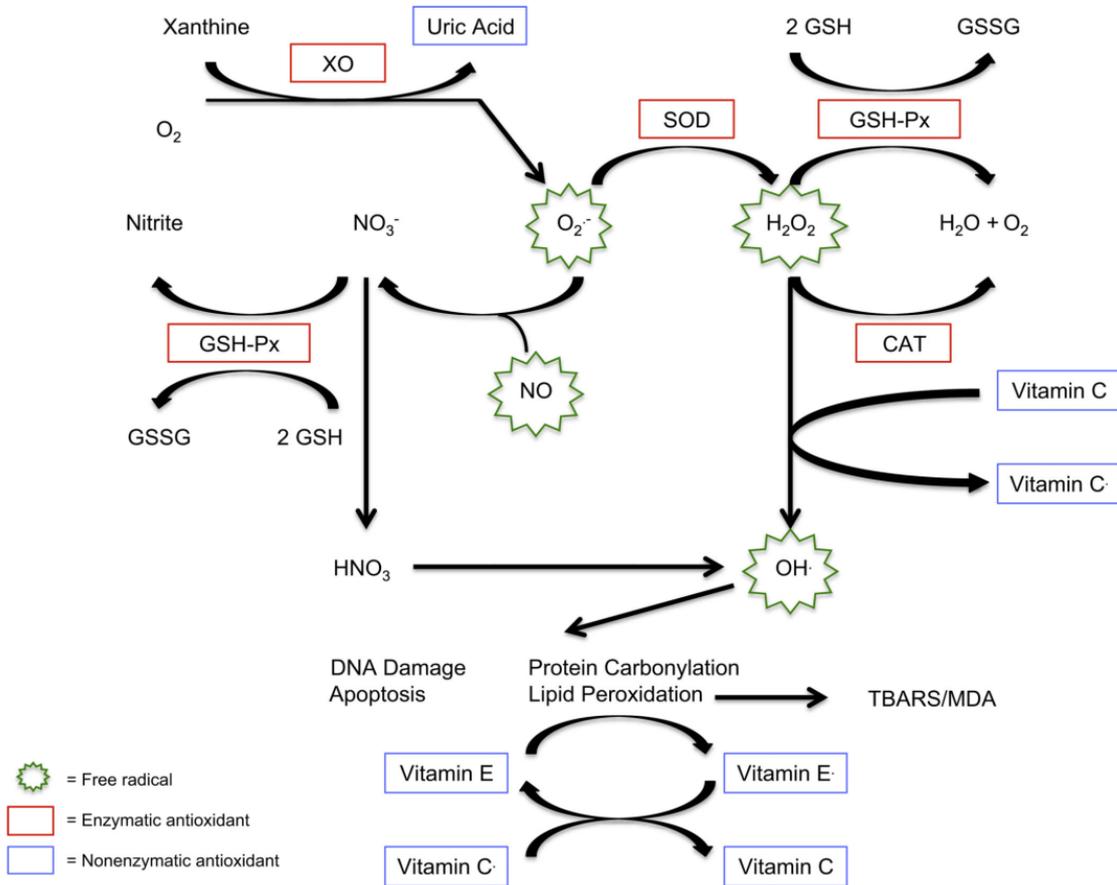
O método mais utilizado para mensurar a peroxidação lipídica tem como marcadores as substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) (BOŠKOVIĆ *et al.*, 2011). Constituídas, principalmente, por malondialdeído (MDA), as TBARS apresentam baixo peso molecular. O MDA se forma mediante a decomposição de produtos instáveis da peroxidação lipídica e reagem com o ácido tiobarbitúrico, produzindo substâncias fluorescentes (FUKUNAGA; YOSHIDA; NAKAZONO, 1998).

Estudos apontam que a associação entre neuroinflamação e estresse oxidativo desempenha um papel significativo na fisiopatologia da esquizofrenia (ANDERSON, 2011; ANDERSON *et al.*, 2013). Pacientes com esquizofrenia apresentam estresse oxidativo e níveis irregulares de antioxidantes, como GSH, em tecidos periféricos e neurônios no SNC (DO; CUENOD; HENSCH, 2015; GAWRYLUK *et al.*, 2011). Segundo Kim e Na (2017), a escassez de glutatona contribui para o desenvolvimento da esquizofrenia, mediante ações relacionadas aos receptores NMDA. Em circunstâncias fisiológicas normais, a glutatona favorece a neurotransmissão glutamatérgica por intermédio destes receptores.

Verificou-se, por meio de pesquisas com animais, que a glutatona atua como agonista em receptores NMDA (KÖHR *et al.*, 1994; LESLIE *et al.*, 1992). De acordo com Gawryluk *et al.* (2011), níveis insuficientes de glutatona estão relacionados a deficits neurológicos em diversas doenças neuropsiquiátricas. Há, portanto, uma correlação negativa entre os níveis cerebrais de GSH e a intensidade dos sintomas negativos, como embotamento afetivo, perda da volição e isolamento social (BERK *et al.*, 2008; MATSUZAWA; HASHIMOTO, 2011). Correlacionam-se níveis limitados de GSH ou GSH-Px com perda da

plasticidade sináptica e cognição (ALMAGUER-MELIAN; CRUZ-AGUADO; BERGADO, 2000; MASSAAD; KLANN, 2011).

Figura 3 – Espécies reativas, estresse oxidativo e sistemas de defesa antioxidante



Fonte: Flatow, Buckley e Miller (2013).

Existem evidências da relação entre alterações genéticas e estruturais da mitocôndria com diversas doenças psiquiátricas (CATALDO *et al.*, 2010; FATTAL *et al.*, 2006). Kim e Na (2017) ressaltam que o metabolismo da mitocôndria leva à produção de EROs. Segundo Hruszkewycz (1992), o DNA desta organela é suscetível ao estresse oxidativo porque se encontra na matriz mitocondrial, onde há vasta produção de EROs.

Deste modo, a peroxidação lipídica da membrana mitocondrial gera moléculas tóxicas que alteram sua fluidez, como 4-hidroxinonenal (4-HNE) e MDA (CHEN; YU, 1994; KELLERAB *et al.*, 1997). Danos à membrana mitocondrial provocam desajuste no balanço iônico, além do exorbitante influxo de cálcio para o meio intracelular, ocasionando morte neuronal e diminuição da plasticidade sináptica (HAZLETT *et al.*, 2004; KEATING, 2007; MARTINS-DE-SOUZA *et al.*, 2011).

Possivelmente, de acordo com Ranjekar *et al.* (2003), há diminuição dos níveis de enzimas antioxidantes nos estágios iniciais do transtorno psicótico, a qual depende do tipo de medicação, intensidade da psicopatologia ou fatores ambientais. Em contrapartida, Altuntas *et al.* (2000) indicaram que a redução da defesa antioxidante ocorre mais tarde, em indivíduos cronicamente tratados com antipsicóticos. Vários estudos demonstraram que o estresse oxidativo, assim como os danos, se manifestam nas diferentes fases da esquizofrenia; não tratada, inicial, com tratamento e crônica (OTHMEN *et al.*, 2008; SIVRIOGLU *et al.*, 2007; USTUNDAG *et al.*, 2006; YAO; LEONARD; REDDY, 2006).

Segundo Yao e Reddy (2011), há redução de antioxidantes não enzimáticos no plasma de pacientes com esquizofrenia (albumina, ácido úrico, ácido ascórbico e vitamina E), além da escassez de GSH no CPF *in vivo*, região caudal do cérebro *post-mortem* e líquido cefalorraquidiano (LCR). Verificou-se, ainda, que estes indivíduos apresentam níveis reduzidos de SOD, CAT e GSH-Px (LI *et al.*, 2006; OTHMEN *et al.*, 2008; RANJEKAR *et al.*, 2003).

Observaram-se níveis reduzidos de SOD em eritrócitos de pacientes com primeiro episódio de psicose, bem como de indivíduos tratados ambulatorialmente (EVANS *et al.*, 2003; FLATOW; BUCKLEY; MILLER, 2013). Constataram-se resultados similares no LCR de pacientes com esquizofrenia de início recente (COUGHLIN *et al.*, 2013). Por outro lado, estudos indicam redução dos níveis de SOD no plasma de indivíduos com esquizofrenia (MARTÍNEZ-CENGOTITABENGOA *et al.*, 2012). Othmen *et al.* (2008) associaram sintomas positivos com níveis elevados de SOD.

Relataram-se índices elevados de TBARS no plasma (DIETRICH-MUSZALSKA; OLAS, 2009; ZHANG *et al.*, 2006), eritrócitos (ALTUNTAS *et al.*, 2000; HERKEN *et al.*, 2001), leucócitos (SRIVASTAVA *et al.*, 2001) e plaquetas (DIETRICH-MUSZALSKA; OLAS; RABE-JABLONSKA, 2005) de pacientes com esquizofrenia.

Yao, Leonard e Reddy (2004) verificaram, no núcleo caudado *post-mortem*, um aumento na síntese de NO. Embora inconsistentes, diversos estudos investigaram a presença de nitrito no plasma e a atividade da óxido nítrico sintase, assim como os níveis de NO em eritrócitos, plaquetas e soro (YAO; REDDY, 2011).

Além de apontarem os efeitos do estresse oxidativo sobre a fisiopatologia da esquizofrenia, inúmeras evidências demonstram um desequilíbrio entre os sistemas oxidante e antioxidante, o qual acarreta danos teciduais, aumento da oxidação e agravos ao sistema de defesa antioxidante. Alterações no sistema antioxidante estão, portanto, vinculadas aos sintomas clínicos, desenvolvimento e prognóstico da esquizofrenia (HUANG; LIU, 2017).

### 1.2.3 Influência do sexo na esquizofrenia

Diversos estudos, no âmbito da epidemiologia psiquiátrica, têm presente a variável sexo, sobretudo aqueles com enfoque nos fatores de risco que, porventura, ocasionam uma psicopatologia (PEÑALOZA; FUENTEALBA; GALLARDO, 2017). De acordo com Guma *et al.* (2017), algumas heterogeneidades, verificadas em pacientes com psicose, estão, possivelmente, associadas às diferenças em relação ao sexo. Há mais de 100 anos existem, na esquizofrenia, relatos a respeito destas diferenças, em que a principal está relacionada com a idade de início em homens e mulheres (MCGREGOR; RIORDAN; THORNTON, 2017).

Segundo Abel, Drake e Goldstein (2010), além da idade de início, destacam-se, como diferenças, a prevalência, perfil dos sintomas, curso da doença, resposta ao tratamento e prognóstico. Acredita-se que os contrastes em relação ao sexo estejam associados às diferenças quanto à suscetibilidade aos distúrbios neuropsiquiátricos (DRAZANOVA *et al.*, 2018). De acordo com Bao e Swaab (2011), indivíduos do sexo masculino são mais acometidos pela esquizofrenia, visto que aproximadamente 70% dos pacientes são homens.

Estudos apontam que, em mulheres, a idade média de início corresponde ao intervalo de 1 a 5 anos após os homens (CASTLE; SHAM; MURRAY, 1998; ERANTI *et al.*, 2013; HÄFNER, 2003). Em ambos os sexos, a taxa referente ao início reduz, com a idade, após a adolescência. Em mulheres, porém, há um pequeno aumento na incidência durante a perimenopausa e menopausa, entre 45 e 54 anos (HÄFNER, 2003; HAMBRECHT; MAURER; HÄFNER, 1993). Homens, com elevado risco para psicose, apresentam maior risco de conversão do que mulheres (BARAJAS *et al.*, 2015).

Segundo McGregor, Riordan e Thornton (2017), os sintomas negativos/afetivos, assim como os positivos, podem variar entre os sexos. Em geral, as mulheres exibem sintomas negativos menos intensos do que homens (CASTLE; WESSELY; MURRAY, 1993; GOLDSTEIN; LINK, 1988). Estudos apontam que mulheres com psicose demonstram melhor interação social (GROSSMAN *et al.*, 2008; LARSEN *et al.*, 1996; MORGAN; CASTLE; JABLENSKY, 2008), menos incapacidade e maior bem-estar a longo prazo (HANLON *et al.*, 2017). Além disso, dispõem de melhores estratégias para administrar sintomas (MCGLASHAN, 2008; SCHENKEL; SPAULDING; SILVERSTEIN, 2005).

De acordo com Ochoa *et al.* (2012), os pacientes do sexo masculino apresentam sintomas negativos mais acentuados e piores consequências funcionais. Mulheres que desenvolvem esquizofrenia geralmente revelam um melhor curso da doença, em comparação aos homens (MCGREGOR; RIORDAN; THORNTON, 2017). Ochoa *et al.* (2012)

demonstraram que as mulheres detêm menores índices de hospitalização e desemprego, mantêm contato com familiares e amigos e exibem maiores percentuais quanto ao casamento.

Segundo McGregor, Riordan e Thornton (2017), as mulheres com esquizofrenia, em geral, apresentam menor comprometimento cognitivo, em comparação aos homens. Além disso, pacientes do sexo feminino exibem menores prejuízos quanto à velocidade de processamento, função executiva, atenção e memória episódica verbal (GOLDSTEIN *et al.*, 1998; HAN *et al.*, 2012; HOFF *et al.*, 1998; NUECHTERLEIN *et al.*, 2015; RUBIN *et al.*, 2015; SEIDMAN *et al.*, 1997; TORNIAINEN *et al.*, 2011; VASKINN *et al.*, 2011). Ressalta-se, ainda, que as mulheres demandam menores doses de neurolépticos, em relação aos homens (SALOKANGAS, 1995).

Häfner (2003) constatou que homens com esquizofrenia de início tardio manifestam sintomas de menor intensidade, em comparação àqueles com início precoce. Dentre os aspectos que relacionam esquizofrenia e diferença de sexo, destaca-se a inibição pré-pulso (IPP), uma medida que demonstra a habilidade para filtrar estímulos irrelevantes (SWERDLOW *et al.*, 2008). Existem evidências de que homens, com esquizofrenia, exibem acentuados deficits de IPP, em relação à população saudável, ao passo que mulheres, com o transtorno, detêm respostas semelhantes àquelas consideradas saudáveis (BRAFF *et al.*, 1995; KUMARI; AASEN; SHARMA, 2004). Destaca-se que, em geral, os homens apresentam mais deficits de atenção, IPP e memória de curto prazo, enquanto as mulheres exibem maior comprometimento da memória de trabalho (HILL, 2016; LEGER; NEILL, 2016).

Neste contexto, estudos sugerem que os hormônios ovarianos, como o estrógeno, exercem um papel protetor em mulheres (GARCIA-SEGURA; AZCOITIA; DONCARLOS, 2001; GOGOS *et al.*, 2015; HÄFNER, 2003; KULKARNI; HAYES; GAVRILIDIS, 2012; RAO; KÖLSCH, 2003). De acordo com McGregor, Riordan e Thornton (2017), mulheres na pós-menopausa exibem sintomatologia mais grave do que na pré-menopausa, assemelhando-se à intensidade verificada em homens. Seeman (2012) atestou que a redução dos níveis de estrógeno, durante o ciclo menstrual, eleva o número de episódios psicóticos e acentua os sintomas.

Hoff *et al.* (2001) verificaram uma correlação entre níveis elevados de estradiol e melhor desempenho cognitivo. Tem-se, portanto, atribuído a diferença de sexo na esquizofrenia aos efeitos protetores e neuromoduladores dos hormônios sexuais femininos (GOGOS *et al.*, 2015; SUN *et al.*, 2016), uma vez que reduzem a ativação microglial, bem como a neuroinflamação (HANAMSAGAR; BILBO, 2016).

### 1.3 Modelos animais de esquizofrenia

Os modelos animais de transtornos psiquiátricos complexos são ferramentas pré-clínicas importantes, com as quais se analisa a base neurobiológica da doença. Estes modelos experimentais proporcionam estratégias mais rápidas para averiguar a progressão do transtorno, além de possibilitarem a realização do acompanhamento invasivo de alterações estruturais e moleculares subjacentes à causa da doença e os ensaios terapêuticos inexecutáveis em pacientes (JONES; WATSON; FONE, 2011). De acordo com Carpenter e Koenig (2008), constituíram-se mais de 20 modelos animais de esquizofrenia distintos. Jones, Watson e Fone (2011) ressaltam que estes modelos se ajustam em quatro categorias de indução: desenvolvimental, induzida por drogas, lesão ou manipulação genética.

#### 1.3.1 Modelos genéticos

Estudos com gêmeos indicam que a esquizofrenia é um transtorno prevalentemente genético, com herdabilidade em torno de 80%. Todavia, nenhuma alteração genética é causal ou suficiente para explicitar esta doença (JONES; WATSON; FONE, 2011). Existem inúmeros genes relacionados com o aumento do risco para esquizofrenia (ALLEN *et al.*, 2008; GOGOS; GERBER, 2006).

Além de ocasionar a síndrome velocardiofacial, a microdeleção cromossômica 22q11.2 se correlaciona com a síndrome *schizophrenia-like* (semelhante à esquizofrenia) em torno de 30% dos casos (GREEN *et al.*, 2009). Outro exemplo de modelo experimental é a translocação, que interrompe o gene *disrupted-in-schizophrenia* (DISC1), o qual foi inicialmente vinculado à esquizofrenia em uma família escocesa. Desta forma, produziram-se camundongos com mutações neste gene, provocando, em alguns, anormalidades comportamentais associadas ao transtorno (NESTLER; HYMAN, 2010).

As associações entre o polimorfismo valina/metionina (val/met), no gene que codifica a enzima catecol-O-metiltransferase (COMT), e a esquizofrenia são controversas, assim como outras variantes que ocasionam pequenos impactos sobre o risco (ALLEN *et al.*, 2008). Destaca-se que a COMT é uma enzima importante no metabolismo das monoaminas, dentre as quais a dopamina (KARAYIORGOU *et al.*, 1998; SHASHI *et al.*, 2006).

### ***1.3.2 Modelos induzidos por drogas***

Ao provocarem um aumento na liberação de dopamina, as anfetaminas reproduzem os sintomas positivos da esquizofrenia, como hiperatividade e comportamento desinibido, além de redução das inibições pré-pulso e latente, em animais tratados com estas substâncias (KILTS, 2001). Embora seja apropriada na reprodução de sintomas positivos, a utilização de anfetaminas não proporciona um modelo experimental completo (DAWE; HWANG; TAN, 2009).

Cloridrato de fenciclidina (PCP) e cetamina, assim como outros antagonistas do receptor NMDA, acarretam prejuízos à função cognitiva, como deficits na execução de tarefas relacionadas à alternância espacial (DAWE; HWANG; TAN, 2009). Em ratos, a administração perinatal de PCP ocasionou prejuízos quanto à percepção espacial, além de alterações no comportamento social, hiperatividade e deficits sensoriais (MOGHADDAM *et al.*, 1997; WILEY *et al.*, 2003).

### ***1.3.3 Modelos de lesão***

A lesão neonatal do hipocampo ventral (vHip) do rato, mediante a injeção local de uma excitotoxina denominada ácido ibotênico, provoca alterações comportamentais que se manifestam após a puberdade, além de afetar a integridade de estruturas em desenvolvimento, como o núcleo accumbens (nAcc) e a região medial do CPF (TSENG; CHAMBERS; LIPSKA, 2009).

Animais submetidos a este modelo apresentam, durante a puberdade tardia, características relacionadas aos sintomas positivos, negativos e cognitivos da esquizofrenia. Esta lesão ocasiona, pois, um desenvolvimento irregular das conexões entre o vHip e outras áreas (estriado, núcleo accumbens, córtex pré-frontal e amígdala), provocando alterações no desenvolvimento do CPF (MATTEI; SCHWEIBOLD; WOLF, 2015).

### ***1.3.4 Modelos neurodesenvolvimentais***

De acordo com Rapoport, Giedd e Gogtay (2012), tem-se atribuído origens neurodesenvolvimentais à esquizofrenia, embora os sintomas se manifestem, comumente, no final da adolescência ou início da fase adulta. Acredita-se que os mecanismos referentes à esquizofrenia incluam interações complexas entre genética/epigenética e fatores ambientais, sobretudo na fase perinatal (BROWN, 2011).

Nutrição, uso de cannabis e estresse estão entre os fatores ambientais que aceleram ou elevam o risco para psicose em indivíduos geneticamente predispostos (DAVIS *et al.*, 2016). Diferentes estudos, em animais e humanos, têm demonstrado os efeitos de mutações genéticas e fatores ambientais no surgimento de sintomas associados à esquizofrenia (AYHAN; MCFARLAND; PLETNIKOV, 2016).

Estudos epidemiológicos indicam um aumento do risco para esquizofrenia e transtornos relacionados, mediante exposição materna à infecção ou inflamação durante o período pré-natal (BROWN; DERKITS, 2010). Segundo Mattei, Schweibold e Wolf (2015), os modelos desenvolvimentais se caracterizam por ativação microglial e processos inflamatórios que, possivelmente, formam a base das injúrias ao desenvolvimento, ocasionando sintomas pós-púberes.

Embora as investigações, no âmbito neurodesenvolvimental, relacionem alterações na função microglial e esquizofrenia, outros indícios destacam o possível papel da microglia na neurodegeneração referente ao transtorno (SOLEK *et al.*, 2017). Tem-se conferido à microglia, células imunes que residem no SNC, funções relativas ao desenvolvimento normal do cérebro e maturação, como refinamento dos circuitos neurais, viabilização da apoptose no desenvolvimento e poda sináptica (HONG; STEVENS, 2016; MOSSER *et al.*, 2017; NAYAK; ROTH; MCGAVERN, 2014; PAOLICELLI *et al.*, 2011; WU *et al.*, 2013).

Apontada como um importante fator de risco etiológico na esquizofrenia, assim como em outras doenças psiquiátricas de origem desenvolvimental, a ativação do sistema imune materno, durante a gestação, prediz 14-21% de todos os casos de esquizofrenia (BROWN *et al.*, 2004). A ativação microglial provoca a liberação de citocinas pró-inflamatórias e radicais livres, que, possivelmente, promovem degeneração neuronal, contribuindo, desta forma, para a fisiopatologia da esquizofrenia (LASKARIS *et al.*, 2016; MILLER *et al.*, 2011). Após exposição materna a patógenos virais, no primeiro e início do segundo trimestre do período gestacional, verifica-se, na prole, um aumento na incidência de esquizofrenia (BROWN *et al.*, 2004; KHANDAKER *et al.*, 2013; PATTERSON, 2009).

Com o intuito de alterar, irreversivelmente, o desenvolvimento do SNC, os modelos animais de esquizofrenia, com enfoque desenvolvimental, se utilizam de manipulações do ambiente, bem como da administração de drogas no período perinatal. As alterações comportamentais a longo prazo despontam, comumente, na pós-adolescência, reproduzindo a cronologia associada aos sintomas da esquizofrenia (JONES; WATSON; FONE, 2011).

Estudos indicam que, ao imitar uma infecção, viral ou bacteriana, em fêmeas, cujo período gestacional corresponde ao segundo trimestre da gestação humana, a prole apresenta

alterações anatômicas, comportamentais e neuroquímicas, similares à psicose (BOKSA, 2010; MEYER *et al.*, 2005; PATTERSON, 2002, 2009).

Com o intuito de promover medidas de segurança e, assim, proteger os pesquisadores, considera-se conveniente a utilização de substâncias imunogênicas que imitam infecções. Nesta perspectiva, indicam-se a injeção de ácido ribonucleico (RNA) viral sintético, *Polyinosinic-polycytidylic acid* (Poly(I:C) ou PIC), e lipopolissacarídeos (LPS), para induzir resposta imune inata antiviral ou antibacteriana, respectivamente (SOLEK *et al.*, 2017). Componente da parede celular de bactéria gram-negativa, o LPS se liga ao *toll-like receptor* (TLR) 4, ativando a sinalização inflamatória (REISINGER *et al.*, 2015).

O PIC é um análogo sintético de RNA fita dupla que imita alguns vírus, dentre os quais o vírus influenza. Ao ativar o TLR3, o PIC eleva a expressão de vários genes associados à resposta imune inata, além de interferir na função leucocitária, diminuindo a velocidade de rolagem, aumentando a adesão à parede vascular e propiciando o extravasamento da circulação para a cavidade peritoneal ou outros tecidos (MEYER, 2014; PIRCHER *et al.*, 2014). De acordo com Takeda e Arika (2004), o PIC, ao ser reconhecido pelo TLR3, evoca uma resposta imune inata, com produção de citocinas pró-inflamatórias, como interleucina-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), interleucina-6 (IL-6), fator de necrose tumoral- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) e interferons tipo I (INF- $\alpha$  e INF- $\beta$ ).

Estudos apontam que a estimulação imune materna desencadeia, na prole, alterações na comunicação e interação social, ansiedade, deficits no filtro sensorio-motor, prejuízos cognitivos e elevada sensibilidade às anfetaminas (MEYER, 2013, 2014; MEYER; FELDON; FATEMI, 2009; PATTERSON, 2009).

De acordo com Khan e Powell (2017), a associação entre fatores de risco genéticos e ambientais ou múltiplos fatores desenvolvimentais/ambientais aprimoram o modelo animal. Em esquizofrenia, para compreender as alterações na anatomia cerebral e comportamento, tem-se focado em modelos desenvolvimentais de dois desafios. Ressalta-se que o período em que estes “hits”, ou “desafios”, ocorrem são fundamentais para o contexto neurodesenvolvimental, uma vez que podem gerar diferentes resultados. Desafios nas etapas iniciais do desenvolvimento produzem alterações generalizadas, enquanto que desafios posteriores acarretam mudanças mais específicas (DAVIS *et al.*, 2016; PANTELIS *et al.*, 2003).

Em diversos estudos com roedores, tem-se utilizado a abordagem de dois desafios para investigar a hipótese de que alterações, no início do desenvolvimento cerebral e adolescência, podem conduzir à esquizofrenia, uma vez que estes períodos são considerados críticos, no contexto neurodesenvolvimental (KESHAVAN; HOGARTY, 1999). Segundo Giovanoli *et al.* (2013), adversidades pré-natais atuam como um “desencadeador de doença”,

aumentando a suscetibilidade da prole frente aos efeitos neuropatológicos, ocasionados pela exposição ao estresse na fase peripuberal.

O conceito pelo qual a infecção torna o organismo, em desenvolvimento, vulnerável à fatores ambientais, após o nascimento, é consistente com outros modelos, revelando sinergia entre os efeitos patológicos pré-natais e agravos pós-natais, como exposição pré-natal ao ar poluído, bem como elevado consumo de gorduras na fase adulta (BOLTON *et al.*, 2012). De acordo com Khan e Powell (2017), os modelos genéticos e/ou desenvolvimentais proporcionam oportunidades para intervenção precoce e testes para tratamentos preventivos.

#### 1.4 Esquizofrenia e ômega-3

Os ácidos graxos essenciais (AGEs) compõem todas as membranas celulares, concedendo propriedades de fluidez. Deste modo, definem e intervêm no desempenho de enzimas e receptores de membrana. Embora estes ácidos graxos sejam fundamentais para a subsistência, seres humanos e outros mamíferos não podem produzi-los. A obtenção ocorre por meio da dieta, sendo, portanto, denominados essenciais (DAS, 2006b).

Espontaneamente, há dois tipos de AGEs no corpo: as séries  $\omega$ -6 e  $\omega$ -3, derivadas dos ácidos linoleico (AL, 18:2) e  $\alpha$ -linolênico (ALA, 18:3), respectivamente. Sabe-se que a metabolização destas séries de ácidos graxos insaturados, para seus devidos metabólitos de cadeia longa, acontece por intermédio do mesmo conjunto de enzimas. Algumas funções dos AGEs demandam a conversão para eicosanoides e outros produtos. Entretanto, os ácidos graxos são ativos, por si, na maioria das circunstâncias. Os metabólitos de cadeia longa de AL e ALA são relevantes, no que se refere à função reguladora da membrana, tendo importância ainda maior no cérebro, retina, fígado, rim, glândulas adrenais e gônadas (DAS, 2006a).

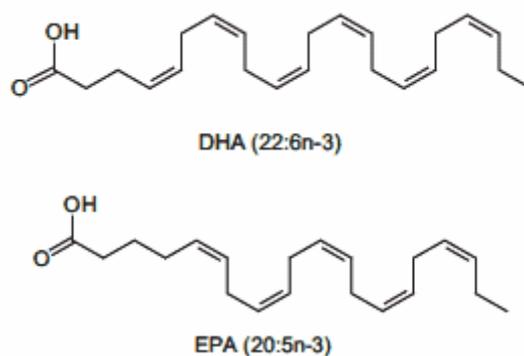
Agindo como antioxidantes em diferentes células e tecidos, os ácidos graxos poli-insaturados (AGPIs) ômega-3 se apresentam como uma alternativa para o tratamento de processos patológicos, bem como sintomas relacionados à menopausa (MIQUEL *et al.*, 2006; PARK; LIM; KIM, 2009). De acordo com Decsi e Kennedy (2011), o estrógeno estimula a conversão de AGEs em seus metabólitos de cadeia longa, enquanto a testosterona exibe efeito inibitório. Segundo Sibbons *et al.* (2014), a progesterona regula a biossíntese de AGPIs ômega-3, assim como a expressão de genes envolvidos nesta via.

Os ácidos eicosapentaenoico (EPA) e docosaexaenoico (DHA), principais ácidos graxos ômega-3 contidos no óleo de peixe, detêm um relevante papel no SNC (FIGURA 4). Relevante para as funções cognitivas e comportamentais, o DHA é o principal componente

estrutural das membranas neuronais (KELLER *et al.*, 2013). Estudos apontam que a biossíntese do DHA necessita de estrógenos (GILTAY *et al.*, 2004a, 2004b). O EPA, contudo, apresenta funções fisiológicas consideráveis, como crescimento satisfatório, desenvolvimento e funcionamento do cérebro (PEET; STOKES, 2005). Existem indícios de que a administração de EPA pode agilizar a resposta ao tratamento, favorecendo a tolerabilidade dos antipsicóticos (BERGER *et al.*, 2007).

Os AGPIs são fundamentais quanto ao neurodesenvolvimento normal. Deste modo, distúrbios relacionados ao metabolismo destes ácidos graxos podem intervir na etiologia de transtornos neurodesenvolvimentais, dentre os quais a esquizofrenia (ASSISI *et al.*, 2006). Estudos apontam que a detecção destas alterações metabólicas ocorre nos estágios iniciais da esquizofrenia, os quais antecedem a terapia antipsicótica (REDDY; KESHAVAN; YAO, 2004), bem como em indivíduos com alto risco para psicose (AMMINGER *et al.*, 2012).

Figura 4 – Estrutura dos ácidos eicosapentaenoico (EPA) e docosaexaenoico (DHA)



Fonte: Merck (2018).

Os AGPIs são os principais componentes dos fosfolipídios de membrana celular. Além disso, participam de inúmeros processos biológicos como: ligação ao receptor, neurotransmissão, transdução de sinal e a síntese de metabólitos ativos (eicosanoides), os quais regulam a inflamação, o estresse oxidativo e as respostas imunológicas, dentre outros (PAWELCZYK *et al.*, 2015). De acordo com Davis *et al.* (2014), os ácidos graxos da membrana eritrocitária, assim como os marcadores do estresse oxidativo, refletem, na doença psicótica, o equilíbrio entre mecanismos de proteção e degeneração que ocorrem nas membranas neuronais.

Segundo Smesny *et al.* (2011), a redução de AGPIs na esquizofrenia resulta de uma maior atividade da fosfolipase A<sub>2</sub> e dano oxidativo, os quais levam ao aumento da liberação destes ácidos graxos das membranas neuronais. Zugno *et al.* (2015) atribui esta disfunção metabólica ao efeito modificador dos AGPIs ômega-3 sobre a fluidez da membrana, bem como

às respostas dos receptores após sua incorporação na célula. Ao restaurar a composição da membrana neuronal, a suplementação com AGPIs ômega-3 regulariza a fluidez, bem como a função da membrana (CLARK *et al.*, 2016).

Smesny *et al.* (2014) demonstraram que a suplementação com AGPIs ômega-3 reduz, significativamente, a atividade da fosfolipase A<sub>2</sub> intracelular em indivíduos com elevado risco para psicose. Inibindo-se a atividade desta enzima, reduz-se a produção de eicosanoides e citocinas pró-inflamatórias (CLARK *et al.*, 2016). Eicosanoides são mediadores lipídicos implicados em diversas funções fisiológicas, dentre as quais vasorreatividade, agregação plaquetária e inflamação (SCHMITZ; ECKER, 2008; SIMOPOULOS, 2011).

Metabolizados pela cicloxigenase (COX) e 5-lipoxigenase (5-LOX), os eicosanoides (prostaglandinas, tromboxanos e leucotrienos) medeiam reações inflamatórias (TAPIERO *et al.*, 2002; TASSONI *et al.*, 2008). Os AGPIs disponibilizam precursores para a síntese de prostaglandinas e modulam a expressão de enzimas fundamentais para o metabolismo destes eicosanoides, bem como de esteroides (TRAN *et al.*, 2016). De acordo com Xu *et al.* (2017), uma razão DHA/EPA baixa, na dieta, ocasiona efeitos inibitórios sobre a esteroidogênese gonadal.

Ressalta-se que o metabolismo dos AGPIs ômega-3, por meio das enzimas cicloxigenase e lipoxigenase, origina mediadores anti-inflamatórios, como resolvinas e protectinas (CALDER, 2011; SMESNY *et al.*, 2014). As resolvinas reduzem a inflamação mediante ligação aos receptores acoplados à proteína G em leucócitos e bloqueio da produção de mediadores inflamatórios. Além disso, as resolvinas inibem a migração leucocitária e diminuem a expressão de citocinas por células microgлияis (KELLER *et al.*, 2013). As protectinas, em contrapartida, reduzem a inflamação ao interromperem a infiltração de leucócitos e diminuírem a produção de citocinas por células gliais (SERHAN, 2008).

As membranas neuronais, constituídas principalmente por AGPIs ômega-3, modulam inúmeras vias e mecanismos biológicos, dentre os quais a fluidez de membrana, neurotransmissão dopaminérgica, serotoninérgica, glutamatérgica e colinérgica, neuroinflamação, apoptose e senescência, expressão gênica, função e plasticidade sináptica (ABEDI; SAHARI, 2014). De acordo com Simopoulos (2006), o ômega-3 inibe a IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  e IL-6.

Acredita-se que os ácidos graxos de cadeia longa, como o ômega-3, podem reduzir os sintomas da esquizofrenia mediante suas propriedades neuroprotetoras, sem, no entanto, ocasionar efeitos adversos relevantes. Em geral, este tratamento se apresenta como uma boa

estratégia na prevenção da psicose em indivíduos com maior risco para a doença (AMMINGER *et al.*, 2010; MORRISON *et al.*, 2004).

O papel do ômega-3 no sistema nervoso não está completamente elucidado, contudo evidências mantêm a hipótese de que os AGPIs são essenciais para o funcionamento normal do cérebro, facilitando, portanto, a plasticidade sináptica, melhorando a função mitocondrial e reduzindo o estresse oxidativo intracelular (GÓMEZ-PINILLA, 2008). Segundo Amminger *et al.* (2010), estas propriedades neuroprotetoras estariam envolvidas na prevenção de esquizofrenia em pacientes prodrômicos.

## 2 RELEVÂNCIA E JUSTIFICATIVA

A utilização de modelos animais para ampliar a compreensão acerca de alterações neuroquímicas e estruturais, que conduzem ao desenvolvimento da esquizofrenia, são fundamentais na elaboração de novas estratégias terapêuticas, bem como de prevenção (JONES; WATSON; FONE, 2011).

A relação epidemiológica entre desafio imune perinatal e anormalidades no desenvolvimento cerebral e comportamento, observada em estudos com roedores, reforça o papel das alterações neurodesenvolvimentais mediadas pelo sistema imune, nas principais doenças psiquiátricas. Ao comprometerem o desenvolvimento neurológico, os modelos neurodesenvolvimentais possibilitam uma monitoração multifacetada e longitudinal da progressão da doença, abrangendo desde o neurodesenvolvimento pré-natal até a fase adulta (MEYER, 2014).

Embora considerada um estágio crítico do desenvolvimento, devido aos fatores fisiopatológicos que comprometem o cérebro, a adolescência também representa uma janela de oportunidades quanto à intervenção preventiva. Portanto, a intervenção durante um período crítico do desenvolvimento pode gerar diferentes resultados na fase adulta (AMMINGER *et al.*, 2015), principalmente se estas intervenções forem seguras a ponto de não causarem efeitos colaterais graves. Face a esta observação, optou-se, no presente estudo, pelo uso de um suplemento alimentar.

As diferenças relacionadas ao sexo, na esquizofrenia, são bem estabelecidas e consistentemente descritas (OWENS *et al.*, 2018). Dentre as diferenças, destacam-se a idade de início, prevalência, perfil sintomático e curso da doença, assim como resposta ao tratamento e prognóstico (ABEL; DRAKE; GOLDSTEIN, 2010). Nesta perspectiva, buscou-se avaliar, em animais submetidos ao modelo de dois desafios, as variações entre machos e fêmeas.

Mediante a prevalência de indivíduos acometidos por distúrbios psiquiátricos, dentre os quais a esquizofrenia, viu-se a necessidade de investigar estratégias capazes de prevenir sintomas. Considerando-se as propriedades neuroprotetoras atribuídas ao ômega-3, assim como sua acessibilidade e ausência de efeitos adversos relevantes, acredita-se que este ácido graxo poli-insaturado seja uma alternativa eficaz no que se refere à prevenção. A utilização do modelo de esquizofrenia por desafio imune neonatal combinado a estresse na adolescência auxilia, portanto, na observação dos possíveis benefícios do ômega-3 sobre parâmetros comportamentais e oxidativos.

### **3 OBJETIVOS**

#### **3.1 Objetivo geral**

Investigar a influência do sexo e o efeito preventivo dos ácidos graxos poli-insaturados ômega-3 sobre alterações comportamentais e neuro-oxidativas em animais submetidos ao modelo de esquizofrenia por desafio imune neonatal, combinado a estresse na adolescência.

#### **3.2 Objetivos específicos**

- Verificar, em animais adultos expostos ao modelo de dois desafios, a influência do sexo e o efeito preventivo do ômega-3 sobre alterações comportamentais relacionadas aos sintomas positivos, negativos e cognitivos da esquizofrenia, por meio dos testes de inibição pré-pulso, interação social e labirinto em Y, respectivamente;

- Avaliar, em animais adultos submetidos ao modelo de dois desafios, a influência do sexo e o efeito preventivo do ômega-3 sobre alterações oxidativas no córtex pré-frontal, hipocampo, corpo estriado e plasma.

## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 Animais

Utilizaram-se camundongos *Swiss* machos e fêmeas para procriação, com pesos variando entre 25 e 35 g. Provenientes do Biotério Central da Universidade Federal do Ceará (UFC), os animais foram mantidos em temperatura média de  $24 \pm 2$  °C, com ciclo claro/escuro de 12 horas. Os camundongos, ambientados em grupos, tiveram livre acesso à comida e água.

O estudo seguiu as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), sendo aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal do Ceará (CEUA-UFC), sob protocolo nº 66/2016.

### 4.2 Drogas e reagentes

Utilizaram-se as seguintes drogas: *Polyinosinic-polycytidylic acid* (Poly(I:C) ou PIC, Sigma-Aldrich®, Estados Unidos da América (EUA)) e OMEGA-3 (óleo de peixe em cápsulas, FDC® Vitamins LLC, EUA).

### 4.3 Protocolo experimental

#### ***4.3.1 Modelo animal de esquizofrenia induzido por estimulação imune neonatal e estresse na adolescência (modelo de dois desafios)***

Os animais foram acasalados na proporção de um macho para duas fêmeas, e acondicionados juntos durante cinco dias. Após este período, os machos foram separados das fêmeas, as quais permaneceram sob observação até a detecção da prenhez.

Nos 5º, 6º e 7º dias após o nascimento, as proles foram submetidas à contenção leve para a aplicação intraperitoneal de PIC ou salina estéril (GIOVANOLI et al., 2013). Administraram-se, diariamente, 30 µL de solução na concentração de 2 mg/Kg. No 21º dia pós-natal (DPN21), os animais foram desmamados e separados conforme o sexo e tratamento (QUADRO 1). Formaram-se grupos experimentais com diferentes proles, a fim de aumentar a variabilidade genética. Para os testes comportamentais, utilizaram-se entre 10 a 12 animais por grupo. Quanto aos testes para determinação de parâmetros neuro-oxidativos, utilizaram-se entre 6 a 8 animais por grupo.

Ressalta-se que o sistema imune de mamíferos reconhece o PIC como estranho, mediante o receptor transmembrana *Toll-like 3* (TLR3) (AKIRA; TAKEDA, 2004). Os receptores *Toll-like* (TLRs) identificam estruturas invariantes exibidas por patógenos virulentos. Conforme se liga ao TLR3, o RNA de fita dupla ou seu equivalente sintético (PIC) induz a expressão de numerosas proteínas e genes encarregados pela resposta imune inata (MEYER, 2014).

Quadro 1 – Grupos experimentais

Sexo	Grupo	Primeiro desafio DPN 5-7	Tratamento DPN 30-60	Segundo desafio DPN 35-43
M e F	Salina	Salina	-	-
M e F	Salina + Ômega-3	Salina	Ômega-3	-
M e F	PIC + Estresse	PIC	-	Estresse
M e F	Ômega-3 + PIC + Estresse	PIC	Ômega-3	Estresse

M = machos; F = fêmeas; PIC = *Polyinosinic-polycytidylic acid* (Poly (I:C)); DPN = dia pós-natal.

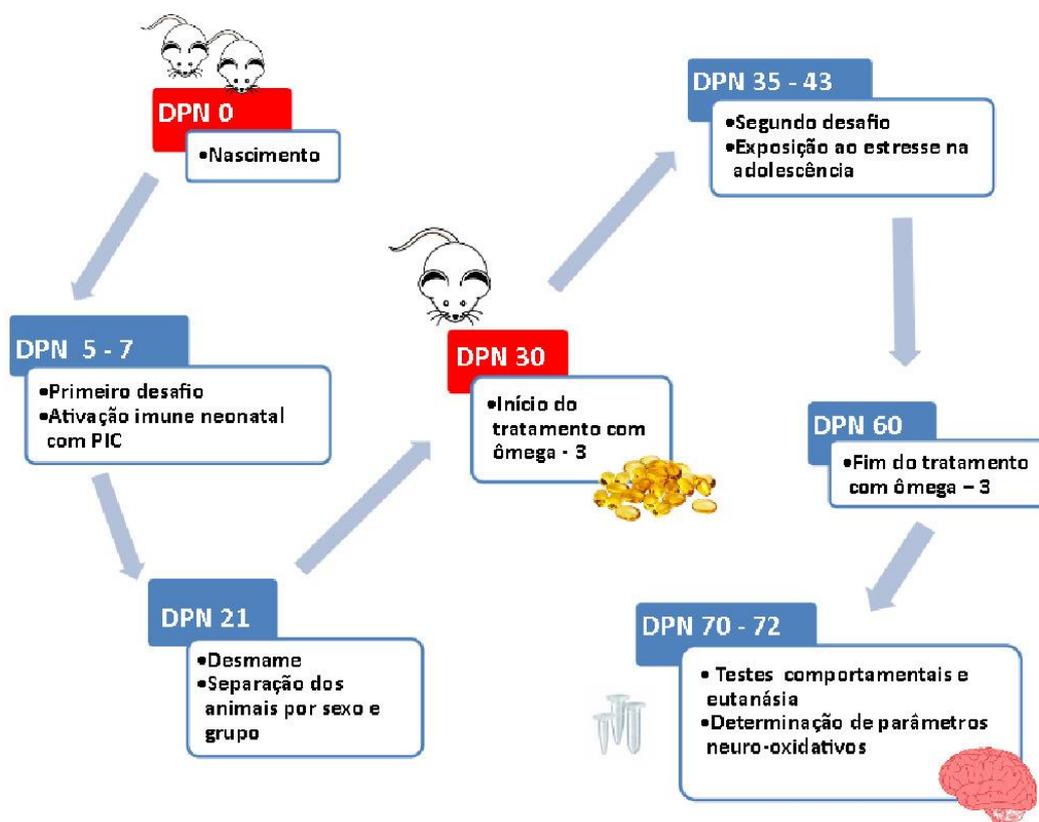
Utilizando-se um modelo translacional em camundongos, Giovanoli *et al.* (2013) constataram que a exposição ao desafio imune pré-natal, associado ao estresse pré-púbere, ocasionou, na fase adulta, efeitos patológicos em funções comportamentais e neuroquímicas. A indução dos dois desafios, no presente estudo, ocorreu por meio da administração neonatal de PIC, combinada a eventos estressantes na adolescência. Aplicaram-se estes eventos entre os DPNs 35 e 43, com alternância de um dia (QUADRO 2 e FIGURA 5).

Quadro 2 – Protocolos de estresse

DPN	Estresse
35	3 estímulos elétricos nas patas (0,9 mA) com duração de 1 s e intercalados por 1 min
37	Imobilização por 45 min em tubo contensor
39	Privação de água por 16 h
41	2 seções de nado forçado com duração de 1 min e intercaladas por 3 min
43	3 estímulos elétricos nas patas (0,9 mA) com duração de 1 s e intercalados por 1 min

mA = miliampère; DPN = dia pós-natal.

Figura 5 – Protocolo experimental



Fonte: elaborada pelo autor. DPN = dia pós-natal; PIC = *Polyinosinic-polycytidylic acid* (Poly (I:C)).

#### 4.3.2 Tratamento com ômega-3

A administração oral de ômega-3, diluído em Tween® 80, sucedeu diariamente entre os DPNs 30 e 60, com agulha curva de gavagem, no volume de 0,1 mL/10 g de peso. Destaca-se que a definição da dose se fundamentou no estudo de Amminger *et al.* (2010). A dose utilizada no animal foi de 625 mg/Kg, o equivalente a uma dose de 3 g de ômega-3 em seres humanos (REAGAN-SHAW; NIHAL; AHMAD, 2008).

#### 4.4 Testes comportamentais

Na avaliação comportamental, determinaram-se endofenótipos correspondentes aos sintomas positivos (inibição pré-pulso), negativos (interação social) e cognitivos (labirinto em Y) (THAKER, 2007). Os testes foram conduzidos entre os DPNs 70 e 72.

#### 4.4.1 Teste de inibição pré-pulso

Define-se inibição pré-pulso (IPP) como a redução de um reflexo de sobressalto a um estímulo acústico intenso (pulso), quando instantaneamente precedido por um estímulo de menor intensidade (pré-pulso) (HOFFMAN; ISON, 1980; SWERDLOW *et al.*, 2004). O monitoramento da reação corporal dos animais aos estímulos acústicos ocorreu por meio de uma câmara de IPP (Insight Equipamentos Científicos, Brasil, modelo EP-175) conectada a um tubo (diâmetro 8,2 cm, comprimento 20 cm) e montada em uma caixa ventilada fechada.

Colocaram-se os camundongos em um contensor (4,5 × 5,0 × 5,5 cm) constituído por barras de aço inoxidável de 3,0 mm de diâmetro, com espaçamento de 0,8 cm. O contensor permaneceu preso sobre uma balança, denominada plataforma de resposta, através de quatro parafusos miniatura. Utilizou-se um alto-falante, localizado a 15 cm do contensor, para fornecer os estímulos de pulso, pré-pulso e ruído de fundo. A câmara acústica ventilada (64 × 60 × 40 cm) comportou, portanto, o contensor, a plataforma e o alto-falante. A princípio, realizaram-se procedimentos de calibração, a fim de garantir, durante o período de avaliação, sensibilidades equivalentes, através da plataforma de resposta.

A contenção dos animais para aclimação marcou o início da seção de testes. Neste período, submeteram-se os camundongos ao ruído de fundo (65 dB) por 5 minutos. Logo após, foram expostos a uma série de 10 estímulos de treino (pulso – 120 dB, 50 ms de duração), com um ensaio de interintervalo de 20 segundos. Esta etapa permitiu, então, a habituação da resposta de sobressalto.

Posteriormente, verificou-se a modulação IPP de sobressalto através do seguinte protocolo: 74 ensaios pseudorandomizados divididos em oito categorias diferentes, apresentados com um intervalo interestímulo de 20 s (20 apresentações de pulso sozinho (120 dB, 50 ms de duração), 8 apresentações de cada intensidade de pré-pulso sozinho (70, 75 e 80 dB, frequência 3000 Hz, 20 ms de duração), 10 apresentações de cada intensidade de pré-pulso + intensidade de pulso (intervalo de 50 ms entre pré-pulso e pulso) e ausência de estímulo (apenas ruído de fundo) (LEVIN *et al.*, 2011).

Calculou-se, para cada animal, a média da amplitude de resposta de sobressalto aos ensaios de pulso sozinho (P) e pré-pulso + pulso (PP + P). Definiu-se o nível de IPP 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: % IPP =  $100 - [100 \times (PP + P / P)]$ .

Empregando-se esta equação, um valor de IPP igual a 0% denota que não houve diferença entre a amplitude da resposta de sobressalto do pulso sozinho e do pré-pulso + pulso. Deste modo, não houve IPP (LEVIN *et al.*, 2011). Esperou-se, pois, que o grupo de animais submetidos ao modelo dos dois desafios (controle positivo) apresentasse deficits de IPP neste teste comportamental.

Figura 6 – Teste de inibição pré-pulso



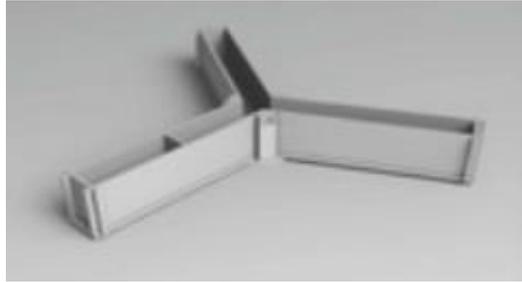
Fonte: Insight (2018).

#### 4.4.2 Teste do labirinto em Y

Avaliou-se a memória operacional ou de trabalho mediante a taxa de alterações espontâneas no labirinto em Y (Y-maze). O aparato consistia em três braços idênticos (40 x 5 x 16 cm) posicionados em ângulos iguais (SARTER; BODEWITZ; STEPHENS, 1988). Colocados na extremidade de um dos braços, anteriormente numerados, os animais exploraram o ambiente por 8 minutos. Anotou-se, então, a sequência dos braços visitados, com o intuito de determinar o número de entradas sem repetições. Considerou-se correta a alternância em que o animal visitou um novo braço e não retornou ao braço anteriormente percorrido.

Deste modo, calculou-se a porcentagem das alterações como a razão entre as alterações corretas (n) e o número de visitas realizadas durante o período de observação (n-2), multiplicado por 100 (% alterações corretas =  $n/n-2 \times 100$ ) (DALL'IGNA *et al.*, 2007; YAMADA *et al.*, 1996). O êxito no teste se caracteriza pela elevada taxa de alternância no grupo controle negativo, indicando que os animais recordam do último braço visitado.

Figura 7 – Teste do labirinto em Y



Fonte: Corrado Equipamentos Biológicos (2018)

#### 4.4.3 Teste de interação social

Para a realização deste teste, utilizou-se uma caixa de acrílico, (60 × 40 cm), dividida em três câmaras e monitorada pelo *software* SMART v3.0 (Panlab Harvard Apparatus). A movimentação dos camundongos, entre as câmaras, ocorreu através de pequenas aberturas (6 × 6 cm). Cada compartimento lateral conteve uma gaiola metálica; uma com animal desconhecido e do mesmo sexo (câmara social) e outra vazia (câmara oposta). Posicionados na área central, os animais, em teste, exploraram o aparato por 5 minutos (RADYUSHKIN *et al.*, 2009). Determinaram-se o tempo gasto em cada uma das três câmaras e a preferência social, a qual foi definida como: (% o tempo gasto na câmara social) - (% o tempo gasto na câmara oposta). Além deste parâmetro, avaliaram-se o número de entradas na câmara social e as imagens referentes às trajetórias, as quais foram obtidas por meio do *software*.

Figura 8 – Teste de interação social



Fonte: Stoelting Company (2018)

## 4.5 Coleta de sangue e dissecação das áreas cerebrais

Com capilares de microhematócrito heparinizados, colheram-se amostras de sangue através da venopunção do plexo orbital, sendo acondicionadas em microtubos de centrifugação com anticoagulante (CHEN *et al.*, 2004). Em seguida, colocaram-se as amostras na centrífuga por 15 min (3500 rpm; 4 °C). Após isto, coletou-se o plasma que, assim como as áreas cerebrais, foi armazenado a -70 °C até a determinação dos parâmetros neuro-oxidativos.

Após a realização dos testes comportamentais e da coleta de sangue, decapitaram-se os animais por meio de uma guilhotina. Rapidamente, removeram-se os encéfalos, colocando-os sobre placas de gelo. Por divulsionamento, as áreas cerebrais, córtex pré-frontal (CPF), hipocampo (HC) e corpo estriado (CE), foram isoladas das estruturas circunjacentes com uma tesoura de microdissecação. Posteriormente, as áreas dissecadas foram acondicionadas em microtubos de centrifugação, imediatamente congeladas e armazenadas a -70 °C até a realização dos ensaios neuroquímicos.

## 4.6 Determinação de parâmetros do estresse oxidativo

### 4.6.1 Determinação da concentração de glutathiona reduzida (GSH)

Os níveis de GSH foram avaliados para estimar defesas endógenas contra o estresse oxidativo. O método se baseia na reação do reagente de Ellman, 5,5-ditiobis (ácido 2-nitrobenzóico) (DTNB), com grupos tiol livres, originando um dissulfeto misto mais 2-nitro-5-tiobenzóico. O preparo das amostras foi realizado da seguinte forma: 40 µL de cada amostra (homogenato do tecido a 10% em tampão fosfato) foi adicionado a um microtubo de centrifugação + 50 µL de água destilada e 10 µL de ácido tricloroacético (ATC) 50%. As amostras foram centrifugadas a 3000 rpm, por 15 minutos, à temperatura de 4 °C. Os sobrenadantes foram separados. Adicionaram-se 60 µL dos mesmos à placa para ELISA (mantidas resfriadas), assim como os brancos. Ressalta-se que o material permaneceu resfriado durante todo o ensaio. Imediatamente antes da leitura, foi adicionado o tampão fosfato pH 7,4 + 0,65 mL de DTNB 0,01 M metanol. Adicionaram-se 102 µL desta solução em cada poço da placa. Realizou-se a leitura da absorbância a 412 nm. A concentração da glutathiona reduzida foi expressa em µg de GSH por grama de tecido. A curva padrão foi obtida mediante a leitura de várias concentrações de GSH padrão (1,56; 3,12; 6,25; 12,5; 25; 100) (SEDLAK; LINDSAY, 1968).

#### **4.6.2 Determinação dos níveis de nitrato**

A molécula de óxido nítrico (NO) é extremamente tóxica e danifica proteínas, lipídeos de membrana e DNA. Indiretamente, a dosagem de dióxido de nitrogênio/nitrato (NO<sub>2</sub>/NO<sub>3</sub>) possibilita a quantificação da síntese de NO, haja vista que são seus metabólitos. Prepararam-se homogenatos das áreas cerebrais (10%) em solução de cloreto de potássio (KCl) 1,15%. Após a centrifugação (800 rpm por 10 min), coletaram-se os sobrenadantes, sendo a produção de NO determinada mediante a reação de Griess (GREEN; GOLDMAN, 1981).

Uma alíquota de 100 µl do sobrenadante foi incubada com 100 µl do reagente de Griess (sulfanilamida 1% / dicloridrato de N-(1-naftil)-etilenediamina 0,1% / ácido fosfórico a 5% / água destilada, na proporção de 1:1:1:1) à temperatura ambiente por 10 minutos. Elaborou-se a curva padrão com várias concentrações de NaNO<sub>2</sub> (variação de 0,75 a 100 mM) sob as mesmas condições, sendo os brancos preparados através da adição de 100 µL do reativo de Griess a 100 µL do tampão usado para os homogenatos. A absorbância, verificada por meio de espectrofotômetro a 540 nm, foi expressa em nM de nitrato/g de tecido úmido.

#### **4.6.3 Determinação dos níveis de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS)**

Um dos principais componentes celulares afetados pelo estresse oxidativo é a membrana celular, a qual sofre um processo de peroxidação. O malondialdeído (MDA) é um aldeído de cadeia curta, considerado o principal produto da peroxidação lipídica. O método se baseia na mensuração de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) nos homogenatos. As amostras foram homogeneizadas a 10% com tampão fosfato de potássio monobásico 50 mM pH 7,4. Posteriormente, 63 µL do homogenato foram misturados a 100 µL de HClO<sub>4</sub> 35%, sendo estes centrifugados (7000 rpm por 15 min). Em seguida, 150 µL do sobrenadante foram recuperados e misturados com 50 µL de ácido tiobarbitúrico 1,2%. Depois, estas amostras foram aquecidas em um banho de água fervente (95-100 °C) por 30 minutos. Após o resfriamento, a peroxidação lipídica foi determinada em espectrofotômetro por absorbância 535 nm e expressa como micrograma de MDA/g de tecido (OHKAWA; OHISHI; YAGI, 1979).

#### 4.7 Análise estatística

Todos os resultados foram expressos como média  $\pm$  erro padrão da média utilizando o *software* GraphPad Prism 6. Os resultados de IPP foram analisados por ANOVA de duas vias para medidas repetidas, considerando como fatores “intensidade de pré-pulso” (PPs 70, 75 e 80 dB) e “grupos experimentais” (salina; salina + ômega-3, PIC + estresse e ômega + PIC + estresse). As demais análises foram realizadas por ANOVA de duas vias regular considerando como fatores “sexo” (macho e fêmea) e “grupos experimentais” (salina; salina + ômega-3; PIC + estresse e ômega-3 + PIC + estresse). Em ambos os casos, o teste de Tukey para comparações múltiplas foi utilizado como teste *post hoc*. O nível de significância foi definido a partir de  $P \leq 0,05$ .

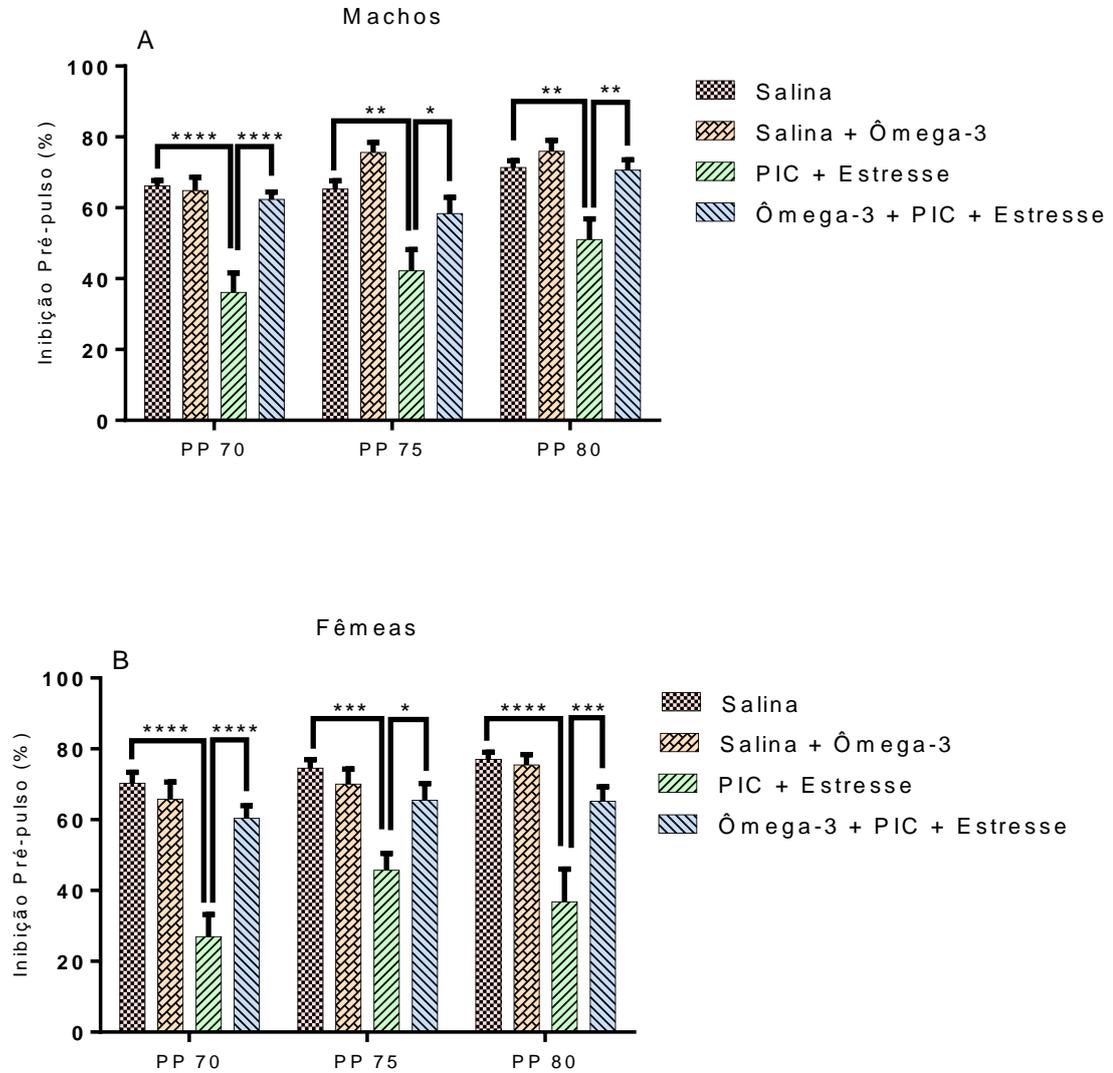
## 5 RESULTADOS

### 5.1 Influência do sexo e efeito do ômega-3 sobre alterações comportamentais no modelo de esquizofrenia por dois desafios

Utilizou-se o teste de inibição pré-pulso (IPP) para avaliar déficits no filtro sensorio-motor, um endofenótipo da esquizofrenia (TURETSKY *et al.*, 2006). Em machos, a análise de IPP (GRÁFICO 1A) indicou uma significativa interação entre os fatores “pré-pulso” e “grupo experimental” [ $F(6, 82) = 2,648, P = 0,0213$ ]. Os animais submetidos aos dois desafios (PIC + Estresse) apresentaram déficits expressivos nos pré-pulsos (PPs) 70, 75 e 80 (PP 70:  $P < 0,0001$ ; PP 75:  $P = 0,0001$ ; PP 80:  $P = 0,0010$ ), quando comparados ao grupo salina. Verificou-se que o ômega-3 preveniu, significativamente, as alterações induzidas pelo modelo de dois desafios, nos PPs 70, 75 e 80 (PP 70:  $P < 0,0001$ ; PP 75:  $P = 0,0165$ ; PP 80:  $P = 0,0021$ ).

Em fêmeas, não se constatou interação entre os fatores (GRÁFICO 1B). No entanto, observou-se um efeito principal significativo do fator “pré-pulso” [ $F(2, 80) = 9,879, P = 0,0001$ ], bem como do fator “grupo experimental” [ $F(3, 40) = 18,12, P < 0,0001$ ]. A indução do modelo de dois desafios (PIC + Estresse) ocasionou, assim como nos machos, déficits consideráveis nos PPs 70, 75 e 80 (PP 70:  $P < 0,0001$ ; PP 75:  $P = 0,0001$ ; PP 80:  $P < 0,0001$ ). Notadamente, o ômega-3 preveniu, nos diferentes PPs, os efeitos do desafio imune neonatal combinado ao estresse na adolescência (PP 70:  $P < 0,0001$ ; PP 75:  $P = 0,0141$ ; PP 80:  $P = 0,0001$ ).

Gráfico 1 – Influência do sexo e efeito do ômega-3 sobre a porcentagem de inibição pré-pulso (IPP) em animais submetidos ao modelo de esquizofrenia por dois desafios

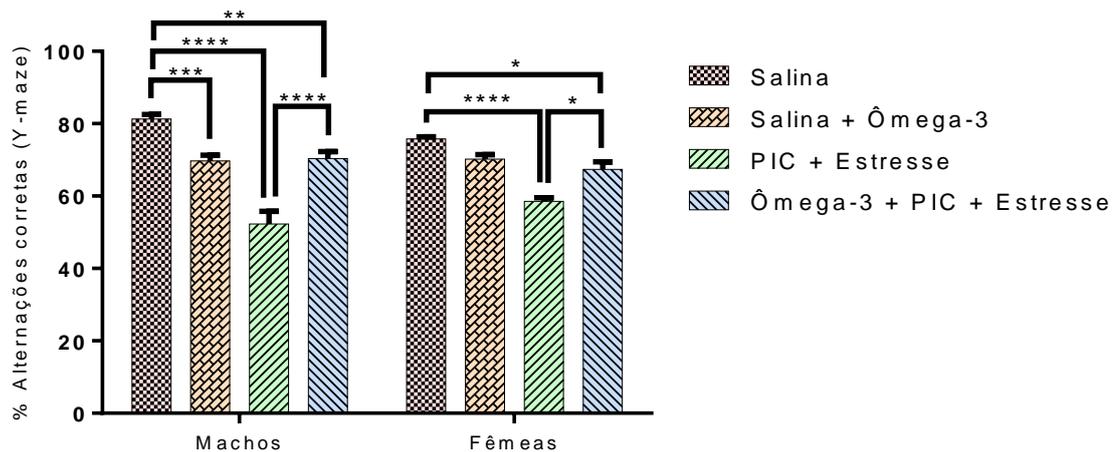


As barras representam a média  $\pm$  erro padrão da média (EPM) (n = 10-12 animais por grupo). Os resultados foram analisados por ANOVA de duas vias para medidas repetidas, seguida pelo teste *post hoc* de Tukey. (\*P < 0,05; \*\*P < 0,01; \*\*\*P < 0,001; \*\*\*\*P < 0,0001). Abreviações: PIC = *Polyinosinic-polycytidylic acid* (Poly (I:C)); PP = pré-pulso.

Para avaliar a memória de trabalho, aplicou-se o teste do labirinto em Y (GRÁFICO 2). Deste modo, observou-se uma significativa interação entre os fatores “sexo” e grupo experimental” [F (3, 88) = 3,810, P = 0,0128]. Destaca-se que apenas o fator “grupo experimental” apresentou efeito principal significativo [F (3, 88) = 54,08, P < 0,0001]. Quando submetidos aos dois desafios (PIC + Estresse), machos e fêmeas exibiram deficits na porcentagem de alterações corretas (machos: P < 0,0001; fêmeas: P < 0,0001), comparados ao grupo salina. Verificou-se, em machos e fêmeas, que o ômega-3 preveniu, significativamente, a redução da porcentagem de alterações corretas, ocasionada pelo modelo de dois desafios (machos: P < 0,0001; fêmeas: P = 0,0216).

Em ambos os sexos, constatou-se uma redução significativa da porcentagem de alterações corretas, em animais submetidos aos dois desafios, porém tratados com ômega-3 (machos: P = 0,0016; fêmeas: P = 0,0341), quando comparados ao grupo salina. Em machos do grupo Salina + Ômega-3, observou-se uma redução significativa na porcentagem de alterações corretas (P = 0,0007).

Gráfico 2 - Influência do sexo e efeito do ômega-3 sobre a porcentagem de alterações corretas (Y-maze) em animais submetidos ao modelo de esquizofrenia por dois desafios

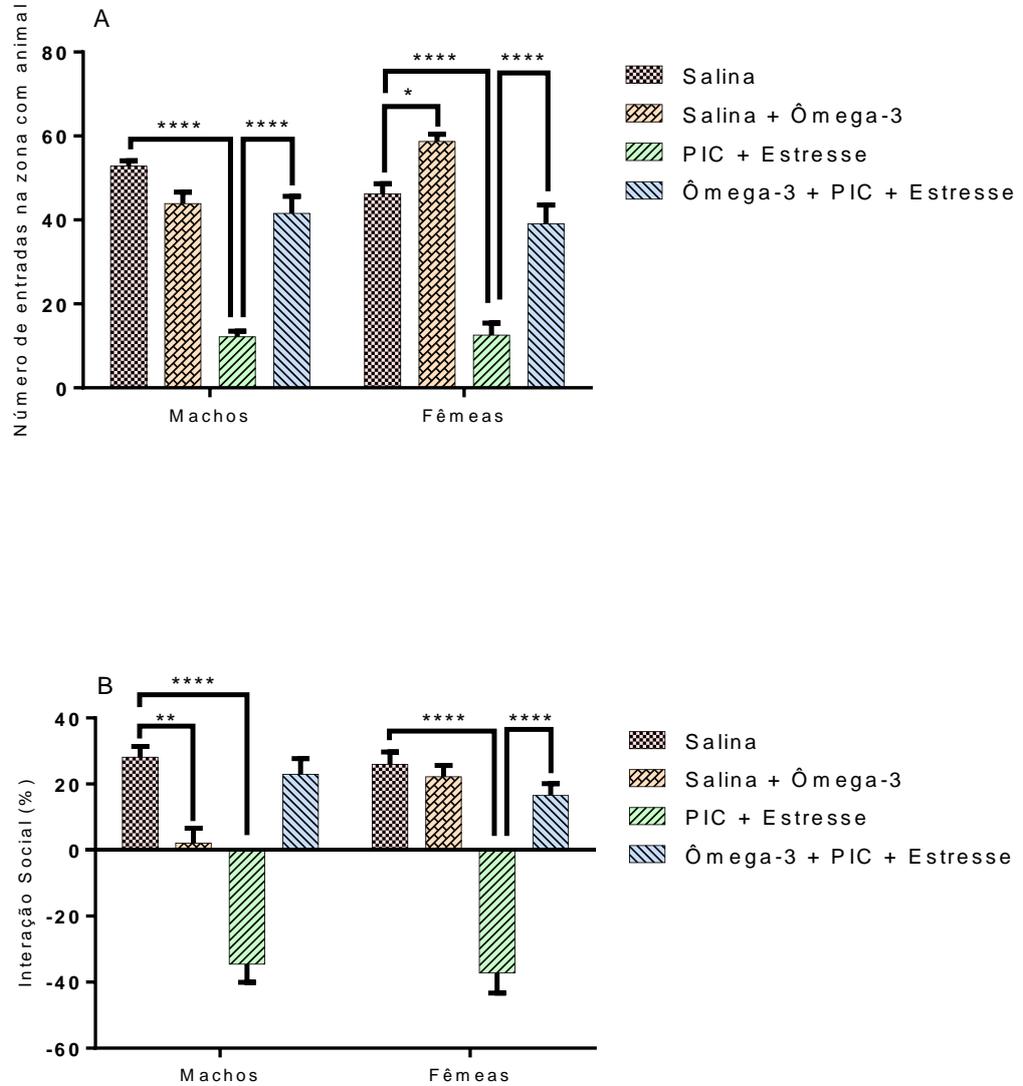


As barras representam a média  $\pm$  erro padrão da média (EPM) (n = 10-12 animais por grupo). Os resultados foram analisados por ANOVA de duas vias regular, seguida pelo teste *post hoc* de Tukey. (\*P < 0,05; \*\*P < 0,01; \*\*\*P < 0,001; \*\*\*\*P < 0,0001). Abreviações: PIC = *Polyinosinic-polycytidylic acid* (Poly (I:C)); Y-maze = labirinto em Y.

Foram utilizados dois parâmetros para avaliar a preferência social: número de entradas na câmara social e porcentagem de interação social (GRÁFICO 3). Quanto ao número de entradas na câmara social, verificou-se uma significativa interação entre os fatores “sexo” e “grupo experimental” [ $F(3, 88) = 5,401, P = 0,0019$ ] (GRÁFICO 3A). Ressalta-se que apenas o fator “grupo experimental” mostrou efeito principal significativo [ $F(3, 88) = 81,31, P < 0,0001$ ]. Quando submetidos ao modelo de dois desafios (PIC + Estresse), machos e fêmeas apresentaram uma considerável redução do número de entradas na câmara social (machos:  $P < 0,0001$ ; fêmeas:  $P < 0,0001$ ), comparados ao grupo salina. Em ambos os sexos, o ômega-3 preveniu, significativamente, as alterações induzidas pelos dois desafios (machos:  $P < 0,0001$ ; fêmeas:  $P < 0,0001$ ). Em fêmeas do grupo Salina + Ômega-3, observou-se um aumento significativo do número de entradas na câmara social ( $P = 0,0492$ ), quando comparadas ao grupo salina.

No que se refere à porcentagem de preferência social, constatou-se significativa interação entre os fatores “sexo” e “grupo experimental” [ $F(3, 83) = 3,640, P = 0,0160$ ] (GRÁFICO 3B). Destaca-se que apenas o fator “grupo experimental” demonstrou efeito principal significativo [ $F(3, 83) = 82,64, P < 0,0001$ ]. O desafio imune neonatal, combinado ao estresse na adolescência, ocasionou, em machos e fêmeas, déficits consideráveis de interação social (machos:  $P < 0,0001$ ; fêmeas:  $P < 0,0001$ ), em comparação ao grupo salina. O ômega-3 preveniu, em fêmeas, as alterações induzidas pelo modelo de dois desafios ( $P < 0,0001$ ). Em machos do grupo Salina + Ômega, verificou-se uma redução, significativa, da porcentagem de interação social ( $P = 0,0017$ ), quando confrontados com o grupo salina.

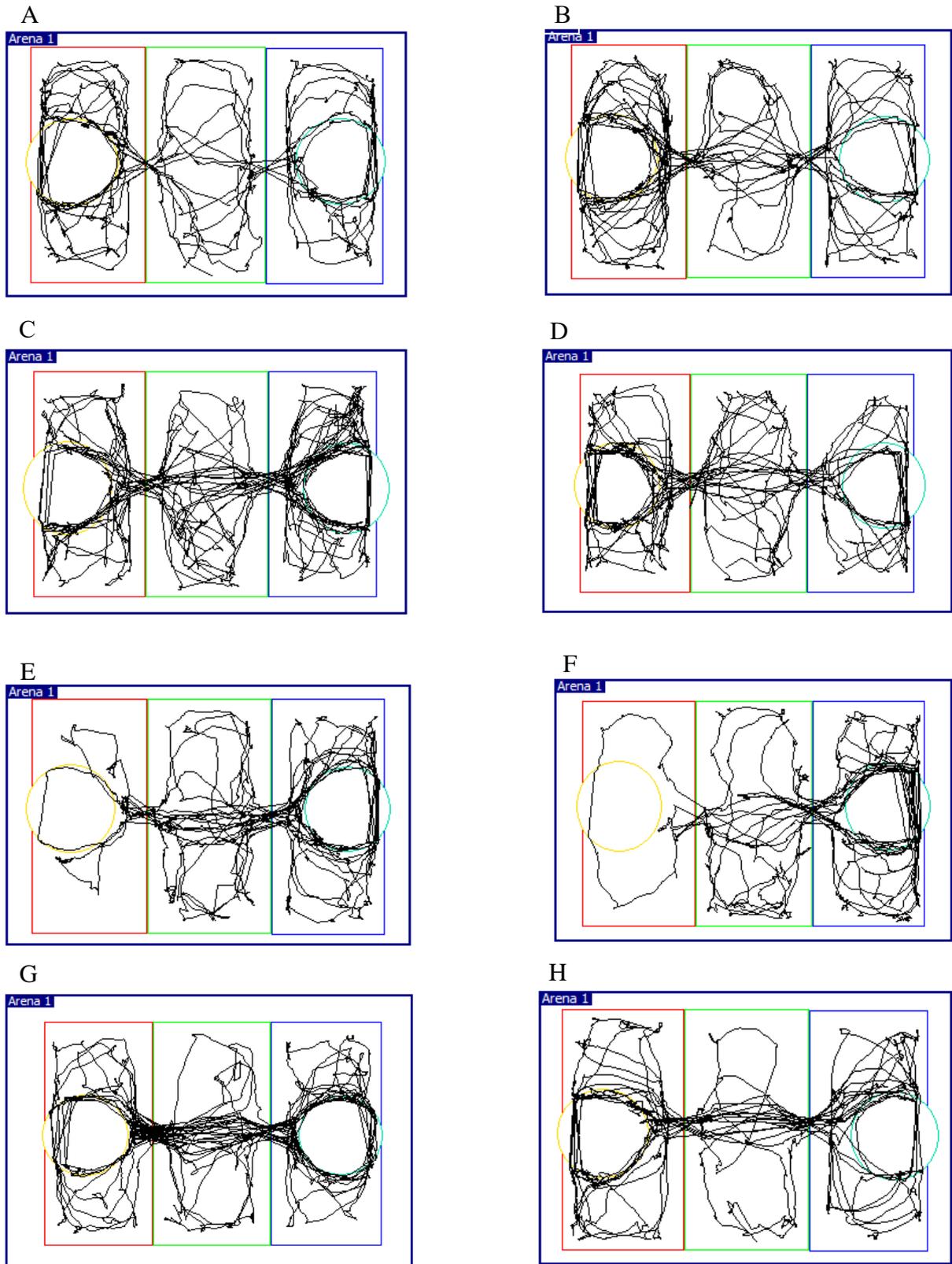
Gráfico 3 - Influência do sexo e efeito do ômega-3 sobre a preferência social de animais submetidos ao modelo de esquizofrenia por dois desafios



As barras representam a média  $\pm$  erro padrão da média (EPM) (n = 8-12 animais por grupo). Os resultados foram analisados por ANOVA de duas vias regular, seguida pelo teste *post hoc* de Tukey. (\*P < 0,05; \*\*P < 0,01; \*\*\*P < 0,001; \*\*\*\*P < 0,0001). Abreviações: PIC = *Polyinosinic-polycytidylic acid* (Poly (I:C)).

O *software*, utilizado na realização do teste de interação social, forneceu imagens que representam a trajetória percorrida por cada animal (FIGURA 9). À esquerda, em vermelho, tem-se a câmara social. À direita, em azul, tem-se a câmara oposta. No centro, em verde, encontra-se a zona neutra. Deste modo, verificou-se que machos e fêmeas do grupo salina (Figuras 8A e 8B, respectivamente) exploraram as três zonas. Os animais do grupo salina + ômega-3 (machos: Figura 8C; fêmeas: Figura 8D) apresentaram comportamento semelhante, percorrendo as três zonas. Machos e fêmeas submetidos ao desafio imune neonatal, combinado a estresse na adolescência, exibiram, em suas trajetórias, uma preferência pela câmara oposta (Figuras 8E e 8F, respectivamente). Em ambos os sexos, o ômega-3 preveniu as alterações induzidas pelo modelo de dois desafios (machos: Figura 8G; fêmeas: Figura 8H). Animais do grupo ômega-3 + PIC + estresse exploraram as três zonas, revelando trajetórias parecidas com as observadas no grupo salina.

Figura 9 - Influência do sexo e efeito do ômega-3 sobre a trajetória percorrida durante o teste de interação social em animais submetidos ao modelo de esquizofrenia por dois desafios



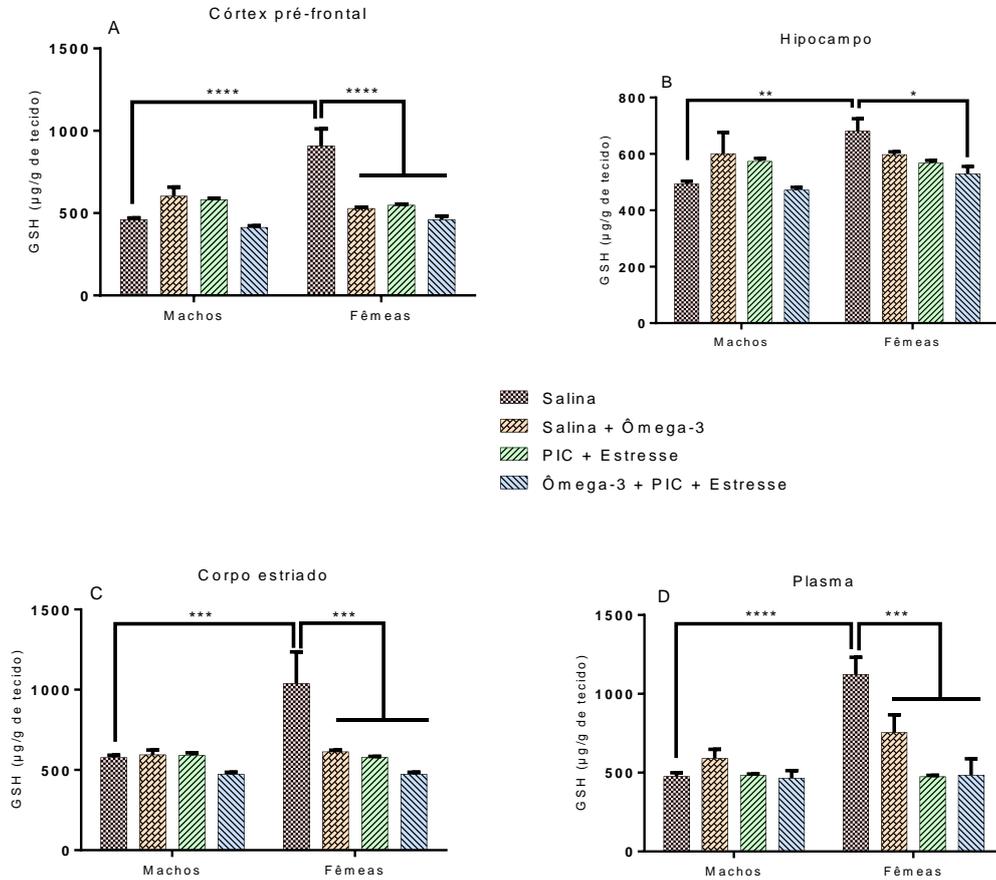
A = grupo salina (machos); B = grupo salina (fêmeas); C = grupo salina + ômega-3 (machos); D = grupo salina + ômega-3 (fêmeas); E = grupo PIC + estresse (machos); F = grupo PIC + estresse (fêmeas); G = grupo ômega-3 + PIC + estresse (machos); H = grupo ômega-3 + PIC + estresse (fêmeas).

## 5.2 Influência do sexo e efeito do ômega-3 sobre parâmetros oxidativos em cérebro e plasma de animais submetidos ao modelo de esquizofrenia por dois desafios

Quanto aos níveis de GSH no córtex pré-frontal, constatou-se uma interação significativa entre os fatores “sexo” e “grupo experimental” [ $F(3, 44) = 17,59, P < 0,0001$ ]. As fêmeas do grupo salina apresentaram níveis elevados de GSH, quando comparadas aos machos do grupo salina ( $P < 0,0001$ ) e fêmeas dos grupos salina + ômega ( $P < 0,0001$ ), PIC + estresse ( $P < 0,0001$ ) e ômega + PIC + estresse ( $P < 0,0001$ ). No hipocampo, observou-se uma interação significativa entre os fatores avaliados [ $F(3, 43) = 4,406, P = 0,0087$ ]. As fêmeas do grupo salina exibiram níveis de GSH consideravelmente elevados, em comparação aos machos do mesmo grupo ( $P = 0,0016$ ) e às fêmeas do grupo ômega-3 + PIC + estresse ( $P = 0,0343$ ).

Observou-se, no corpo estriado, uma interação significativa entre os fatores “sexo” e “grupo experimental” [ $F(3, 41) = 5,385, P = 0,0032$ ]. As fêmeas do grupo salina apresentaram maiores níveis de GSH, quando comparadas aos machos do mesmo grupo ( $P = 0,0008$ ) e às fêmeas dos grupos salina + ômega-3 ( $P = 0,0016$ ), PIC + estresse ( $P = 0,0009$ ) e ômega + PIC + estresse ( $P < 0,0001$ ). No que se refere ao plasma, verificou-se uma significativa interação entre os fatores estudados [ $F(3, 40) = 8,817, P = 0,0001$ ]. Assim como nas áreas cerebrais, as fêmeas do grupo salina exibiram níveis elevados de GSH no plasma, em comparação aos machos do mesmo grupo ( $P < 0,0001$ ) e às fêmeas dos grupos salina + ômega-3 ( $P = 0,0179$ ), PIC + estresse ( $P < 0,0001$ ) e ômega-3 + PIC + estresse ( $P < 0,0001$ ) (GRÁFICO 4).

Gráfico 4 - Influência do sexo e efeito do ômega-3 sobre os níveis de GSH em cérebro e plasma de animais submetidos ao modelo de esquizofrenia por dois desafios

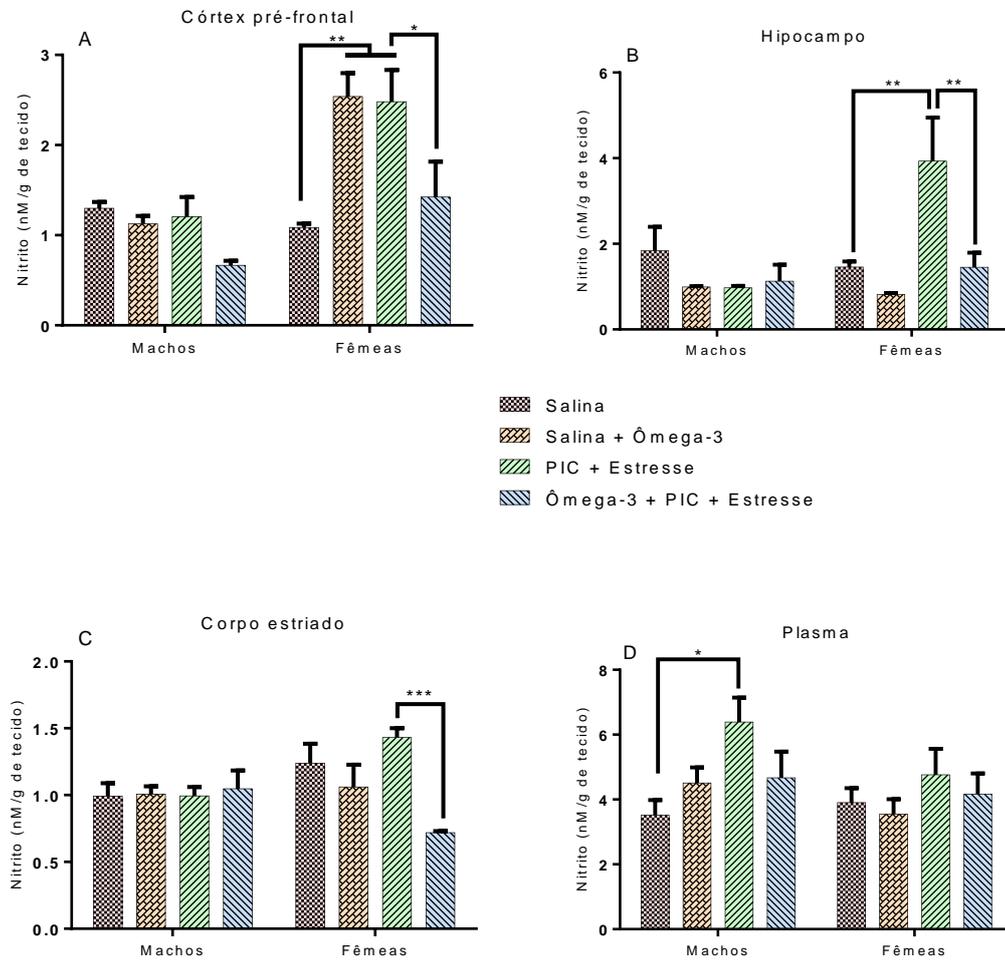


As barras representam a média  $\pm$  erro padrão da média (EPM) ( $n = 6-8$  animais por grupo). Os resultados foram analisados por ANOVA de duas vias regular, seguida pelo teste *post hoc* de Tukey. (\* $P < 0,05$ ; \*\* $P < 0,01$ ; \*\*\* $P < 0,001$ ; \*\*\*\* $P < 0,0001$ ). Abreviações: PIC = *Polyinosinic-polycytidylic acid* (Poly (I:C)); GSH = glutationa reduzida.

Avaliando-se os níveis de nitrito no CPF, constatou-se uma interação significativa entre os fatores “sexo” e “grupo experimental” [ $F(3, 40) = 5,290, P = 0,0036$ ]. Fêmeas dos grupos salina + ômega ( $P = 0,0012$ ) e PIC + estresse ( $P = 0,0021$ ) apresentaram níveis elevados de nitrito, quando comparados ao grupo salina. O ômega-3 preveniu, em fêmeas submetidas ao modelo de dois desafios, o aumento dos níveis de nitrito ( $P = 0,0394$ ). No hipocampo, verificou-se uma interação significativa entre os fatores avaliados [ $F(3, 40) = 5,832, P = 0,0021$ ]. As fêmeas submetidas ao modelo de dois desafios (PIC + estresse) exibiram níveis elevados de nitrito, em comparação ao grupo controle ( $P = 0,0086$ ). O ômega-3 preveniu, significativamente, níveis aumentados de nitrito em fêmeas submetidas ao modelo de dois desafios ( $P = 0,0085$ ).

No corpo estriado, houve interação significativa entre os fatores avaliados [ $F(3, 43) = 4,624, P = 0,0069$ ]. No entanto, apenas o fator “grupo experimental” apresentou efeito principal significativo [ $F(3, 43) = 3,376, P = 0,0268$ ]. Observou-se que as fêmeas do grupo ômega-3 + PIC + estresse exibiram níveis reduzidos de nitrito, em comparação às fêmeas do grupo PIC + estresse ( $P = 0,0010$ ). Quanto ao plasma, não se constatou interação entre os fatores avaliados. Contudo, ressalta-se que o fator “grupo experimental” apresentou efeito principal significativo [ $F(3, 40) = 3,388, P = 0,0272$ ]. Machos submetidos ao modelo de dois desafios exibiram níveis elevados de nitrito, quando comparados ao grupo salina ( $P = 0,0442$ ) (GRÁFICO 5).

Gráfico 5 - Influência do sexo e efeito do ômega-3 sobre os níveis de nitrito em cérebro e plasma de animais submetidos ao modelo de esquizofrenia por dois desafios



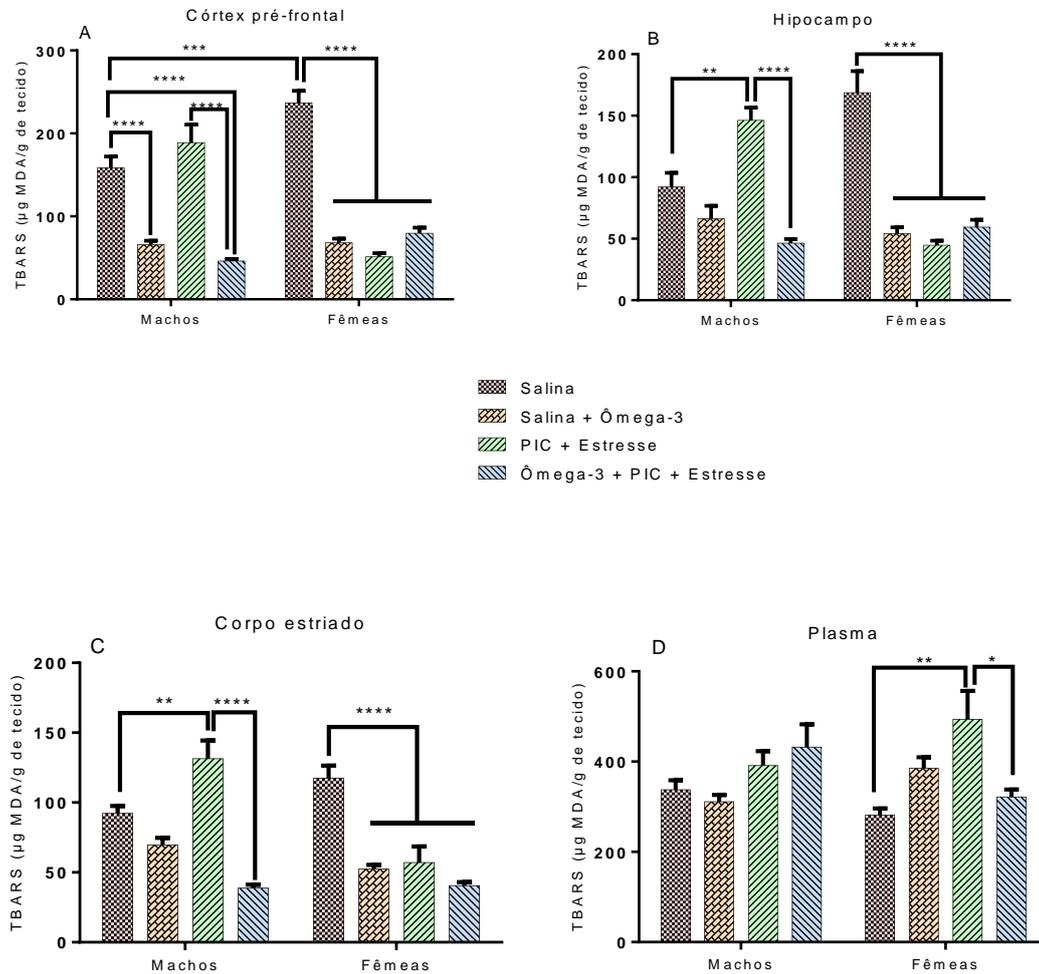
As barras representam a média  $\pm$  erro padrão da média (EPM) ( $n = 6-8$  animais por grupo). Os resultados foram analisados por ANOVA de duas vias regular, seguida pelo teste *post hoc* de Tukey. (\* $P < 0,05$ ; \*\* $P < 0,01$ ; \*\*\* $P < 0,001$ ; \*\*\*\* $P < 0,0001$ ). Abreviações: PIC = *Polyinosinic-polycytidylic acid* (Poly (I:C)).

As análises de peroxidação lipídica apontaram significativa interação entre os fatores no córtex pré-frontal [ $F(3, 43) = 37,20, P < 0,0001$ ], hipocampo [ $F(3, 44) = 29,72, P < 0,0001$ ], corpo estriado [ $F(3, 43) = 16,35, P < 0,0001$ ] e plasma [ $F(3, 40) = 4,484, P = 0,0083$ ]. Destaca-se que, no CPF [ $F(3, 43) = 66,79, P < 0,0001$ ], HC [ $F(3, 44) = 27,83, P < 0,0001$ ] e plasma [ $F(3, 40) = 5,402, P = 0,0032$ ], apenas o fator “grupo experimental” demonstrou efeito principal significativo. Machos, submetidos ao modelo de dois desafios, apresentaram níveis significativamente elevados de TBARS no HC ( $P = 0,0084$ ) e CE ( $P = 0,0093$ ), quando comparados ao grupo salina. O ômega-3 preveniu, de forma significativa, o aumento dos níveis de TBARS no CPF ( $P < 0,0001$ ), HC ( $P < 0,0001$ ) e CE ( $P < 0,0001$ ) de machos submetidos ao modelo de dois desafios.

Verificaram-se níveis reduzidos de TBARS no CPF de machos, pertencentes aos grupos salina + ômega-3 ( $P < 0,0001$ ) e ômega-3 + PIC + estresse ( $P < 0,0001$ ), quando comparados ao grupo salina. Constatou-se, nesta área cerebral, que as fêmeas do grupo salina exibiram maiores níveis de TBARS, quando comparadas aos machos do mesmo grupo experimental ( $P = 0,0002$ ). As fêmeas dos grupos salina + ômega-3 (CPF:  $P < 0,0001$ ; HC:  $P < 0,0001$ ; CE:  $P < 0,0001$ ), PIC + estresse (CPF:  $P < 0,0001$ ; HC:  $P < 0,0001$ ; CE:  $P < 0,0001$ ) e ômega-3 + PIC + estresse (CPF:  $P < 0,0001$ ; HC:  $P < 0,0001$ ; CE:  $P < 0,0001$ ) apresentaram níveis reduzidos de TBARS nas três áreas cerebrais, em comparação ao grupo salina.

Fêmeas submetidas ao desafio imune neonatal, combinado ao estresse na adolescência, exibiram níveis elevados de TBARS no plasma, em comparação ao grupo salina ( $P = 0,0018$ ). Observou-se, ainda, que o ômega-3 preveniu, em fêmeas submetidas aos dois desafios, o aumento dos níveis de TBARS no plasma ( $P = 0,0199$ ) (GRÁFICO 6).

Gráfico 6 - Influência do sexo e efeito do ômega-3 sobre os níveis de TBARS em cérebro e plasma de animais submetidos ao modelo de esquizofrenia por dois desafios



As barras representam a média  $\pm$  erro padrão da média (EPM) ( $n = 6-8$  animais por grupo). Os resultados foram analisados por ANOVA de duas vias regular, seguida pelo teste *post hoc* de Tukey. (\* $P < 0,05$ ; \*\* $P < 0,01$ ; \*\*\* $P < 0,001$ ; \*\*\*\* $P < 0,0001$ ). Abreviações: PIC = *Polyinosinic-polycytidylic acid* (Poly (I:C)); TBARS = substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico.

## 6 DISCUSSÃO

O presente estudo investigou a influência do sexo e o efeito preventivo do ômega-3 sobre alterações comportamentais e neuro-oxidativas em animais submetidos ao modelo de esquizofrenia por desafio imune neonatal, combinado a estresse na adolescência. Nesta perspectiva, verificou-se que a administração de ácidos graxos poli-insaturados (AGPIs) ômega-3 entre os dias pós-natais (DPNs) 30 e 60 preveniu anormalidades relacionadas ao comportamento, bem como alterações neuro-oxidativas.

No presente estudo, que aborda a temática prevenção de esquizofrenia, decidiu-se ampliar a avaliação comportamental de animais adultos (DPN70), no que tange a comportamentos relacionados a sintomas positivos (teste de inibição pré-pulso - IPP), sintomas negativos (teste de interação social) e sintomas cognitivos (teste do labirinto em Y). Entende-se que a avaliação de comportamentos relacionados a estes três grandes sintomas da esquizofrenia fornece uma análise mais ampla dos efeitos preventivos do ômega-3, o que traz um avanço em relação aos trabalhos clínicos já realizados com este ácido graxo que, em sua grande maioria, avaliaram apenas a ocorrência ou não de primeiro surto em adultos jovens com elevado risco para o desenvolvimento da esquizofrenia na adolescência e tratados com ômega-3.

O teste de IPP disponibiliza um indicador operacional do filtro sensório-motor, sendo utilizado para mensurar a relevância translacional dos modelos animais para humanos com doenças neuropsiquiátricas (KHAN; POWELL, 2017). Os resultados deste trabalho revelaram que machos e fêmeas, submetidos ao modelo de dois desafios, apresentaram, nos pré-pulsos (PPs) 70, 75 e 80, deficits significativos de IPP. Ressalta-se que o ômega-3 preveniu, em ambos os sexos, os efeitos do desafio imune neonatal combinado a estresse na adolescência.

Observou-se, no estudo de Monte *et al.* (2017), que animais machos e fêmeas expostos ao PIC nos DPNs 5 a 7 e ao estresse imprevisível na fase peripuberal exibiram deficits de IPP, em comparação aos animais do grupo controle, com ou sem estresse. Vale ressaltar que, neste estudo prévio, os animais machos e fêmeas submetidos aos dois desafios apresentaram alterações mais robustas, quando comparados aos animais submetidos apenas ao PIC, principalmente no caso das fêmeas, fato este que motivou a escolha do modelo de dois desafios para o presente estudo, dado o interesse em estudar a influência do sexo nos efeitos do ômega-3. O modelo de dois desafios também foi utilizado para avaliar os efeitos preventivos da minociclina, antibiótico da classe das tetraciclinas, no contexto da esquizofrenia. Nesta perspectiva, Giovanoli *et al.* (2016) utilizaram um modelo de dois desafios em camundongos,

diferentemente do modelo aqui aplicado, este trabalho prévio utilizou a ativação imune pré-natal com PIC e exposição ao estresse durante a maturação puberal. Constatou-se, portanto, que a associação entre os dois insultos ocasionou, na prole, deficits de IPP em animais adultos e que a minociclina foi capaz de prevenir as alterações.

De acordo com Deslauriers *et al.* (2013), o desafio imune pré-natal, com PIC, seguido por um período de estresse, acarretou, em camundongos, deficits de IPP no DPN36. Yee *et al.* (2011) verificaram, em contrapartida, que a ativação imune materna, com PIC, provocou deficits no filtro sensorio-motor da prole adulta, não havendo efeito do estresse na adolescência.

Investigando-se os efeitos da intervenção dietética com AGPIs ômega-3 sobre alterações comportamentais e bioquímicas, induzidas pela ativação imune materna com PIC, Li *et al.* (2015) observaram que o ômega-3 preveniu deficits de IPP na prole, composta por camundongos machos. Zugno *et al.* (2014) demonstraram que a suplementação com ômega-3 preveniu, em ratos, alterações na porcentagem de IPP, ocasionadas pela administração de cetamina, como modelo de esquizofrenia. Ressalta-se que a injeção de PIC reproduz a resposta de fase aguda à infecção viral (MACÊDO *et al.*, 2012), enquanto a cetamina atua como um antagonista não-competitivo do receptor glutamatérgico N-metil-D-aspartato (NMDA) (SAMPAIO *et al.*, 2018a).

No estudo de Fedorova *et al.* (2009), avaliou-se o efeito da ingestão de diferentes níveis de ácidos graxos  $\omega$ -3 sobre a IPP de camundongos. Verificaram, pois, que dietas deficientes em ômega-3 e ácido  $\alpha$ -linolênico provocaram significativo déficit de IPP, em comparação à dieta contendo os ácidos docosaenoico (DHA) e eicosapentaenoico (EPA).

Déficits cognitivos, principalmente na memória de trabalho, são alterações progressivas que acompanham o curso da esquizofrenia, sendo que os antipsicóticos, na atualidade, têm poucos efeitos sobre estes sintomas, o que chama ainda mais a atenção para a importância da prevenção na esquizofrenia. O teste do labirinto em Y avalia a memória de trabalho mediante o desempenho em alterações espontâneas (MAURICE; LOCKHART; PRIVAT, 1996). Os resultados do presente estudo indicaram que machos e fêmeas, submetidos ao modelo de dois desafios, exibiram porcentagens reduzidas de alterações corretas, em comparação ao grupo salina. O tratamento com ômega-3, no entanto, preveniu, significativamente, estes deficits.

Estes achados de deficits cognitivos pela exposição aos dois desafios corroboram o estudo de Monte *et al.* (2017), no qual machos e fêmeas expostos ao desafio imune neonatal, combinado a estresse na adolescência, apresentaram decréscimos nas porcentagens de

alterações corretas no Y-maze. Da mesma forma, a administração repetida de cetamina, utilizada como um modelo farmacológico de esquizofrenia, causou, em ratos e camundongos, deficits significativos de memória operacional (SAMPAIO *et al.*, 2018b; VASCONCELOS *et al.*, 2015).

Investigando-se os efeitos do ômega-3 na prevenção de alterações induzidas por cetamina em modelo animal de esquizofrenia, Gama *et al.* (2012) constataram que a administração de ômega-3 por 15 dias, iniciando-se no DPN30, preservou, significativamente, a memória de trabalho em ratos, assegurando o papel preventivo destes ácidos graxos quanto aos deficits cognitivos.

O estudo de Lei *et al.* (2013) avaliou os efeitos da suplementação perinatal com ômega-3 em ratos expostos ao sevoflurano, um anestésico geral inalatório. Observou-se que a exposição ao sevoflurano, por 6 horas, prejudicou as memórias de curto prazo e trabalho. Os AGPIs ômega-3, entretanto, atenuaram estas alterações, exercendo, portanto, efeitos protetores mediante exposição ao anestésico. Segundo os autores, os efeitos do ômega-3 estão, possivelmente, associados à redução da apoptose neuronal e do comprometimento da neurogênese, durante o desenvolvimento cerebral.

De acordo com Boespflug *et al.* (2016), a suplementação com ômega-3, por 24 semanas, aumentou a oxigenação de hemoglobina cortical durante a realização de tarefas relacionadas à memória de trabalho. Os pesquisadores sugeriram, portanto, que a ingestão destes ácidos graxos pode amenizar o declínio neurocognitivo, bem como processos neurodegenerativos, em indivíduos idosos com subjetivo comprometimento da memória.

O deficit de interação social é uma característica comportamental de humanos que é simulada em animais submetidos a modelos de esquizofrenia e transtorno do espectro autista (CUSTÓDIO *et al.*, 2017; DICICCO-BLOOM *et al.*, 2006; MOHN *et al.*, 1999; MOLDIN; RUBENSTEIN; HYMAN, 2006; SCHNEIDER; PRZEWŁOCKI, 2005). Com o intuito de avaliar a preferência social, o presente estudo utilizou, como parâmetros, o número de entradas na câmara social e a porcentagem de interação social. Verificou-se que machos e fêmeas, submetidos ao modelo de dois desafios, apresentaram uma redução significativa do número de entradas na câmara social. O ômega-3, por sua vez, preveniu as alterações ocasionadas pelo modelo animal. Quanto à porcentagem de interação social, observou-se que, em ambos os sexos, houve um decréscimo entre os animais expostos ao desafio imune neonatal, combinado a estresse na adolescência. O ômega-3 preveniu, em fêmeas, o déficit de interação social induzido pelo modelo de dois desafios.

Monte *et al.* (2017) constataram que a associação entre o desafio imune neonatal e o estresse pré-púbere causou, em machos, um déficit de interação social. As fêmeas submetidas ao modelo de dois desafios, contudo, revelaram um comprometimento da preferência social, em comparação ao grupo salina com estresse. Neste contexto, os autores demonstraram que machos, submetidos aos dois desafios, apresentaram déficits de interação social mais expressivos do que as fêmeas.

Estudos apontam que o modelo animal de esquizofrenia, induzido por cetamina, ocasiona redução significativa na preferência social (ARAUJO *et al.*, 2017; MONTE *et al.*, 2013; VASCONCELOS *et al.*, 2015). Bitanihirwe *et al.* (2010) investigaram, mediante desafio imune pré-natal tardio, possíveis alterações comportamentais e neuroquímicas, relacionadas aos sintomas negativos da esquizofrenia. Os autores concluíram que a exposição pré-natal ao PIC, no dia gestacional (DG) 17, provocou, na prole, déficit de interação social em camundongos de ambos os sexos. Aavani *et al.* (2015) observaram, em camundongos, que a ativação imune pré-natal, com PIC, causou deficit de preferência social em machos e fêmeas na adolescência (DPN40).

Avaliando-se os efeitos do ômega-3 sobre alterações comportamentais, induzidas por cetamina, Gama *et al.* (2012) atestaram que os AGPIs ômega-3 previnem déficits acentuados de interação social em ratos machos (DPN52). Constataram, ainda, que animais tratados com cetamina apresentaram déficits quanto ao tempo de interação e contato com outros animais, em comparação aos grupos controle, ômega-3 e cetamina mais ômega-3. Vale destacar que DPN52 representa a idade de adulto jovem, enquanto as avaliações do presente estudo representam a idade adulta (DPN70), revelando que o efeito do ômega-3 é duradouro.

Com o propósito de investigar os efeitos do celecoxibe, um anti-inflamatório não esteroide, bem como do ômega-3, sobre sintomas positivos, negativos e cognitivos, El-Sisi *et al.* (2016) utilizaram um modelo animal de esquizofrenia, induzido por anfetamina. Nesta perspectiva, os autores observaram que os animais tratados com celecoxibe ou ômega-3 exibiram efeitos positivos quanto à interação social.

Fortunato *et al.* (2017) demonstraram que a exposição pré-natal aos lipopolissacarídeos (LPS) reduziu a interação social na prole. Entretanto, a suplementação (21 dias) com AGPIs ômega-3, a partir do DPN30, reverteu, em ratos, os déficits relacionados ao comportamento social.

Tem-se investigado o ômega-3 também em indivíduos adolescentes com elevado risco de desenvolver esquizofrenia. Neste contexto, o acompanhamento, por 6,7 anos, de adolescentes tratados por 12 semanas com ômega-3 mostrou uma taxa de conversão para

psicose de 9,8% no grupo ômega-3 em comparação com 40 % no grupo controle (AMMINGER et al., 2015). Isto mostra a validade translacional de estudos pré-clínicos abordando efeitos comportamentais a longo prazo, induzidos pelo uso preventivo de ômega-3 em machos e fêmeas, bem como os possíveis mecanismos associados a estes efeitos.

Com o intuito de avaliar possíveis mecanismos associados aos efeitos preventivos do ômega-3, buscou-se avaliar parâmetros neuro-oxidativos. Neste contexto, a glutathiona reduzida (GSH) é considerada um antioxidante não enzimático que regula o equilíbrio redox e o estresse oxidativo (LU, 2013; PASTORE *et al.*, 2001), estando fortemente implicada na esquizofrenia, dada sua interação com neurotransmissão glutamatérgica. Os resultados do presente estudo revelaram que fêmeas do grupo salina apresentaram, em comparação aos machos do mesmo grupo, níveis elevados de GSH no córtex pré-frontal (CPF), hipocampo (HC), corpo estriado (CE) e plasma. Observou-se, ainda, que fêmeas submetidas ao modelo de dois desafios, tratadas ou não com ômega-3, exibiram deficits de GSH nas áreas cerebrais e plasma. Neste trabalho, os animais machos não apresentaram alterações.

Determinando-se os níveis de GSH em animais expostos aos dois desafios, Monte *et al.* (2017) observaram um decréscimo destes níveis no CPF de machos e fêmeas, bem como no CE de fêmeas. Há evidências de que o modelo de esquizofrenia, induzido por cetamina, causa redução dos níveis de GSH no CPF, HC e CE de camundongos (ARAUJO *et al.*, 2017; VASCONCELOS *et al.*, 2015).

O decréscimo dos níveis de GSH, no CPF *post-mortem* de pacientes com esquizofrenia, transtorno depressivo maior e transtorno bipolar, compromete o potencial antioxidante e torna o cérebro destes indivíduos mais susceptível ao dano oxidativo (GAWRYLUK *et al.*, 2011). Kulak, Cuenod e Do (2012) atestaram que o comprometimento da regulação redox e da defesa antioxidante, devido à redução dos níveis de GSH, está associado ao desenvolvimento da esquizofrenia e do transtorno bipolar. De acordo com Gawryluk *et al.* (2011), níveis alterados de GSH, no sistema nervoso central de pacientes com esquizofrenia, estão, possivelmente, associados a níveis reduzidos de glutathiona peroxidase (GSH-Px).

Langbein *et al.* (2017) constataram deficit na atividade da glutathiona redutase (GSR) em pacientes com primeiro episódio psicótico. Verificou-se, ainda, que a atividade desta enzima, considerada um marcador indireto do estresse oxidativo, está inversamente correlacionada à depressão e aos sintomas negativos. Segundo Barker *et al.* (1996), a redução na atividade da GSR resulta, provavelmente, da depleção de GSH. O estudo de Nucifora *et al.* (2017) revelou uma redução dos níveis plasmáticos de GSH em pacientes com esquizofrenia e

transtorno bipolar. Embora não seja um indicador direto do estado psicótico, a redução dos níveis de GSH está relacionada a uma predisposição à psicose (NUCIFORA et al., 2017).

Avaliando-se a atividade da GSH-Px em animais submetidos ao modelo de esquizofrenia por cetamina, Zugno *et al.* (2014) observaram efeitos positivos do ômega-3 no estriado e hipocampo. Ozyurt *et al.* (2007) verificaram um aumento na atividade da GSH-Px no CPF de animais expostos ao modelo experimental de psicose induzido por MK-801, em comparação ao grupo tratado com ômega-3. Possivelmente, a elevada atividade da enzima reflete um prévio estresse oxidativo ou funciona como mecanismo compensatório (OZYURT *et al.*, 2007).

Duffy *et al.* (2015) associaram a intensidade dos sintomas depressivos, em idosos, com elevados níveis de GSH no cérebro. A suplementação com ômega-3, contudo, atenuou os mecanismos relacionados ao estresse oxidativo, propiciando efeitos preventivos quanto à depressão (DUFFY *et al.*, 2015). Avaliando-se o estresse oxidativo nos cérebros de ratas submetidas à ovariectomia, Behling *et al.* (2015) constataram que a suplementação com DHA, por 3 meses, recuperou os valores referentes aos antioxidantes, os quais foram reduzidos mediante o procedimento cirúrgico, elevando, assim, a atividade da GSH-Px e os níveis de GSH total. Sugere-se, pois, uma interação entre estrógeno, respostas antioxidantes e AGPIs ômega-3.

Mediante as alterações oxidativas na esquizofrenia, aponta-se que níveis elevados de metabólitos do óxido nítrico, associados a outros radicais livres, provavelmente contribuem para a neurobiologia do transtorno (OZYURT *et al.*, 2014). O presente estudo demonstrou que fêmeas, submetidas ao modelo de dois desafios, apresentaram níveis elevados de nitrito no CPF e HC. O ômega-3, no entanto, preveniu os níveis aumentados de nitrito no CPF, HC e CE. Verificou-se, ainda, que machos expostos aos dois desafios exibiram níveis elevados de nitrito no plasma.

Monte *et al.* (2017) observaram níveis aumentados de nitrito no CPF de machos e fêmeas submetidos ao desafio imune neonatal, combinado a estresse na adolescência. Quanto ao CE, apenas as fêmeas apresentaram alterações nos níveis de nitrito (MONTE *et al.*, 2017), corroborando os resultados do presente estudo. Pesquisas apontam níveis elevados de nitrito no HC (SAMPAIO et al., 2018b) e CE (MONTE *et al.*, 2013) de animais expostos ao modelo de esquizofrenia, induzido por cetamina.

De acordo com Djorgevič *et al.* (2016), a determinação conjunta de níveis séricos do fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) e das concentrações plasmáticas de nitrito/nitrato ( $\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$ ), em indivíduos com esquizofrenia, indicou correlação inversa.

Enquanto os níveis de BDNF sérico são significativamente baixos, as concentrações de  $\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$ , no plasma, são consideravelmente elevadas nestes pacientes, não havendo diferenças entre homens e mulheres (DJORGEVIĆ *et al.*, 2016).

Avaliando-se o estresse oxidativo em pacientes com esquizofrenia, Bošković *et al.* (2013) observaram uma correlação negativa entre as concentrações de  $\text{NO}_2^-$  e malondialdeído (MDA); um indicador de peroxidação lipídica. Constataram, também, uma correlação positiva entre os níveis de  $\text{NO}_2^-$  e os biomarcadores de defesa antioxidante (BOŠKOVIĆ *et al.*, 2013). Nakano *et al.* (2010) detectaram níveis reduzidos de  $\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$  no plasma de pacientes com esquizofrenia. Além disso, demonstraram que indivíduos, com graves sintomas negativos, apresentam baixas concentrações de  $\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$  no plasma (NAKANO *et al.*, 2010).

De Araújo *et al.* (2017) investigaram os efeitos do ômega-3 em ratos submetidos à indução de discinesia tardia. Nesta perspectiva, verificaram que a suplementação com ômega-3 reduziu as concentrações de  $\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$  no CPF e CE, em comparação aos animais expostos ao modelo experimental (DE ARAÚJO *et al.*, 2017). Investigando-se o efeito protetor do ômega-3 em ratos expostos a um modelo experimental da doença de Parkinson, Barros *et al.* (2017) demonstraram que a suplementação com ômega-3 reduziu, significativamente, os níveis de nitrito no CPF, HC e CE dos animais, em comparação ao grupo submetido ao modelo.

A determinação de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) se fundamenta em método, bem estabelecido, que rastreia e monitora a peroxidação lipídica (YAGI, 1998). O presente estudo revelou que o ômega-3 preveniu, significativamente, níveis elevados de TBARS no CPF, HC e CE de machos, bem como no plasma de fêmeas, quando comparados aos animais submetidos ao modelo de dois desafios. Fêmeas expostas aos dois desafios, tratadas ou não com ômega-3, apresentaram níveis reduzidos de TBARS no CPF, HC e CE, em comparação ao grupo salina.

Monte *et al.* (2017) verificaram que machos e fêmeas expostos ao desafio imune neonatal, combinado a estresse na adolescência, apresentam níveis elevados de TBARS no CPF e CE. Estudos apontam níveis significativamente elevados de TBARS no CPF, HC e CE de animais submetidos ao modelo de esquizofrenia, induzido por cetamina (ARAÚJO *et al.*, 2017; MONTE *et al.*, 2013; VASCONCELOS *et al.*, 2015). Radonjić *et al.* (2010) observaram níveis aumentados de TBARS no hipocampo e tálamo de animais expostos ao modelo de esquizofrenia desenvolvido mediante a administração perinatal de fenciclidina.

No estudo de Bošković *et al.* (2013), verificou-se uma correlação negativa entre  $\text{NO}_2^-$  e MDA no plasma de pacientes com esquizofrenia. Constatou-se, ainda, uma correlação negativa entre as concentrações de MDA e biomarcadores de defesa antioxidante, ratificando

que o aumento da peroxidação lipídica está relacionado com a redução da defesa antioxidante (BOŠKOVIĆ *et al.*, 2013). Skinner, Mahadik e Garver (2005) constataram níveis reduzidos de TBARS no líquido cefalorraquidiano (LCR) de pacientes com esquizofrenia, durante um processo psicótico ativo. Os autores sugeriram que estes resultados decorrem da redução dos fosfolipídeos de membrana no sistema nervoso central.

Investigando-se os efeitos do ômega-3 sobre o estresse oxidativo, Ozyurt *et al.* (2007) observaram uma redução significativa dos níveis de TBARS no CPF de animais expostos ao MK-801 e tratados com ômega-3. Zugno *et al.* (2014) atestaram que animais submetidos às doses repetidas de cetamina apresentaram níveis reduzidos de TBARS no HC e CE, quando tratados com ômega-3.

Sarsilmaz *et al.* (2003) detectaram, no CE de ratos tratados com ômega-3, um considerável decréscimo na produção de TBARS. Utilizando-se um modelo experimental de discinesia tardia, De Araújo *et al.* (2017) constataram um provável efeito neuroprotetor do ômega-3, uma vez que reduziu, significativamente, a peroxidação lipídica no CPF, HC e CE. Barros *et al.* (2017) verificaram que a suplementação com ômega-3 ocasionou uma expressiva redução dos níveis de TBARS em ratos expostos ao modelo de doença de Parkinson, induzido por 6-hidroxidopamina (6-OHDA).

De forma geral, os resultados deste estudo indicam o potencial efeito protetor do ômega-3 em modelo de esquizofrenia induzido por dois desafios, em animais de ambos os sexos, mostrando a participação de mecanismos neuro-oxidantes distintos em machos e fêmeas. Neste contexto, as fêmeas apresentaram alterações nos níveis cerebrais de nitrito que foram prevenidas pelo ômega-3, enquanto os machos apresentaram, principalmente, peroxidação lipídica. Observaram-se, também, resultados controversos quanto às alterações cerebrais e sua correlação com marcadores sanguíneos, o que se manifestou de forma oposta, ou seja, nos parâmetros sanguíneos, as fêmeas apresentaram alterações referentes à peroxidação lipídica e os machos quanto aos níveis de nitrito. Estes resultados, portanto, revelam a dificuldade no estabelecimento de biomarcadores, o que é amplamente reconhecido nos estudos em psiquiatria.

## 7 CONCLUSÃO

O presente estudo demonstrou que o desafio imune neonatal, combinado a estresse na adolescência, provocou alterações comportamentais referentes aos sintomas positivos, negativos e cognitivos da esquizofrenia em animais adultos. Verificou-se que a administração de ácidos graxos poli-insaturados ômega-3 preveniu, significativamente, estas alterações. Quanto aos parâmetros neuro-oxidativos, constatou-se que o ômega-3 preveniu, parcialmente, o estresse oxidativo, reduzindo a peroxidação lipídica e os níveis de nitrito nas áreas cerebrais de machos e fêmeas, respectivamente. Os resultados sugerem que este ácido graxo se apresenta, portanto, como uma alternativa acessível e eficaz na prevenção de alterações comportamentais e oxidativas relacionadas à esquizofrenia.

## REFERÊNCIAS

- AAVANI, T. *et al.* Maternal immune activation produces cerebellar hyperplasia and alterations in motor and social behaviors in male and female mice. **The Cerebellum**, v. 14, n. 5, p. 491–505, out. 2015.
- ABEDI, E.; SAHARI, M. A. Long-chain polyunsaturated fatty acid sources and evaluation of their nutritional and functional properties. **Food Science & Nutrition**, v. 2, n. 5, p. 443–463, set. 2014.
- ABEL, K. M.; DRAKE, R.; GOLDSTEIN, J. M. Sex differences in schizophrenia. **International Review of Psychiatry**, v. 22, n. 5, p. 417–428, out. 2010.
- ABI-DARGHAM, A. *et al.* Increased baseline occupancy of D2 receptors by dopamine in schizophrenia. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 97, n. 14, p. 8104–8109, 2000.
- ABI-DARGHAM, A. *et al.* Baseline and amphetamine-stimulated dopamine activity are related in drug-naïve schizophrenic subjects. **Biological Psychiatry**, v. 65, n. 12, p. 1091–1093, jun. 2009.
- AKIRA, S.; TAKEDA, K. Toll-like receptor signalling. **Nature Reviews Immunology**, v. 4, n. 7, p. 499–511, jul. 2004.
- ALLEN, N. C. *et al.* Systematic meta-analyses and field synopsis of genetic association studies in schizophrenia: the SzGene database. **Nature Genetics**, v. 40, n. 7, p. 827–834, jul. 2008.
- ALMAGUER-MELIAN, W.; CRUZ-AGUADO, R.; BERGADO, J. A. Synaptic plasticity is impaired in rats with a low glutathione content. **Synapse**, v. 38, n. 4, p. 369–374, dez. 2000.
- ALTUNTAS, I. *et al.* Erythrocyte superoxide dismutase and glutathione peroxidase activities, and malondialdehyde and reduced glutathione levels in schizophrenic patients. **Clinical Chemistry and Laboratory Medicine**, v. 38, n. 12, p. 1277–1281, jan. 2000.
- AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION. **Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders**. 5th. ed. Washington, DC, 2013.
- AMMINGER, G. P. *et al.* Long-chain  $\omega$ -3 fatty acids for indicated prevention of psychotic disorders. **Archives of General Psychiatry**, v. 67, n. 2, p. 146–154, fev. 2010.
- AMMINGER, G. P. *et al.* Decreased nervonic acid levels in erythrocyte membranes predict psychosis in help-seeking ultra-high-risk individuals. **Molecular Psychiatry**, v. 17, n. 12, p. 1150–1152, 2012.
- AMMINGER, G. P. *et al.* Longer-term outcome in the prevention of psychotic disorders by the Vienna omega-3 study. **Nature Communications**, v. 6, n. 1, p. 7934, dez. 2015.
- ANDERSON, G. Neuronal–immune interactions in mediating stress effects in the etiology

and course of schizophrenia: role of the amygdala in developmental co-ordination. **Medical Hypotheses**, v. 76, n. 1, p. 54–60, jan. 2011.

ANDERSON, G. *et al.* Immuno-inflammatory, oxidative and nitrosative stress, and neuroprogressive pathways in the etiology, course and treatment of schizophrenia. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, v. 42, p. 1–4, abr. 2013.

ANNAMALAI, A.; KOSIR, U.; TEK, C. Prevalence of obesity and diabetes in patients with schizophrenia. **World Journal of Diabetes**, v. 8, n. 8, p. 390–396, 2017.

ARAUJO, T. S. *et al.* Reversal of schizophrenia-like symptoms and immune alterations in mice by immunomodulatory drugs. **Journal of Psychiatric Research**, v. 84, p. 49–58, jan. 2017.

ASSISI, A. *et al.* Fish oil and mental health: the role of n-3 long-chain polyunsaturated fatty acids in cognitive development and neurological disorders. **International Clinical Psychopharmacology**, v. 21, n. 6, p. 319–336, nov. 2006.

AYHAN, Y.; MCFARLAND, R.; PLETNIKOV, M. V. Animal models of gene–environment interaction in schizophrenia: a dimensional perspective. **Progress in Neurobiology**, v. 136, p. 1–27, jan. 2016.

BAO, A. M.; SWAAB, D. F. Sexual differentiation of the human brain: relation to gender identity, sexual orientation and neuropsychiatric disorders. **Frontiers in Neuroendocrinology**, v. 32, n. 2, p. 214–226, abr. 2011.

BARAJAS, A. *et al.* Gender differences in individuals at high-risk of psychosis: a comprehensive literature review. **The Scientific World Journal**, v. 2015, p. 1–13, 2015.

BARKER, J. E. *et al.* Depletion of brain glutathione results in a decrease of glutathione reductase activity; an enzyme susceptible to oxidative damage. **Brain Research**, v. 716, n. 1–2, p. 118–122, abr. 1996.

BARROS, A. S. *et al.* Impact of the chronic omega-3 fatty acids supplementation in hemiparkinsonism model induced by 6-hydroxydopamine in rats. **Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology**, v. 120, n. 6, p. 523–531, jun. 2017.

BEHLING, C. S. *et al.* Treatment of oxidative stress in brain of ovariectomized rats with omega-3 and lipoic acid. **Molecular Nutrition & Food Research**, v. 59, n. 12, p. 2547–2555, dez. 2015.

BERGER, G. E. *et al.* Ethyl-eicosapentaenoic acid in first-episode psychosis: a randomized, placebo-controlled trial. **Journal of Clinical Psychiatry**, v. 68, n. 12, p. 1867–1875, 2007.

BERK, M. *et al.* N-acetyl cysteine as a glutathione precursor for schizophrenia—a Double-blind, randomized, placebo-controlled trial. **Biological Psychiatry**, v. 64, n. 5, p. 361–368, set. 2008.

BITANHIRWE, B. K. Y. *et al.* Late prenatal immune activation in mice leads to behavioral and neurochemical abnormalities relevant to the negative symptoms of schizophrenia.

**Neuropsychopharmacology**, v. 35, n. 12, p. 2462–2478, nov. 2010.

BITANIHIRWE, B. K. Y.; WOO, T. U. W. Oxidative stress in schizophrenia: an integrated approach. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 35, n. 3, p. 878–893, jan. 2011.

BOESPFLUG, E. L. *et al.* Fish oil supplementation increases event-related posterior cingulate activation in older adults with subjective memory impairment. **The Journal of Nutrition, Health & Aging**, v. 20, n. 2, p. 161–169, fev. 2016.

BOKSA, P. Effects of prenatal infection on brain development and behavior: a review of findings from animal models. **Brain, Behavior, and Immunity**, v. 24, n. 6, p. 881–897, ago. 2010.

BOLTON, J. L. *et al.* Prenatal air pollution exposure induces neuroinflammation and predisposes offspring to weight gain in adulthood in a sex-specific manner. **The FASEB Journal**, v. 26, n. 11, p. 4743–4754, nov. 2012.

BOŠKOVIĆ, M. *et al.* Oxidative stress in schizophrenia. **Current Neuropharmacology**, v. 9, n. 2, p. 301–312, jun. 2011.

BOŠKOVIĆ, M. *et al.* Oxidative stress in schizophrenia patients treated with long-acting haloperidol decanoate. **Psychiatry Research**, v. 210, n. 3, p. 761–768, dez. 2013.

BRAFF, D. L. *et al.* Prepulse inhibitory deficits in schizophrenia: gender effects. **Biological Psychiatry**, v. 37, p. 654, 1995.

BRESSAN, R. A.; PILOWSKY, L. S. Hipótese glutamatérgica da esquizofrenia. **Revista Brasileira de Psiquiatria**, v. 25, n. 3, p. 177–183, set. 2003.

BROWN, A. S. *et al.* Serologic evidence of prenatal influenza in the etiology of schizophrenia. **Archives of General Psychiatry**, v. 61, n. 8, p. 774–780, 1 ago. 2004.

BROWN, A. S. The environment and susceptibility to schizophrenia. **Progress in Neurobiology**, v. 93, n. 1, p. 23–58, jan. 2011.

BROWN, A. S.; DERKITS, E. J. Prenatal infection and schizophrenia: a review of epidemiologic and translational studies. **American Journal of Psychiatry**, v. 167, n. 3, p. 261–280, mar. 2010.

CALDER, P. C. Fatty acids and inflammation: the cutting edge between food and pharma. **European Journal of Pharmacology**, v. 668, p. S50–S58, set. 2011.

CAMERON, D. E. Early schizophrenia. **American Journal of Psychiatry**, v. 95, n. 3, p. 567–582, nov. 1938.

CANTOR-GRAAE, E.; PEDERSEN, C. B. Risk of schizophrenia in second-generation immigrants: a Danish population-based cohort study. **Psychological Medicine**, v. 37, n. 4, p. 485–494, 2007.

CARLSSON, A.; LINDQVIST, M. Effect of chlorpromazine or haloperidol on formation of

3-methoxytyramine and normetanephrine in mouse brain. **Acta Pharmacologica et Toxicologica**, v. 20, n. 2, p. 140–144, 1963.

CARPENTER, W. T.; KOENIG, J. I. The evolution of drug development in schizophrenia: past issues and future opportunities. **Neuropsychopharmacology**, v. 33, n. 9, p. 2061–2079, ago. 2008.

CASTLE, D. J.; WESSELY, S.; MURRAY, R. M. Sex and schizophrenia: effects of diagnostic stringency, and associations with premorbid variables. **British Journal of Psychiatry**, v. 162, n. 5, p. 658–664, maio 1993.

CASTLE, D.; SHAM, P.; MURRAY, R. Differences in distribution of ages of onset in males and females with schizophrenia. **Schizophrenia Research**, v. 33, n. 3, p. 179–183, out. 1998.

CATALDO, A. M. *et al.* Abnormalities in mitochondrial structure in cells from patients with bipolar disorder. **The American Journal of Pathology**, v. 177, n. 2, p. 575–585, ago. 2010.

CHAPMAN, J. The early symptoms of schizophrenia. **The British Journal of Psychiatry**, v. 112, n. 484, p. 225–51, mar. 1966.

CHEN, J. *et al.* Transfection of mEpo gene to intestinal epithelium in vivo mediated by oral delivery of chitosan-DNA nanoparticles. **World Journal of Gastroenterology**, v. 10, n. 1, p. 112–116, 2004.

CHEN, J. J.; YU, B. P. Alterations in mitochondrial membrane fluidity by lipid peroxidation products. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 17, n. 5, p. 411–418, nov. 1994.

CIOBICA, A. *et al.* Oxidative stress in schizophrenia - Focusing on the main markers. **Psychiatria Danubina**, v. 23, n. 3, p. 237–245, 2011.

CLARK, S. R. *et al.* Prediction of transition from ultra-high risk to first-episode psychosis using a probabilistic model combining history, clinical assessment and fatty-acid biomarkers. **Translational Psychiatry**, v. 6, n. 9, p. e897, set. 2016.

CONNELL, P. H. Amphetamine psychosis. **British Medical Journal**, v. 1, n. 5018, p. 582, 1957.

CORNBLATT, B. *et al.* Cognitive and behavioral precursors of schizophrenia. **Development and Psychopathology**, v. 11, n. 3, p. 487–508, set. 1999.

CORRADO EQUIPAMENTOS BIOLÓGICOS. **Teste do labirinto em Y**. Disponível em: <<http://www.cebiolog.com.br/comportamento--labirinto--rastreamento.html>>. Acesso em: 6 jan. 2018.

COUGHLIN, J. M. *et al.* Marked reduction of soluble superoxide dismutase-1 (SOD1) in cerebrospinal fluid of patients with recent-onset schizophrenia. **Molecular Psychiatry**, v. 18, n. 1, p. 10–11, jan. 2013.

CUNNINGHAM OWENS, D. G. *et al.* Pathogenesis of schizophrenia: a psychopathological perspective. **British Journal of Psychiatry**, v. 186, n. 5, p. 386–393, maio 2005.

- CUSTÓDIO, C. S. *et al.* Neonatal immune challenge with lipopolysaccharide triggers long-lasting sex- and age-related behavioral and immune/neurotrophic alterations in mice: relevance to autism spectrum disorders. **Molecular Neurobiology**, p. 1–14, maio 2017.
- DALL'IGNA, O. P. *et al.* Caffeine and adenosine A2a receptor antagonists prevent  $\beta$ -amyloid (25-35)-induced cognitive deficits in mice. **Experimental Neurology**, v. 203, n. 1, p. 241–245, 2007.
- DAS, U. N. Biological significance of essential fatty acids. **The Journal of the Association of Physicians of India**, v. 54, p. 309–319, 2006a.
- DAS, U. N. Essential fatty acids: biochemistry, physiology and pathology. **Biotechnology Journal**, v. 1, n. 4, p. 420–439, abr. 2006b.
- DAVIS, J. *et al.* Neuroprogression in schizophrenia: pathways underpinning clinical staging and therapeutic corollaries. **Australian & New Zealand Journal of Psychiatry**, v. 48, n. 6, p. 512–529, jun. 2014.
- DAVIS, J. *et al.* A review of vulnerability and risks for schizophrenia: beyond the two hit hypothesis. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 65, p. 185–194, jun. 2016.
- DAVIS, K. L. *et al.* Dopamine in schizophrenia: a review and reconceptualization. **American Journal of Psychiatry**, v. 148, n. 11, p. 1474–1486, nov. 1991.
- DAWE, G. S.; HWANG, E. H. J.; TAN, C. H. Pathophysiology and animal models of schizophrenia. **Annals of the Academy of Medicine, Singapore**, v. 38, n. 5, p. 425–6, 2009.
- DE ARAÚJO, D. P. *et al.* Behavioral and neurochemical effects of alpha lipoic acid associated with omega-3 in tardive dyskinesia induced by chronic haloperidol in rats. **Canadian Journal of Physiology and Pharmacology**, v. 95, n. 7, p. 837–843, jul. 2017.
- DECSI, T.; KENNEDY, K. Sex-specific differences in essential fatty acid metabolism. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 94, p. 1914S–1919S, dez. 2011.
- DESLAURIERS, J. *et al.* Combination of prenatal immune challenge and restraint stress affects prepulse inhibition and dopaminergic/GABAergic markers. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, v. 45, p. 156–164, ago. 2013.
- DICICCO-BLOOM, E. *et al.* The developmental neurobiology of autism spectrum disorder. **Journal of Neuroscience**, v. 26, n. 26, p. 6897–6906, jun. 2006.
- DIETRICH-MUSZALSKA, A.; OLAS, B. Isoprostenes as indicators of oxidative stress in schizophrenia. **The World Journal of Biological Psychiatry**, v. 10, n. 1, p. 27–33, jan. 2009.
- DIETRICH-MUSZALSKA, A.; OLAS, B.; RABE-JABLONSKA, J. Oxidative stress in blood platelets from schizophrenic patients. **Platelets**, v. 16, n. 7, p. 386–391, nov. 2005.
- DJORGEVIČ, V. *et al.* Diagnostic accuracy of brain-derived neurotrophic factor and nitric oxide in patients with schizophrenia. a pilot study. **Journal of Medical Biochemistry**, v. 35, n. 1, p. 7–16, jan. 2016.

DO, K. Q.; CUENOD, M.; HENSCH, T. K. Targeting oxidative stress and aberrant critical period plasticity in the developmental trajectory to schizophrenia. **Schizophrenia Bulletin**, v. 41, n. 4, p. 835–846, jul. 2015.

DOCHERTY, J. P. *et al.* Stages of onset of schizophrenic psychosis. **American Journal of Psychiatry**, v. 135, n. 4, p. 420–426, abr. 1978.

DONLON, P. T.; BLACKER, K. H. Stages of schizophrenic decompensation and reintegration. **The Journal of Nervous and Mental Disease**, v. 157, n. 3, p. 200–209, set. 1973.

DRAKE, R. J. *et al.* The evolution of symptoms in the early course of non-affective psychosis. **Schizophrenia Research**, v. 63, n. 1–2, p. 171–179, set. 2003.

DRAZANOVA, E. *et al.* Poly(I:C) model of schizophrenia in rats induces sex-dependent functional brain changes detected by MRI that are not reversed by aripiprazole treatment. **Brain Research Bulletin**, v. 137, p. 146–155, mar. 2018.

DUFFY, S. L. *et al.* The effect of 12-wk  $\omega$ -3 fatty acid supplementation on in vivo thalamus glutathione concentration in patients “at risk” for major depression. **Nutrition**, v. 31, n. 10, p. 1247–1254, out. 2015.

EL-SISI, A. E. S. *et al.* Celecoxib and omega-3 fatty acids alone and in combination with risperidone affect the behavior and brain biochemistry in amphetamine-induced model of schizophrenia. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 82, p. 425–431, ago. 2016.

EMILIANI, F. E.; SEDLAK, T. W.; SAWA, A. Oxidative stress and schizophrenia. **Current Opinion in Psychiatry**, v. 27, n. 3, p. 185–190, maio 2014.

ERANTI, S. V. *et al.* Gender difference in age at onset of schizophrenia: a meta-analysis. **Psychological Medicine**, v. 43, n. 1, p. 155–167, jan. 2013.

EVANS, D. R. *et al.* Red blood cell membrane essential fatty acid metabolism in early psychotic patients following antipsychotic drug treatment. **Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids**, v. 69, n. 6, p. 393–399, dez. 2003.

FATTAL, O. *et al.* Review of the literature on major mental disorders in adult patients with mitochondrial diseases. **Psychosomatics**, v. 47, n. 1, p. 1–7, jan. 2006.

FEDOROVA, I. *et al.* Deficit in prepulse inhibition in mice caused by dietary n-3 fatty acid deficiency. **Behavioral Neuroscience**, v. 123, n. 6, p. 1218–1225, 2009.

FERVAHA, G. *et al.* Motivational and neurocognitive deficits are central to the prediction of longitudinal functional outcome in schizophrenia. **Acta Psychiatrica Scandinavica**, v. 130, n. 4, p. 290–299, out. 2014.

FLATOW, J.; BUCKLEY, P.; MILLER, B. J. Meta-analysis of oxidative stress in schizophrenia. **Biological Psychiatry**, v. 74, n. 6, p. 400–409, set. 2013.

FORTUNATO, J. J. *et al.* Effects of  $\omega$ -3 fatty acids on stereotypical behavior and social

interactions in Wistar rats prenatally exposed to lipopolysaccharides. **Nutrition**, v. 35, p. 119–127, mar. 2017.

FUKUNAGA, K.; YOSHIDA, M.; NAKAZONO, N. A simple, rapid, highly sensitive and reproducible quantification method for plasma malondialdehyde by high-performance liquid chromatography. **Biomedical Chromatography**, v. 12, n. 5, p. 300–303, 1998.

GAMA, C. S. *et al.* Effects of omega-3 dietary supplement in prevention of positive, negative and cognitive symptoms: a study in adolescent rats with ketamine-induced model of schizophrenia. **Schizophrenia Research**, v. 141, n. 2–3, p. 162–167, nov. 2012.

GARCIA-SEGURA, L. M.; AZCOITIA, I.; DONCARLOS, L. L. Neuroprotection by estradiol. **Progress in Neurobiology**, v. 63, n. 1, p. 29–60, jan. 2001.

GAWRYLUK, J. W. *et al.* Decreased levels of glutathione, the major brain antioxidant, in post-mortem prefrontal cortex from patients with psychiatric disorders. **The International Journal of Neuropsychopharmacology**, v. 14, n. 1, p. 123–130, fev. 2011.

GILTAY, E. J. *et al.* Raloxifene and hormone replacement therapy increase arachidonic acid and docosahexaenoic acid levels in postmenopausal women. **Journal of Endocrinology**, v. 182, n. 3, p. 399–408, set. 2004a.

GILTAY, E. J. *et al.* Docosahexaenoic acid concentrations are higher in women than in men because of estrogenic effects. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 80, n. 5, p. 1167–1174, nov. 2004b.

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

GIOVANOLI, S. *et al.* Preventive effects of minocycline in a neurodevelopmental two-hit model with relevance to schizophrenia. **Translational Psychiatry**, v. 6, n. 4, p. e772–e772, abr. 2016.

GOGOS, A. *et al.* A role for estrogen in schizophrenia: clinical and preclinical findings. **International Journal of Endocrinology**, v. 2015, p. 1–16, 2015.

GOGOS, J. A.; GERBER, D. J. Schizophrenia susceptibility genes: emergence of positional candidates and future directions. **Focus**, v. 4, n. 3, p. 369–377, ago. 2006.

GOLDSTEIN, J. M. *et al.* Are there sex differences in neuropsychological functions among patients with schizophrenia? **American Journal of Psychiatry**, v. 155, n. 10, p. 1358–1364, out. 1998.

GOLDSTEIN, J. M.; LINK, B. G. Gender and the expression of schizophrenia. **Journal of Psychiatric Research**, v. 22, n. 2, p. 141–155, jan. 1988.

GÓMEZ-PINILLA, F. Brain foods: the effects of nutrients on brain function. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 9, n. 7, p. 568–578, jul. 2008.

GRACE, A. A. Dysregulation of the dopamine system in the pathophysiology of

schizophrenia and depression. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 17, n. 8, p. 524–532, 2016.

GREEN, L. C.; GOLDMAN, P. Nitrate synthesis in the germfree and conventional rat. **Science**, v. 212, n. 4490, p. 56–58, abr. 1981.

GREEN, T. *et al.* Psychiatric disorders and intellectual functioning throughout development in velocardiofacial (22q11.2 deletion) syndrome. **Journal of the American Academy of Child & Adolescent Psychiatry**, v. 48, n. 11, p. 1060–1068, nov. 2009.

GROSSMAN, L. S. *et al.* Sex differences in schizophrenia and other psychotic disorders: a 20-year longitudinal study of psychosis and recovery. **Comprehensive Psychiatry**, v. 49, n. 6, p. 523–529, nov. 2008.

GUMA, E. *et al.* Neuroanatomical and symptomatic sex differences in individuals at clinical high risk for psychosis. **Frontiers in Psychiatry**, v. 8, n. 291, p. 1–14, dez. 2017.

HÄFNER, H. Gender differences in schizophrenia. **Psychoneuroendocrinology**, v. 28, p. 17–54, abr. 2003.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. The antioxidants of human extracellular fluids. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 280, n. 1, p. 1–8, jul. 1990.

HAMBRECHT, M.; MAURER, K.; HÄFNER, H. Evidence for a gender bias in epidemiological studies of schizophrenia. **Schizophrenia Research**, v. 8, n. 3, p. 223–231, jan. 1993.

HAN, M. *et al.* Gender differences in cognitive function of patients with chronic schizophrenia. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, v. 39, n. 2, p. 358–363, dez. 2012.

HANAMSAGAR, R.; BILBO, S. D. Sex differences in neurodevelopmental and neurodegenerative disorders: focus on microglial function and neuroinflammation during development. **The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology**, v. 160, p. 127–133, jun. 2016.

HANLON, M. C. *et al.* Men and women with psychosis and the impact of illness-duration on sex-differences: the second Australian national survey of psychosis. **Psychiatry Research**, v. 256, p. 130–143, out. 2017.

HAUSER, J. Genes-environment interaction in schizophrenia. **Psychiatria**, v. 4, n. 4, p. 153–159, 2007.

HAZLETT, E. A. *et al.* Abnormal glucose metabolism in the mediodorsal nucleus of the thalamus in schizophrenia. **American Journal of Psychiatry**, v. 161, n. 2, p. 305–314, fev. 2004.

HERKEN, H. *et al.* Evidence that the activities of erythrocyte free radical scavenging enzymes and the products of lipid peroxidation are increased in different forms of schizophrenia. **Molecular Psychiatry**, v. 6, n. 1, p. 66–73, jan. 2001.

- HILL, R. A. Sex differences in animal models of schizophrenia shed light on the underlying pathophysiology. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 67, p. 41–56, ago. 2016.
- HOFF, A. L. *et al.* Sex differences in neuropsychological functioning of first-episode and chronically ill schizophrenic patients. **American Journal of Psychiatry**, v. 155, n. 10, p. 1437–1439, out. 1998.
- HOFF, A. L. *et al.* Association of estrogen levels with neuropsychological performance in women with schizophrenia. **American Journal of Psychiatry**, v. 158, n. 7, p. 1134–1139, jul. 2001.
- HOFFMAN, H. S.; ISON, J. R. Reflex modification in the domain of startle: I. Some empirical findings and their implications for how the nervous system processes sensory input. **Psychological Review**, v. 87, n. 2, p. 175–189, 1980.
- HONG, S.; STEVENS, B. Microglia: phagocytosing to clear, sculpt, and eliminate. **Developmental Cell**, v. 38, n. 2, p. 126–128, jul. 2016.
- HOWES, O. D. *et al.* The nature of dopamine dysfunction in schizophrenia and what this means for treatment. **Archives of General Psychiatry**, v. 69, n. 8, p. 776–786, ago. 2012.
- HOWES, O. D. *et al.* The role of genes, stress, and dopamine in the development of schizophrenia. **Biological Psychiatry**, v. 81, n. 1, p. 9–20, jan. 2017.
- HOWES, O.; MCCUTCHEON, R.; STONE, J. Glutamate and dopamine in schizophrenia: an update for the 21<sup>st</sup> century. **Journal of Psychopharmacology**, v. 29, n. 2, p. 97–115, fev. 2015.
- HRITCU, L.; CIOBICA, A.; ARTENIE, V. Effects of right-unilateral 6-hydroxydopamine infusion-induced memory impairment and oxidative stress: relevance for Parkinson's disease. **Open Life Sciences**, v. 3, n. 3, p. 250–257, jan. 2008.
- HRUSZKEWYCZ, A. M. Lipid peroxidation and mtDNA degeneration. A hypothesis. **Mutation Research/DNAging**, v. 275, n. 3–6, p. 243–248, set. 1992.
- HUANG, D.; LIU, S. Oxidative stress and schizophrenia. **Journal of Psychiatry and Brain Science**, v. 2, n. 2, p. 1–5, abr. 2017.
- INSIGHT. **Teste de inibição pré-pulso**. Disponível em: <<http://insightltda.com.br/insight-equipamento-cientifico-1515-Startle-Sobressalto#pag>>. Acesso em: 5 jan. 2018.
- JACKSON, M. E.; HOMAYOUN, H.; MOGHADDAM, B. NMDA receptor hypofunction produces concomitant firing rate potentiation and burst activity reduction in the prefrontal cortex. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 101, n. 22, p. 8467–8472, jun. 2004.
- JANOWSKY, D. S. *et al.* Provocation of schizophrenic symptoms by intravenous administration of methylphenidate. **Archives of General Psychiatry**, v. 28, n. 2, p. 185–191, fev. 1973.

JESTE, D. V. *et al.* Did schizophrenia exist before the eighteenth century? **Comprehensive Psychiatry**, v. 26, n. 6, p. 493–503, nov. 1985.

JOÃO PAULO II. **Carta Encíclica Fides et Ratio**. Disponível em: <[http://w2.vatican.va/content/john-paul-ii/pt/encyclicals/documents/hf\\_jp-ii\\_enc\\_14091998\\_fides-et-ratio.html](http://w2.vatican.va/content/john-paul-ii/pt/encyclicals/documents/hf_jp-ii_enc_14091998_fides-et-ratio.html)>. Acesso em: 2 fev. 2018.

JOHNSTONE, E. C. *et al.* Cerebral ventricular size and cognitive impairment in chronic schizophrenia. **The Lancet**, v. 308, n. 7992, p. 924–926, out. 1976.

JONES, C. A.; WATSON, D. J. G.; FONE, K. C. F. Animal models of schizophrenia. **British Journal of Pharmacology**, v. 164, n. 4, p. 1162–1194, out. 2011.

KAPLAN, R. M. Being Bleuler: the second century of schizophrenia. **Australasian Psychiatry**, v. 16, n. 5, p. 305–311, 2008.

KARAYIORGOU, M. *et al.* Identification of sequence variants and analysis of the role of the catechol-O-methyl-transferase gene in schizophrenia susceptibility. **Biological Psychiatry**, v. 43, n. 6, p. 425–431, mar. 1998.

KEATING, D. J. Mitochondrial dysfunction, oxidative stress, regulation of exocytosis and their relevance to neurodegenerative diseases. **Journal of Neurochemistry**, v. 104, n. 2, p. 298–305, out. 2007.

KEGELES, L. S. *et al.* Increased synaptic dopamine function in associative regions of the striatum in schizophrenia. **Archives of General Psychiatry**, v. 67, n. 3, p. 231, mar. 2010.

KELLER, W. R. *et al.* A review of anti-inflammatory agents for symptoms of schizophrenia. **Journal of Psychopharmacology**, v. 27, n. 4, p. 337–342, abr. 2013.

KELLERAB, J. N. *et al.* 4-Hydroxynonenal, an aldehydic product of membrane lipid peroxidation, impairs glutamate transport and mitochondrial function in synaptosomes. **Neuroscience**, v. 80, n. 3, p. 685–696, jul. 1997.

KESHAVAN, M. S.; HOGARTY, G. E. Brain matuational processes and delayed onset in schizophrenia. **Developmental Psychopathology**, v. 11, p. 525–543, 1999.

KHAN, A.; POWELL, S. B. Sensorimotor gating deficits in “two-hit” models of schizophrenia risk factors. **Schizophrenia Research**, out. 2017.

KHANDAKER, G. M. *et al.* Prenatal maternal infection, neurodevelopment and adult schizophrenia: a systematic review of population-based studies. **Psychological Medicine**, v. 43, n. 2, p. 239–257, fev. 2013.

KILTS, C. D. The changing roles and targets for animal models of schizophrenia. **Biological Psychiatry**, v. 50, n. 11, p. 845–855, dez. 2001.

KIM, Y. K.; NA, K. S. Neuroprotection in schizophrenia and its therapeutic implications. **Psychiatry Investigation**, v. 14, n. 4, p. 383, 2017.

- KÖHR, G. *et al.* NMDA receptor channels: subunit-specific potentiation by reducing agents. **Neuron**, v. 12, n. 5, p. 1031–1040, maio 1994.
- KUHN, R. Eugen Bleuler's concepts of psychopathology. **History of Psychiatry**, v. 15, n. 3, p. 361–366, 2004.
- KULAK, A.; CUENOD, M.; DO, K. Q. Behavioral phenotyping of glutathione-deficient mice: relevance to schizophrenia and bipolar disorder. **Behavioural Brain Research**, v. 226, n. 2, p. 563–570, jan. 2012.
- KULKARNI, J.; HAYES, E.; GAVRILIDIS, E. Hormones and schizophrenia. **Current Opinion in Psychiatry**, v. 25, n. 2, p. 89–95, mar. 2012.
- KUMARI, V.; AASEN, I.; SHARMA, T. Sex differences in prepulse inhibition deficits in chronic schizophrenia. **Schizophrenia Research**, v. 69, n. 2–3, p. 219–235, ago. 2004.
- LAKHAN, S. E.; CARO, M.; HADZIMICHALIS, N. NMDA receptor activity in neuropsychiatric disorders. **Frontiers in Psychiatry**, v. 4, n. 52, p. 1–7, 2013.
- LANGBEIN, K. *et al.* Disturbed glutathione antioxidative defense is associated with structural brain changes in neuroleptic-naïve first-episode psychosis patients. **Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids**, p. 0–1, out. 2017.
- LARSEN, T. K. *et al.* First-episode schizophrenia: II. premorbid patterns by gender. **Schizophrenia Bulletin**, v. 22, n. 2, p. 257–269, jan. 1996.
- LASKARIS, L. E. *et al.* Microglial activation and progressive brain changes in schizophrenia. **British Journal of Pharmacology**, v. 173, n. 4, p. 666–680, fev. 2016.
- LAURSEN, T. M.; MUNK-OLSEN, T.; VESTERGAARD, M. Life expectancy and cardiovascular mortality in persons with schizophrenia. **Current Opinion in Psychiatry**, v. 25, n. 2, p. 83–88, 2012.
- LEGER, M.; NEILL, J. C. A systematic review comparing sex differences in cognitive function in schizophrenia and in rodent models for schizophrenia, implications for improved therapeutic strategies. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 68, p. 979–1000, set. 2016.
- LEI, X. *et al.* Perinatal supplementation with omega-3 polyunsaturated fatty acids improves sevoflurane-induced neurodegeneration and memory impairment in neonatal rats. **PLoS ONE**, v. 8, n. 8, p. e70645, ago. 2013.
- LESLIE, S. W. *et al.* Stimulation of N-methyl-D-aspartate receptor-mediated calcium entry into dissociated neurons by reduced and oxidized glutathione. **Molecular Pharmacology February**, v. 41, n. 2, p. 308–314, 1992.
- LEVIN, R. *et al.* Spontaneously Hypertensive Rats (SHR) present deficits in prepulse inhibition of startle specifically reverted by clozapine. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, v. 35, n. 7, p. 1748–1752, ago. 2011.

- LEWIS, D. A. Retroviruses and the pathogenesis of schizophrenia. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 98, n. 8, p. 4293–4294, abr. 2001.
- LI, H. C. *et al.* Imbalanced free radicals and antioxidant defense systems in schizophrenia: a comparative study. **Journal of Zhejiang University SCIENCE B**, v. 7, n. 12, p. 981–986, dez. 2006.
- LI, Q. *et al.* Dietary supplementation with n-3 fatty acids from weaning limits brain biochemistry and behavioural changes elicited by prenatal exposure to maternal inflammation in the mouse model. **Translational Psychiatry**, v. 5, n. 9, p. e641–e641, set. 2015.
- LU, S. C. Glutathione synthesis. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1830, n. 5, p. 3143–3153, maio 2013.
- MACÊDO, D. S. *et al.* Animal models of prenatal immune challenge and their contribution to the study of schizophrenia: a systematic review. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 45, n. 3, p. 179–186, mar. 2012.
- MARTÍNEZ-CENGOTITABENGOA, M. *et al.* Cognitive impairment is related to oxidative stress and chemokine levels in first psychotic episodes. **Schizophrenia Research**, v. 137, n. 1, 3, p. 66–72, maio 2012.
- MARTINS-DE-SOUZA, D. *et al.* The role of energy metabolism dysfunction and oxidative stress in schizophrenia revealed by proteomics. **Antioxidants & Redox Signaling**, v. 15, n. 7, p. 2067–2079, out. 2011.
- MASSAAD, C. A.; KLANN, E. Reactive oxygen species in the regulation of synaptic plasticity and memory. **Antioxidants & redox signaling**, v. 14, n. 10, p. 2013–2054, 2011.
- MATSUZAWA, D.; HASHIMOTO, K. Magnetic resonance spectroscopy study of the antioxidant defense system in schizophrenia. **Antioxidants & Redox Signaling**, v. 15, n. 7, p. 2057–2065, out. 2011.
- MATTEI, D.; SCHWEIBOLD, R.; WOLF, S. A. Brain in flames - animal models of psychosis: utility and limitations. **Neuropsychiatric Disease and Treatment**, v. 11, p. 1313–1329, maio 2015.
- MAURICE, T.; LOCKHART, B. P.; PRIVAT, A. Amnesia induced in mice by centrally administered  $\beta$ -amyloid peptides involves cholinergic dysfunction. **Brain Research**, v. 706, n. 2, p. 181–193, jan. 1996.
- MCGLASHAN, T. H. *et al.* Randomized, double-blind trial of olanzapine versus placebo in patients prodromally symptomatic for psychosis. **American Journal of Psychiatry**, v. 163, n. 5, p. 790–799, maio 2006.
- MCGLASHAN, T. H. Premorbid adjustment, onset types, and prognostic scaling: still informative? **Schizophrenia Bulletin**, v. 34, n. 5, p. 801–805, jul. 2008.
- MCGRATH, J. *et al.* A systematic review of the incidence of schizophrenia: the distribution of rates and the influence of sex, urbanicity, migrant status and methodology. **BMC**

**Medicine**, v. 2, p. 13–22, 2004.

MCGREGOR, C.; RIORDAN, A.; THORNTON, J. Estrogens and the cognitive symptoms of schizophrenia: possible neuroprotective mechanisms. **Frontiers in Neuroendocrinology**, v. 47, p. 19–33, out. 2017.

MERCK. **Estruturas dos ácidos eicosapentaenoico e docosaenoico**. Disponível em: <<https://www.sigmaaldrich.com/technical-documents/articles/biofiles/omega-3-fatty-acids.html>>.

MEYER, U. *et al.* Towards an immuno-precipitated neurodevelopmental animal model of schizophrenia. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 29, n. 6, p. 913–947, jan. 2005.

MEYER, U. Developmental neuroinflammation and schizophrenia. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, v. 42, p. 20–34, abr. 2013.

MEYER, U. Prenatal Poly(I:C) exposure and other developmental immune activation models in rodent systems. **Biological Psychiatry**, v. 75, n. 4, p. 307–315, 2014.

MEYER, U.; FELDON, J.; FATEMI, S. H. In-vivo rodent models for the experimental investigation of prenatal immune activation effects in neurodevelopmental brain disorders. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 33, n. 7, p. 1061–1079, jul. 2009.

MILLER, B. J. *et al.* Meta-analysis of cytokine alterations in schizophrenia: clinical status and antipsychotic effects. **Biological Psychiatry**, v. 70, n. 7, p. 663–671, out. 2011.

MIQUEL, J. *et al.* Menopause: a review on the role of oxygen stress and favorable effects of dietary antioxidants. **Archives of Gerontology and Geriatrics**, v. 42, n. 3, p. 289–306, maio 2006.

MOGHADDAM, B. *et al.* 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. **The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience**, v. 17, n. 8, p. 2921–2927, 1997.

MOHN, A. R. *et al.* Mice with reduced NMDA receptor expression display behaviors related to schizophrenia. **Cell**, v. 98, n. 4, p. 427–436, ago. 1999.

MOLDIN, S. O.; RUBENSTEIN, J. L. R.; HYMAN, S. E. Can autism speak to neuroscience? **Journal of Neuroscience**, v. 26, n. 26, p. 6893–6896, jun. 2006.

MONTE, A. S. *et al.* Prevention and reversal of ketamine-induced schizophrenia related behavior by minocycline in mice: possible involvement of antioxidant and nitric pathways. **Journal of Psychopharmacology**, v. 27, n. 11, p. 1032–1043, nov. 2013.

MONTE, A. S. *et al.* Two-hit model of schizophrenia induced by neonatal immune activation and peripubertal stress in rats: study of sex differences and brain oxidative alterations. **Behavioural Brain Research**, v. 331, p. 30–37, jul. 2017.

MORGAN, V. A.; CASTLE, D. J.; JABLENSKY, A. V. Do women express and experience

psychosis differently from men? epidemiological evidence from the Australian national study of low prevalence (psychotic) disorders. **Australian & New Zealand Journal of Psychiatry**, v. 42, n. 1, p. 74–82, jan. 2008.

MORRISON, A. P. *et al.* Cognitive therapy for the prevention of psychosis in people at ultra-high risk - Randomised controlled trial. **British Journal of Psychiatry**, v. 185, p. 291–297, 2004.

MOSSER, C. A. *et al.* Microglia in CNS development: shaping the brain for the future. **Progress in Neurobiology**, v. 149–150, p. 1–20, fev. 2017.

NAKANO, Y. *et al.* Association between plasma nitric oxide metabolites levels and negative symptoms of schizophrenia: a pilot study. **Human Psychopharmacology: Clinical and Experimental**, v. 25, n. 2, p. 139–144, mar. 2010.

NAYAK, D.; ROTH, T. L.; MCGAVERN, D. B. Microglia development and function. **Annual Review of Immunology**, v. 32, n. 1, p. 367–402, mar. 2014.

NESTLER, E. J.; HYMAN, S. E. Animal models of neuropsychiatric disorders. **Nature Neuroscience**, v. 13, n. 10, p. 1161–1169, out. 2010.

NORDBERG, J.; ARNÉR, E. S. J. Reactive oxygen species, antioxidants, and the mammalian thioredoxin system. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 31, n. 11, p. 1287–1312, dez. 2001.

NUCIFORA, L. G. *et al.* Reduction of plasma glutathione in psychosis associated with schizophrenia and bipolar disorder in translational psychiatry. **Translational Psychiatry**, v. 7, n. 8, p. e1215, ago. 2017.

NUECHTERLEIN, K. H. *et al.* Attention/vigilance in schizophrenia: performance results from a large multi-site study of the Consortium on the Genetics of Schizophrenia (COGS). **Schizophrenia Research**, v. 163, n. 1–3, p. 38–46, abr. 2015.

OCHOA, S. *et al.* Gender differences in schizophrenia and first-episode psychosis: a comprehensive literature review. **Schizophrenia Research and Treatment**, v. 2012, p. 1–9, 2012.

OHKAWA, H.; OHISHI, N.; YAGI, K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. **Analytical Biochemistry**, v. 95, n. 2, p. 351–358, jun. 1979.

OLNEY, J. W.; NEWCOMER, J. W.; FARBER, N. B. NMDA receptor hypofunction model of schizophrenia. **Journal of Psychiatric Research**, v. 33, n. 6, p. 523–533, nov. 1999.

ORELLANA, G.; SLACHEVSKY, A. Executive functioning in schizophrenia. **Frontiers in Psychiatry**, v. 4, n. JUN, p. 1–15, 2013.

OTHMEN, L. B. *et al.* Altered antioxidant defense system in clinically stable patients with schizophrenia and their unaffected siblings. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, v. 32, n. 1, p. 155–159, jan. 2008.

OWENS, S. J. *et al.* Considering the role of adolescent sex steroids in schizophrenia. **Journal of Neuroendocrinology**, v. 30, n. 2, p. e12538, fev. 2018.

OZYURT, B. *et al.* The protective effects of omega-3 fatty acids against MK-801-induced neurotoxicity in prefrontal cortex of rat. **Neurochemistry International**, v. 50, n. 1, p. 196–202, jan. 2007.

OZYURT, H. *et al.* Potential role of some oxidant/antioxidant status parameters in prefrontal cortex of rat brain in an experimental psychosis model and the protective effects of melatonin. **European Review for Medical and Pharmacological Sciences**, v. 18, p. 2137–2144, 2014.

PANTELIS, C. *et al.* Early and late neurodevelopmental disturbances in schizophrenia and their functional consequences. **Australian & New Zealand Journal of Psychiatry**, v. 37, n. 4, p. 399–406, ago. 2003.

PAOLICELLI, R. C. *et al.* Synaptic pruning by microglia is necessary for normal brain development. **Science**, v. 333, n. 6048, p. 1456–1458, set. 2011.

PARK, K. S.; LIM, J. W.; KIM, H. Inhibitory mechanism of omega-3 fatty acids in pancreatic inflammation and apoptosis. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1171, n. 1, p. 421–427, ago. 2009.

PASTORE, A. *et al.* Determination of blood total, reduced, and oxidized glutathione in pediatric subjects. **Clinical chemistry**, v. 47, n. 8, p. 1467–1469, ago. 2001.

PATTERSON, P. H. Maternal infection: window on neuroimmune interactions in fetal brain development and mental illness. **Current Opinion in Neurobiology**, v. 12, n. 1, p. 115–118, fev. 2002.

PATTERSON, P. H. Immune involvement in schizophrenia and autism: etiology, pathology and animal models. **Behavioural Brain Research**, v. 204, n. 2, p. 313–321, dez. 2009.

PAWELCZYK, T. *et al.* Omega-3 fatty acids in first-episode schizophrenia - a randomized controlled study of efficacy and relapse prevention (OFFER): rationale, design, and methods. **BMC Psychiatry**, v. 15, n. 1, p. 97–109, dez. 2015.

PEDERSEN, C. B.; MORTENSEN, P. B. Are the cause(s) responsible for urban-rural differences in schizophrenia risk rooted in families or in individuals? **American Journal of Epidemiology**, v. 163, n. 11, p. 971–978, jun. 2006.

PEET, M.; STOKES, C. Omega-3 fatty acids in the treatment of psychiatric disorders. **Drugs**, v. 65, n. 8, p. 1051–1059, 2005.

PEÑALOZA, M. R.; FUENTEALBA, P. G.; GALLARDO, P. C. Sex differences and the influence of social factors in a Chilean urban psychiatric hospital population. **International Journal of Social Psychiatry**, p. 1–14, dez. 2017.

PIRCHER, J. *et al.* Hepatitis C virus induced endothelial inflammatory response depends on the functional expression of TNF $\alpha$  receptor subtype 2. **PloS one**, v. 9, n. 11, p. e113351, nov. 2014.

- RADONJIĆ, N. V. *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, n. 4–5, p. 739–745, mar. 2010.
- RADYUSHKIN, K. *et al.* Neuroligin-3-deficient mice: model of a monogenic heritable form of autism with an olfactory deficit. **Genes, Brain and Behavior**, v. 8, n. 4, p. 416–425, jun. 2009.
- RANJEKAR, P. K. *et al.* Decreased antioxidant enzymes and membrane essential polyunsaturated fatty acids in schizophrenic and bipolar mood disorder patients. **Psychiatry Research**, v. 121, n. 2, p. 109–122, dez. 2003.
- RAO, M. L.; KÖLSCH, H. Effects of estrogen on brain development and neuroprotection—implications for negative symptoms in schizophrenia. **Psychoneuroendocrinology**, v. 28, p. 83–96, abr. 2003.
- RAPOPORT, J. L.; GIEDD, J. N.; GOGTAY, N. Neurodevelopmental model of schizophrenia: update 2012. **Molecular Psychiatry**, v. 17, n. 12, p. 1228–1238, dez. 2012.
- REAGAN-SHAW, S.; NIHAL, M.; AHMAD, N. Dose translation from animal to human studies revisited. **FASEB journal**, v. 22, n. 3, p. 659–61, mar. 2008.
- REDDY, D.; KESHAVAN, M. S.; YAO, J. K. Reduced red blood cell membrane essential polyunsaturated fatty acids in first episode schizophrenia at neuroleptic-naive baseline. **Schizophrenia Bulletin**, v. 30, n. 4, p. 901–911, 2004.
- REISINGER, S. *et al.* The Poly(I:C)-induced maternal immune activation model in preclinical neuropsychiatric drug discovery. **Pharmacology & Therapeutics**, v. 149, p. 213–226, maio 2015.
- ROTH, S. The seemingly ubiquitous depression following acute schizophrenic episodes, a neglected area of clinical discussion. **American Journal of Psychiatry**, v. 127, n. 1, p. 51–58, jul. 1970.
- RUBIN, L. H. *et al.* Effects of sex, menstrual cycle phase, and endogenous hormones on cognition in schizophrenia. **Schizophrenia Research**, v. 166, n. 1–3, p. 269–275, ago. 2015.
- RUHRMANN, S. *et al.* Acute effects of treatment for prodromal symptoms for people putatively in a late initial prodromal state of psychosis. **British Journal of Psychiatry**, v. 191, n. 51, p. 88–95, dez. 2007.
- SAHA, S.; CHANT, D.; MCGRATH, J. Meta-analyses of the incidence and prevalence of schizophrenia: conceptual and methodological issues. **International Journal of Methods in Psychiatric Research**, v. 17, n. 1, p. 55–61, mar. 2008.
- SALOKANGAS, R. K. R. Gender and the use of neuroleptics in schizophrenia further testing of the oestrogen hypothesis. **Schizophrenia Research**, v. 16, n. 1, p. 7–16, jul. 1995.
- SAMPAIO, L. R. L. *et al.* Average spectral power changes at the hippocampal electroencephalogram in schizophrenia model induced by ketamine. **Fundamental &**

**Clinical Pharmacology**, v. 32, n. 1, p. 60–68, fev. 2018a.

SAMPAIO, L. R. L. *et al.* Advantages of the alpha-lipoic acid association with chlorpromazine in a model of schizophrenia induced by ketamine in rats: behavioral and oxidative stress evidences. **Neuroscience**, v. 373, p. 72–81, mar. 2018b.

SARSILMAZ, M. *et al.* Potential role of dietary  $\omega$ -3 essential fatty acids on some oxidant/antioxidant parameters in rats' corpus striatum. **Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids**, v. 69, n. 4, p. 253–259, out. 2003.

SARTER, M.; BODEWITZ, G.; STEPHENS, D. N. Attenuation of scopolamine-induced impairment of spontaneous alternation behaviour by antagonist but not inverse agonist and agonist  $\beta$ -carbolines. **Psychopharmacology**, v. 94, n. 4, p. 491–495, abr. 1988.

SCHENKEL, L. S.; SILVERSTEIN, S. M. Dimensions of premorbid functioning in schizophrenia: a review of neuromotor, cognitive, social, and behavioral domains. **Genetic, Social, and General Psychology Monographs**, v. 130, n. 3, p. 241–272, 2004.

SCHENKEL, L. S.; SPAULDING, W. D.; SILVERSTEIN, S. M. Poor premorbid social functioning and theory of mind deficit in schizophrenia: evidence of reduced context processing? **Journal of Psychiatric Research**, v. 39, n. 5, p. 499–508, set. 2005.

SCHMITZ, G.; ECKER, J. The opposing effects of n-3 and n-6 fatty acids. **Progress in Lipid Research**, v. 47, n. 2, p. 147–155, mar. 2008.

SCHNEIDER, T.; PRZEWŁOCKI, R. Behavioral alterations in rats prenatally exposed to valproic acid: animal model of autism. **Neuropsychopharmacology**, v. 30, n. 1, p. 80–89, jan. 2005.

SEDLAK, J.; LINDSAY, R. H. Estimation of total, protein-bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. **Analytical Biochemistry**, v. 25, p. 192–205, 1968.

SEEMAN, P.; LEE, T. Antipsychotic drugs: direct correlation between clinical potency and presynaptic action on dopamine neurons. **Science**, v. 188, n. 4194, p. 1217–1219, jun. 1975.

SEEMAN, M. V. Menstrual exacerbation of schizophrenia symptoms. **Acta Psychiatrica Scandinavica**, v. 125, n. 5, p. 363–371, maio 2012.

SEIDMAN, L. J. *et al.* Sex differences in olfactory identification and Wisconsin card sorting performance in schizophrenia: relationship to attention and verbal ability. **Biological Psychiatry**, v. 42, n. 2, p. 104–115, jul. 1997.

SERHAN, C. N. Systems approach with inflammatory exudates uncovers novel anti-inflammatory and pro-resolving mediators. **Prostaglandins, Leukotrienes, and Essential Fatty Acids**, v. 79, n. 3–5, p. 157–63, 2008.

SHASHI, V. *et al.* Cognitive correlates of a functional COMT polymorphism in children with 22q11.2 deletion syndrome. **Clinical Genetics**, v. 69, n. 3, p. 234–238, jan. 2006.

SIBBONS, C. M. *et al.* Effect of sex hormones on n-3 polyunsaturated fatty acid biosynthesis

in HepG2 cells and in human primary hepatocytes. **Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids**, v. 90, n. 2–3, p. 47–54, fev. 2014.

SIMOPOULOS, A. P. Evolutionary aspects of diet, the omega-6/omega-3 ratio and genetic variation: nutritional implications for chronic diseases. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 60, n. 9, p. 502–507, nov. 2006.

SIMOPOULOS, A. P. Evolutionary aspects of diet: the omega-6/omega-3 ratio and the brain. **Molecular Neurobiology**, v. 44, n. 2, p. 203–215, out. 2011.

SIVRIOGLU, E. Y. *et al.* The impact of  $\omega$ -3 fatty acids, vitamins E and C supplementation on treatment outcome and side effects in schizophrenia patients treated with haloperidol: an open-label pilot study. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, v. 31, n. 7, p. 1493–1499, out. 2007.

SKINNER, A. O.; MAHADIK, S. P.; GARVER, D. L. Thiobarbituric acid reactive substances in the cerebrospinal fluid in schizophrenia. **Schizophrenia Research**, v. 76, n. 1, p. 83–87, jul. 2005.

SLIFSTEIN, M. *et al.* Deficits in Prefrontal Cortical and Extrastriatal Dopamine Release in Schizophrenia. **JAMA Psychiatry**, v. 72, n. 4, p. 316–324, abr. 2015.

SMESNY, S. *et al.* Phospholipase A2 activity in first episode schizophrenia: associations with symptom severity and outcome at week 12. **The World Journal of Biological Psychiatry**, v. 12, n. 8, p. 598–607, dez. 2011.

SMESNY, S. *et al.* Omega-3 fatty acid supplementation changes intracellular phospholipase A2 activity and membrane fatty acid profiles in individuals at ultra-high risk for psychosis. **Molecular Psychiatry**, v. 19, n. 3, p. 317–324, mar. 2014.

SMITH, M. A. Oxidative stress and iron imbalance in Alzheimer disease: how rust became the fuss! **Journal of Alzheimer's Disease**, v. 9, n. 3, p. 305–308, jul. 2006.

SOLEK, C. M. *et al.* Maternal immune activation in neurodevelopmental disorders. **Developmental Dynamics**, dez. 2017.

SRIVASTAVA, N. *et al.* Nitrite content and antioxidant enzyme levels in the blood of schizophrenia patients. **Psychopharmacology**, v. 158, n. 2, p. 140–145, nov. 2001.

STEPHENSON, F. A.; COUSINS, S. L.; KENNY, A. V. Assembly and forward trafficking of NMDA receptors (Review). **Molecular Membrane Biology**, v. 25, n. 4, p. 311–320, jan. 2008.

STIERLIN, H. Bleuler's concept of schizophrenia: a confusing heritage. **American Journal of Psychiatry**, v. 123, n. 8, p. 996–1001, fev. 1967.

STOELTING COMPANY. **Teste de interação social**. Disponível em: <<https://www.stoeltingco.com/sociability.html>>. Acesso em: 6 jan. 2018.

SULTANA, R. *et al.* Protein levels and activity of some antioxidant enzymes in hippocampus

of subjects with amnesic mild cognitive impairment. **Neurochemical Research**, v. 33, n. 12, p. 2540–2546, dez. 2008.

SUMIYOSHI, T. *et al.* Plasma homovanillic acid in the prodromal phase of schizophrenia. **Biological Psychiatry**, v. 47, n. 5, p. 428–433, mar. 2000.

SUN, J. *et al.* Progesterone: the neglected hormone in schizophrenia? A focus on progesterone-dopamine interactions. **Psychoneuroendocrinology**, v. 74, p. 126–140, dez. 2016.

SWERDLOW, N. R. *et al.* Heritable differences in the dopaminergic regulation of sensorimotor gating. **Psychopharmacology**, v. 174, n. 4, p. 452–462, ago. 2004.

SWERDLOW, N. R. *et al.* Realistic expectations of prepulse inhibition in translational models for schizophrenia research. **Psychopharmacology**, v. 199, n. 3, p. 331–388, ago. 2008.

TAKEDA, K.; ARIKA, S. Toll-like receptors in innate immunity. **International Immunology**, v. 17, n. 1, p. 1–14, nov. 2004.

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

TANDON, R.; GREDEEN, J. F. Cholinergic hyperactivity and negative schizophrenic symptoms: a model of cholinergic/dopaminergic interactions in schizophrenia. **Archives of General Psychiatry**, v. 46, n. 8, p. 745–53, ago. 1989.

TANDON, R.; NASRALLAH, H. A.; KESHAVAN, M. S. Schizophrenia, “just the facts” 4. Clinical features and conceptualization. **Schizophrenia Research**, v. 110, n. 1–3, p. 1–23, maio 2009.

TAPIERO, H. *et al.* Polyunsaturated fatty acids (PUFA) and eicosanoids in human health and pathologies. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 56, n. 5, p. 215–222, jul. 2002.

TASSONI, D. *et al.* The role of eicosanoids in the brain. **Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition**, v. 17, n. S1, p. 220–228, 2008.

THAKER, G. K. Schizophrenia endophenotypes as treatment targets. **Expert Opinion on Therapeutic Targets**, v. 11, n. 9, p. 1189–1206, set. 2007.

THARA, R. Twenty-year course of schizophrenia: the Madras longitudinal study. **The Canadian Journal of Psychiatry**, v. 49, n. 8, p. 564–569, ago. 2004.

TORNIAINEN, M. *et al.* Sex differences in cognition among persons with schizophrenia and healthy first-degree relatives. **Psychiatry Research**, v. 188, n. 1, p. 7–12, jun. 2011.

TRAN, L. V. *et al.* Effect of omega-3 and omega-6 polyunsaturated fatty acid enriched diet on plasma IGF-1 and testosterone concentration, puberty and semen quality in male buffalo. **Animal Reproduction Science**, v. 173, p. 63–72, out. 2016.

TSENG, K. Y.; CHAMBERS, R. A.; LIPSKA, B. K. The neonatal ventral hippocampal lesion

- as a heuristic neurodevelopmental model of schizophrenia. **Behavioural Brain Research**, v. 204, n. 2, p. 295–305, dez. 2009.
- USTUNDAG, B. *et al.* Total antioxidant response in patients with schizophrenia. **Psychiatry and Clinical Neurosciences**, v. 60, n. 4, p. 458–464, ago. 2006.
- VALKO, M. *et al.* Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, v. 39, n. 1, p. 44–84, jan. 2007.
- VASCONCELOS, G. S. *et al.* Alpha-lipoic acid alone and combined with clozapine reverses schizophrenia-like symptoms induced by ketamine in mice: participation of antioxidant, nitrenergic and neurotrophic mechanisms. **Schizophrenia Research**, v. 165, n. 2–3, p. 163–170, jul. 2015.
- VASKINN, A. *et al.* Sex differences in neuropsychological performance and social functioning in schizophrenia and bipolar disorder. **Neuropsychology**, v. 25, n. 4, p. 499–510, 2011.
- VERNALEKEN, I. *et al.* Vulnerability to psychotogenic effects of ketamine is associated with elevated D2/3-receptor availability. **The International Journal of Neuropsychopharmacology**, v. 16, n. 4, p. 745–754, maio 2013.
- WILEY, J. L. *et al.* Pharmacological challenge reveals long-term effects of perinatal phencyclidine on delayed spatial alternation in rats. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, v. 27, n. 5, p. 867–873, ago. 2003.
- WÓJCIAK, P.; REMLINGER-MOLENDA, A.; RYBAKOWSKI, J. Stages of the clinical course of schizophrenia (staging concept). **Psychiatria Polska**, v. 50, n. 4, p. 717–730, 2016.
- WOOD, S. J. *et al.* Neuroimaging and treatment evidence for clinical staging in psychotic disorders: from the at-risk mental state to chronic schizophrenia. **Biological Psychiatry**, v. 70, n. 7, p. 619–625, out. 2011.
- WU, L. J. *et al.* Microglia in Neuronal Circuits. **Neural Plasticity**, v. 2013, p. 1–3, 2013.
- XU, H. *et al.* Effects of different dietary DHA:EPA ratios on gonadal steroidogenesis in the marine teleost, tongue sole (*Cynoglossus semilaevis*). **British Journal of Nutrition**, v. 118, n. 3, p. 179–188, ago. 2017.
- YAGI, K. Simple assay for the level of total lipid peroxides in serum or plasma. In: **Free Radical and Antioxidant Protocols**. New Jersey: Humana Press, 1998. p. 101–106.
- YAMADA, K. *et al.* The role of nitric oxide in dizocilpine-induced impairment of spontaneous alternation behavior in mice. **The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 276, n. 2, p. 460–466, fev. 1996.
- YAO, J. K.; KESHAVAN, M. S. Antioxidants, redox signaling, and pathophysiology in schizophrenia: an integrative view. **Antioxidants & Redox Signaling**, v. 15, n. 7, p. 2011–2035, out. 2011.

YAO, J. K.; LEONARD, S.; REDDY, R. Altered glutathione redox state in schizophrenia. **Disease Markers**, v. 22, n. 1, 2, p. 83–93, 2006.

YAO, J. K.; LEONARD, S.; REDDY, R. D. Increased nitric oxide radicals in postmortem brain from patients with schizophrenia. **Schizophrenia Bulletin**, v. 30, n. 4, p. 923–934, jan. 2004.

YAO, J. K.; REDDY, R. Oxidative stress in schizophrenia: pathogenetic and therapeutic implications. **Antioxidants & Redox Signaling**, v. 15, n. 7, p. 1999–2002, out. 2011.

YEE, N. *et al.* Differential effects of maternal immune activation and juvenile stress on anxiety-like behaviour and physiology in adult rats: no evidence for the “double-hit hypothesis”. **Behavioural Brain Research**, v. 224, n. 1, p. 180–188, out. 2011.

YUNG, A. R. *et al.* Psychosis prediction: 12-month follow up of a high-risk (“prodromal”) group. **Schizophrenia Research**, v. 60, n. 1, p. 21–32, mar. 2003.

ZHANG, X. Y. *et al.* Antioxidant enzymes and lipid peroxidation in different forms of schizophrenia treated with typical and atypical antipsychotics. **Schizophrenia Research**, v. 81, n. 2, 3, p. 291–300, jan. 2006.

ZUGNO, A. I. *et al.* Omega-3 prevents behavior response and brain oxidative damage in the ketamine model of schizophrenia. **Neuroscience**, v. 259, p. 223–231, fev. 2014.

ZUGNO, A. I. *et al.* Effects of omega-3 supplementation on interleukin and neurotrophin levels in an animal model of schizophrenia. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 87, n. 2 suppl, p. 1475–1486, ago. 2015.

**ANEXO A – APROVAÇÃO DA PESQUISA PELA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO  
DE ANIMAIS DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ (CEUA-UFC)**



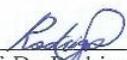
Universidade Federal do Ceará  
Comissão de Ética no Uso de Animais – CEUA  
Rua: Coronel Nunes de Melo, 1127 Rodolfo Teófilo  
Cep: 60430-970 Fortaleza-CE

**CERTIFICADO**

Certificamos que o projeto intitulado “ESTUDO DOS EFEITOS NEUROPROTETORES DO ÔMEGA-3 EM ANIMAIS EXPOSTOS AO MODELO DESENVOLVIMENTAL DE ESQUIZOFRENIA INDUZIDA PELA IMUNOESTIMULAÇÃO NEONATAL COM POLY I:C ASSOCIADA AO ESTRESSE MA ADOLESCÊNCIA”, protocolo nº66/2016, sob responsabilidade da Profa. Dra. Danielle Macedo Gaspar, que envolve a produção, manutenção e/ou utilização pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica, para fins de pesquisa científica - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei 11.794, de nº8 de outubro de 2008, do Decreto 6899 de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) e foi adotado pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA), foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA-UFC) da Universidade Federal do Ceará, em reunião em 13 de julho de 2016.

Vigência do projeto	14/03/2016 a 14/03/2018
Espécie/Linhagem	Ratos Swiss
Nº de Animais	80
Peso/Idade	25g /60dias
Sexo	Machos e Fêmeas
Origem	Biotério Central da UFC

Fortalca, 13 de julho de 2016.

  
 Prof. Dr. Rodrigo Siqueira  
 Coordenador do CEUA - UFC

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ**  
 RODRIGO JOSÉ BEZEIRA DE SIQUEIRA  
 COORDENADOR DA COMISSÃO DE ÉTICA E DO USO COM  
 ANIMAIS - CEUA/UFC - Matrícula/Siape: 1520734