



# Participação dos receptores metabotrópicos de glutamato e da via de sinalização por óxido nítrico no desenvolvimento da esquizofrenia

Andrea Carla Celotto<sup>1,2</sup>, Laísa Durigan<sup>1</sup>, Giovanna Simões Calfi<sup>1</sup>, Maria Luiza Nunes Mamede Rosa<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>Faculdade de Ciências da Saúde de Barretos - Dr. Paulo Prata, SP, Brasil

<sup>2</sup>Departamento de Cirurgia e Anatomia, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, USP, SP, Brasil

<sup>3</sup>Instituto de Neurociências e Comportamento de Ribeirão Preto, USP, SP, Brasil

## RESUMO

Esquizofrenia é uma perturbação mental de alta prevalência na população, desencadeada por fatores biopsicossociais, associados a fatores biológicos - genéticos e fisiológicos, que prejudicam as atividades funcionais dos indivíduos portadores. Seus sinais e sintomas são divididos em três grandes grupos: positivos, negativos e cognitivos. As drogas antipsicóticas tradicionais, que atuam diretamente na via dopaminérgica, têm demonstrado ineficiência no alívio dos dois últimos. Evidências relatam estreita relação entre a neurotransmissão dopaminérgica e sua regulação pela glutamatérgica em várias regiões cerebrais como córtex pré-frontal e hipocampo, tanto por receptores ionotrópicos quanto metabotrópicos. Os receptores metabotrópicos apresentam maior especificidade que os ionotrópicos, provavelmente devido à sua distribuição mais concentrada em áreas cerebrais específicas e sua atividade moduladora sobre a função dos próprios receptores ionotrópicos. Adicionalmente, inúmeros estudos têm contribuído para estabelecer uma relação entre a neurotransmissão glutamatérgica e o óxido nítrico na fisiopatologia da esquizofrenia. O aumento da ativação dos receptores NMDA influencia os sintomas da doença por ativarem a via de sinalização NO/cGMP/PKC. Entretanto, os estudos são ainda divergentes em relação ao papel do NO nos mecanismos cerebrais envolvidos nesta neuropatologia. Modelos experimentais farmacológicos e não farmacológicos têm sido utilizados para estudar as alterações cerebrais que ocorrem na esquizofrenia e podem contribuir para esclarecer os mecanismos envolvidos assim como identificar novos alvos terapêuticos para o tratamento de seus sintomas.

**Palavras-chave:** Esquizofrenia, Glutamato, Receptores metabotrópicos de glutamato, Óxido Nítrico, Isolamento social.

## ABSTRACT

Schizophrenia is a highly prevalent mental disorder, triggered by biopsychosocial factors, associated with biological factors - physiological and genetic, which affects the functional ability of patients. Its signs and symptoms are divided into three groups: positive, negative and cognitive. The traditional antipsychotic drugs, which act directly into the dopaminergic pathway, have demonstrated inefficiency in relief the last two. Evidence report the strict relationship between the dopaminergic neurotransmission and its regulation by the glutamatergic one in several brain regions such as prefrontal cortex and hippocampus, by either ionotropic or metabotropic receptors. Metabotropic receptors show higher specificity than ionotropic receptors probably because their distribution in the brain is more concentrated in specific areas and also because they have modulatory effect over ionotropic receptors. Additionally, several studies have contributed to establish a relationship between glutamatergic neurotransmission and the nitric oxide in the physiopathology of schizophrenia. The increased activation of the NMDA receptors influence the symptoms of schizophrenia as they activate NO/cGMP/PKC signaling pathway. However, the studies are quite different in relation to the role of the NO in the brain mechanisms involved in this neuropathology. Pharmacological and non pharmacological experimental models have been used to study the brain alterations that occur in schizophrenia and might contribute to clarify the mechanisms involved as well as to identify new therapeutic targets to the treatment of its symptoms.

**Keywords:** Schizophrenia, Glutamate, Metabotropic glutamate receptor, Nitric oxide, Isolation rearing.

## INTRODUÇÃO

A esquizofrenia é uma doença mental cujos mecanismos fisiopatológicos são amplamente conhecidos por envolver a neurotransmissão dopaminérgica, alvo da terapêutica clássica utilizada. Entretanto, têm sido demonstrada a participação da neurotransmissão glutamatérgica por meio de diferentes tipos de receptores ionotrópicos e, mais recentemente, de receptores metabotrópicos. Adicionalmente, evidências têm levado à sugestão de que a neurotransmissão glutamatérgica ativa vias de sinalização envolvendo o óxido nítrico nos mecanismos que levam ao desenvolvimento da esquizofrenia. A revisão apresentada a seguir faz uma abordagem considerando o conjunto destes aspectos.

### Esquizofrenia

A esquizofrenia é vista como uma perturbação mental caracterizada por sintomatologia específica e alterações multidimensionais que afetam inúmeras funções do indivíduo<sup>1</sup>. É considerada uma doença de causa multifatorial<sup>2</sup> incluindo fatores biopsicossociais. Algumas situações como ansiedade extrema, alto nível de estresse e trauma emocional podem atuar em conjunto com os fatores biológicos que desencadeiam a doença, além de infecções, complicações obstétricas, abuso de drogas, fundo urbano, sazonalidade ao nascimento (maior ocorrência para indivíduos nascidos nos meses de inverno, possivelmente devido a gatilhos virais) entre outros<sup>3,4</sup>. Nos âmbitos genético e fisiológico observam-se lesões de estruturas cerebrais e alterações de alguns neurotransmissores que levam à expressão da doença com a manifestação de seus sinais, sintomas e consequências<sup>4</sup>. Essa desordem mental afeta aproximadamente 1% da população mundial, atingindo de forma equivalente ambos os sexos e diferentes grupos socioeconômicos<sup>3</sup>. Possui incidência de 1/10.000 nascidos por ano<sup>5</sup>, apresenta forte componente genético que reflete herdabilidade de aproximadamente 80 a 85% e acometendo cerca de 81% de gêmeos monozigóticos<sup>6,7</sup>. Entretanto, evidências demonstram que 81% dos indivíduos que são diagnosticados com esquizofrenia não possuem nenhum familiar em primeiro grau afetado e 91% não têm nenhum parente esquizofrênico. Adicionalmente, 2 a 3% da população ainda

apresentam transtorno de personalidade esquizotípico, uma forma mais branda da esquizofrenia<sup>9</sup>.

De forma predominante, os primeiros sinais da doença se manifestam na adolescência ou início da idade adulta<sup>7</sup>. É caracterizada, de acordo com uma nova teoria, como uma doença neurodegenerativa, não por ser consequência de um desenvolvimento impróprio mas sim por constituir-se a partir da degeneração progressiva e gradual do tecido nervoso cerebral<sup>2,10</sup>. Os sintomas característicos da doença são divididos em três grandes domínios: positivos, como alucinações, delírios e distúrbios do pensamento; negativos, como isolamento social, anedonia e embotamento afetivo; e cognitivos, como déficit de atenção e de memória<sup>11</sup>.

Na esquizofrenia, alterações estruturais foram evidenciadas em várias regiões cerebrais como sistema límbico, córtex frontal e temporal, tálamo e hipocampo<sup>12</sup>.

Na maioria dos casos os sinais da doença começam a surgir de forma lenta, a partir de alguns sintomas inespecíficos como depressão, isolamento, desânimo, despersonalização, perda da motivação pessoal, displicência com a higiene e com a própria aparência, que permanecem por um determinado período até o surgimento de sintomas mais específicos da esquizofrenia como comportamento agressivo, automutilação, surto psicótico. Paralelamente à progressão da doença ocorre uma piora no desempenho escolar e/ou profissional, nas atividades pessoais e nas relações interpessoais, momento em que familiares e amigos passam a detectar mudanças comportamentais idiossincráticas<sup>4,13</sup>.

Sabe-se que o desenvolvimento da esquizofrenia é classicamente relacionado à neurotransmissão dopaminérgica, o qual postula que os sintomas da esquizofrenia podem resultar de ambos, o excesso de dopamina nas áreas mesolímbica e estriatal levando a sintomas positivos; e o déficit dopaminérgico no córtex pré-frontal (CPF), responsável pelos sintomas negativos<sup>14</sup>. Considerando esta divisão, Field et al. (2011) estabeleceram que as drogas antipsicóticas disponíveis atualmente são eficazes na diminuição dos sintomas positivos da esquizofrenia, porém mostram-se bastante limitadas em controlar os sintomas negativos e cognitivos da doença<sup>15</sup>.

Embora a neurotransmissão dopaminérgica

seja seguramente afetada na esquizofrenia<sup>14</sup>, sendo inclusive o principal alvo terapêutico no tratamento da doença<sup>15</sup>, inúmeros estudos têm contribuído para a hipótese glutamatérgica da esquizofrenia, a qual sugere que as alterações na neurotransmissão glutamatérgica precedem as alterações dopaminérgicas e sejam desencadeadoras destas<sup>16</sup>. Uma hipofunção do glutamato nas projeções córtico estriatais levam à estimulação do circuito tálamo-cortical, resultando em uma inundação sensorial exagerada, o que leva a sintomas psicóticos e alterações conhecidas pelas mudanças na concentração de dopamina<sup>14</sup>.

De acordo com Kloet, Joels & Holsboer (2005) é possível relacionar alterações anatômicas e neuroquímicas no hipocampo, amígdala e córtex pré-frontal a alterações comportamentais. Remodelações estruturais e proliferação celular, modificações nos sistemas aminérgicos, de neuropeptídeos e corticosteróides nestas regiões possuem o glutamato como um dos principais neurotransmissores envolvidos nestas alterações<sup>17</sup>.

### Glutamato

O aminoácido glutamato é o principal neurotransmissor excitatório do Sistema Nervoso Central (SNC), presente em cerca de 30-40% das sinapses cerebrais e em 80-90% das áreas envolvidas em processos cognitivos como o córtex cerebral e o hipocampo<sup>18</sup>. Dentre inúmeros mecanismos fisiológicos o glutamato participa do desenvolvimento neural, da plasticidade sináptica, das funções de aprendizado e memória<sup>19</sup>. Exerce sua ação pela interação com receptores específicos no neurônio pós-sináptico e o controle da neurotransmissão é feito por transportadores específicos, uma vez que o glutamato não possui uma enzima que o degrade como ocorre com os outros neurotransmissores<sup>19</sup>.

Os receptores do glutamato são classificados em ionotrópicos (iGluRs) e metabotrópicos (mGluRs). Os ionotrópicos incluem N-Metil-D-Aspartato (NMDA), alfa-amino-3-hidroxi-metil-5-4-isoxazolpropionico (AMPA) e cainato (KA). De acordo com Bressan e Pilowsky (2003), os receptores ionotrópicos contêm canais iônicos que quando ativados permitem a entrada de Na<sup>+</sup> favorecendo a despolarização do neurônio e a rápida

neurotransmissão excitatória dependente do influxo de Ca<sup>2+</sup><sup>20</sup>. A ativação dos receptores AMPA desencadeiam uma despolarização acentuada e rápida, enquanto a ativação dos receptores NMDA desencadeiam uma despolarização de menor intensidade mas mantida. Entretanto, situações em que há elevado influxo de Ca<sup>2+</sup> ocorre aumento na duração e na intensidade da despolarização dos neurônios pós-sinápticos<sup>21</sup>. Os receptores metabotrópicos (mGluRs) são receptores acoplados a proteínas G que, quando estimulados, desencadeiam mecanismos de resposta intracelulares através da ativação de segundos mensageiros<sup>22</sup>.

Considerando especificamente os receptores metabotrópicos, estes são divididos em oito subtipos nomeados de mGluR1 a mGluR8 e classificados em três grupos (I, II e III) com base na homologia estrutural, acoplamento a proteína G e seletividade de ligante (Tabela 1). O grupo I inclui os subtipos mGluR1 e mGluR5, predominantemente pós sinápticos e associados à formação de IP<sub>3</sub>; o grupo II é composto pelos subtipos mGluR2 e mGluR3, pré sinápticos em sua maioria e ativam AMPc; e o grupo III engloba os subtipos mGluR4, mGluR6, mGluR7 e mGluR8, que também possuem como segundo mensageiro o AMPc<sup>22</sup>.

**Tabela 1.** Classificação dos receptores metabotrópicos de glutamato.

Grupo	Receptores	Segundo mensageiro predominante
<b>I</b>	mGluR1 e mGluR5	IP <sub>3</sub>
<b>II</b>	mGluR2 e mGluR3	AMPc
<b>III</b>	mGluR4, mGluR6, mGluR7 e mGluR8	AMPc

Como mencionado anteriormente, o glutamato participa de inúmeros mecanismos fisiológicos. Entretanto, em condições anormais o excesso deste neurotransmissor pode contribuir para o desenvolvimento de diversas neuropatologias como epilepsia, doença de Alzheimer, esclerose, entre outras<sup>23</sup>. Em contraste, a hipofunção glutamatérgica tem sido associada à esquizofrenia. Neste contexto, é importante conhecer os mecanismos de recaptação do glutamato nas células neuronais e gliais, os quais determinam a concentração e o tempo de permanência



**Figura 1.** (A) Mecanismo de ocorrência dos sintomas negativos e cognitivos através da sinapse NMDA hipofuncionante (B) Mecanismo de ocorrência dos sintomas positivos através da sinapse NMDA hipofuncionante.

do neurotransmissor na fenda sináptica<sup>24</sup>.

### Glutamato e Esquizofrenia

Estudos post-mortem de cérebros de pacientes esquizofrênicos demonstraram alterações na densidade de receptores glutamatérgicos no córtex pré-frontal, tálamo e lobo temporal. Os autores também demonstraram que estas áreas cerebrais apresentaram ativação diminuída durante testes de performance nos pacientes<sup>25</sup>. Adicionalmente, Kim et al. (1980) demonstraram que pacientes com esquizofrenia apresentavam diminuição na concentração de glutamato no líquido cefalorraquidiano<sup>26</sup>. Estes achados são evidências da hipofunção glutamatérgica na esquizofrenia.

A relação da neurotransmissão glutamatérgica com os sintomas apresentados por indivíduos esquizofrênicos pode ser validada ao avaliar a estreita interação entre os receptores NMDA de glutamato na via mesocortical, responsável pelas funções cognitivas normais e pela motivação; e a consequente liberação de dopamina. Em situações de hipofunção da via do glutamato, há pouca liberação de dopamina no córtex, o que resulta nos sintomas negativos e cognitivos (Figura 1A). Por outro lado, na via mesolímbica, responsável pelas emoções, os neurônios glutamatérgicos são responsáveis pela inibição tônica dos receptores dopaminérgicos. Deste modo, a hipofunção dos receptores NMDA na região mesolímbica resulta em hiperatividade dopaminérgica, precipitando sintomas positivos (Figura 1B)<sup>25,27</sup>.

Além dos receptores NMDA, vários estudos

realizados em humanos ou modelos experimentais têm também demonstrado hipofunção dos receptores AMPA e cainato na esquizofrenia, tanto no córtex como no hipocampo<sup>28-33</sup>. Enquanto há grande volume de estudos sobre a mediação glutamatérgica na esquizofrenia com foco nos receptores ionotrópicos, principalmente os NMDAs, há ainda uma baixa exploração do envolvimento dos receptores metabotrópicos, os quais tem sido demonstrados serem capazes de modular a atividade dos NMDAs<sup>34,35</sup> e a neurotransmissão glutamatérgica no SNC<sup>22</sup>. Ainda, a distribuição dos receptores metabotrópicos é bastante localizada, em regiões específicas<sup>22</sup>, diferentemente dos receptores ionotrópicos, principalmente os NMDAs, cuja distribuição é difusa<sup>23</sup>.

### Receptores metabotrópicos e esquizofrenia

Foi demonstrado que o mGluR1 é capaz de diminuir a liberação de dopamina no estriado dorsal<sup>36</sup> e diminuir a hiperlocomoção e o déficit de inibição pelo prepulso, assim como reverter os déficits de interação social<sup>37</sup>. Evidências também demonstram a importância do mGluR5 (agente fundamental na plasticidade sináptica) na regulação de domínios específicos que controlam funções cognitivas e comportamentos relacionados tanto aos sintomas negativos quanto positivos da esquizofrenia<sup>38</sup>. Em contraste, os receptores metabotrópicos do grupo II inibem a liberação de glutamato, o que possibilita duas abordagens em relação a estes receptores, i) a normalização da função dos receptores NMDA

e ii) a normalização dos níveis excessivos de glutamato que ocorrem na esquizofrenia, diminuindo a hiperlocomoção, estereotípias, déficits de memória funcional e efluxo cortical de glutamato<sup>39-41</sup>. Alguns agonistas de receptores metabotrópicos já foram sintetizados e apresentaram efeito antipsicótico por reduzirem os principais sintomas da esquizofrenia<sup>26</sup>. Desta forma, se torna extremamente interessante investir em uma linha de pesquisa com o objetivo de identificar novos alvos terapêuticos e contribuir para o desenvolvimento de drogas mais eficientes para o tratamento da doença, atenuando seus sinais e sintomas.

### **Interação entre glutamato e a via NO/GMPc (Óxido Nítrico/GMPc) na esquizofrenia**

De acordo com Bernstein et al. (2011) e Coyle (2013), o aumento da ativação dos receptores NMDA ativa a via de sinalização NO/GMPc/PKC levando a um aumento da plasticidade sináptica, da neuroproteção e de ações neurotrópicas que exercem efeitos sobre os sintomas da esquizofrenia<sup>42,43</sup>.

Estudos clínicos e experimentais têm demonstrado que potencializadores dos receptores NMDA (NMDAR) são prováveis alternativas eficientes para o tratamento de sintomas da esquizofrenia, particularmente os negativos. O glutamato e o GMPc são produzidos em excesso em indivíduos com esquizofrenia<sup>16,19</sup>. Sendo assim, é possível que fatores genéticos podem contribuir para disfunções na via glutamato/NO/GMPc e este achado corrobora a proposta de que uma disfunção do NMDAR envolvido nesta via contribui para a etiologia da esquizofrenia; e que a regulação do GMPc poderia ser uma alternativa para o tratamento desta doença<sup>44,45</sup>.

O óxido nítrico (NO) participa do desenvolvimento do tecido nervoso por atuar na regulação da fluidez do sangue cerebral. Este neurotransmissor é sintetizado por inúmeras células pela ação da enzima óxido nítrico sintase (NOS) sobre o substrato L-arginina. São conhecidas três isoformas da NOS, classificadas de acordo com a sua localização predominante: isoforma I, encontrada nos tecidos neuronais e epiteliais (nNOS, óxido nítrico sintase neuronal); isoforma II, encontrada em células induzidas por citocina (iNOS, óxido nítrico sintase

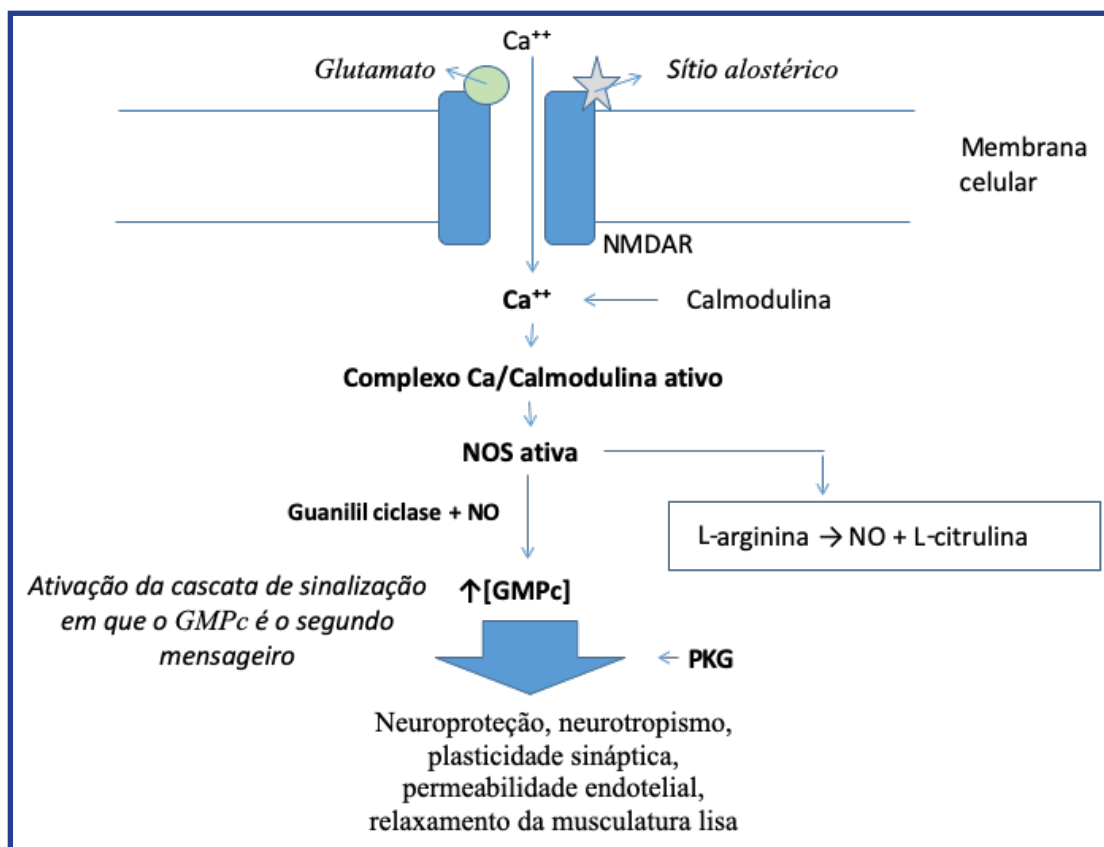
induzida) e isoforma III, encontrada em células endoteliais (eNOS, óxido nítrico sintase endotelial). Todas as isoformas usam L-arginina como substrato e oxigênio molecular como “co-substrato”<sup>46</sup>. A partir da estimulação da sinapse glutamatérgica, o glutamato liberado liga-se aos receptores NMDA e induz o influxo de  $Ca^{2+}$ , o que leva à ativação de nNOS e consequentemente da síntese de NO, o qual será liberado na pós-sinapse e atuará como mensageiro retrógrado para a pré-sinapse, restaurando o ciclo<sup>47</sup>.

O influxo de  $Ca^{2+}$  é fundamental para a formação de radicais livres, os quais possuem funções importantes no organismo como proteção das células contra infecções e agentes externos, atuam na regulação da atividade do sistema cardiovascular como mediadores secundários, na manutenção dos níveis intracelulares de cálcio, na fosforilação e desfosforilação de proteínas e na ativação de fatores de transcrição. Porém, o influxo excessivo de  $Ca^{2+}$  induzido pela ativação demasiada dos receptores glutamatérgicos ionotrópicos (NMDA, AMPA ou KA) é altamente neurotóxico levando a lesão e/ou morte neuronal pelo aumento da concentração de espécies reativas de oxigênio (ROS)<sup>48-52</sup>.

Evidências têm demonstrado que alterações na atividade da NOS estão presentes na esquizofrenia, o que têm sinalizado a possibilidade de desenvolvimento de novas terapias atuando na síntese e liberação de NO, as quais poderiam contribuir para o tratamento desta patologia<sup>2,53-55</sup>.

Achados anteriores identificaram genes de risco para esquizofrenia, como aquele que codifica a nNOS<sup>56-58</sup>. Entretanto, não foi observado alterações na atividade total da NOS (com atividade iNOS não detectável) e na expressão da proteína nNOS nesta patologia, enquanto foram detectados níveis reduzidos da proteína eNOS no córtex frontal de pacientes esquizofrênicos. Uma vez que a eNOS possui papel importante na manutenção do fluxo sanguíneo cerebral, uma redução nos níveis da proteína eNOS pode contribuir para a redução do fluxo sanguíneo cerebral que ocorre no córtex frontal desses pacientes<sup>59</sup>.

De acordo com Shim et al. (2016), duas teorias aparentemente controversas são possíveis para a disfunção (hiper ou hipo) do NMDAR na esquizofrenia, bem como sobre a manipulação das concentrações de NO no organismo como uma forma de tratamento para



**Figura 2.** Via de sinalização NO/GMPc/PKG. No sítio alostérico indicado podem se ligar: antagonistas não competitivos como fenciclidina (PCP), ketamina e MK-801; agonistas do receptor como glicina e D-serina; inibidor de recaptção da glicina como sarcosina. A influência desses moduladores alostéricos têm sido estudada com o objetivo de desenvolver formas terapêuticas mais eficazes no tratamento dos sintomas da esquizofrenia<sup>73</sup>.

a doença. Por meio da via de sinalização NO/GMPc/PKG demonstrada na Figura 2, existem evidências de que a aplicação de nitroprussiato, uma droga anti-hipertensiva que se converte diretamente em NO no organismo ao dar continuidade à via NO/GMPc ativada pela estimulação do NMDAR, aumenta a neuroproteção, a plasticidade sináptica e a ação neurotrópica, importantes em reduzir os sintomas da esquizofrenia<sup>44</sup>.

Yang et al. (2016) demonstraram um aumento de dimetilarginina assimétrica (ADMA) no plasma de pacientes esquizofrênicos, o qual foi associado aos déficits cognitivos de atenção e memória. Estes achados indicam que o NO possui função importante na cognição, prejudicada nos pacientes esquizofrênicos, uma vez que o ADMA é produzido fisiologicamente durante a metilação de resíduos da proteína arginina pela ação da enzima arginina metiltransferase (PRMT) e age como um inibidor competitivo endógeno da NOS por inibir a produção de NO ao competir com o substrato L-arginina pela NOS<sup>60</sup>.

O bloqueio de NO, impedindo a ativação das células microgliais responsáveis pelo processo neuroinflamatório pela liberação de nitroóxido, radicais livres oxidativos (incluindo radicais livres de NO) e citocinas pró inflamatórias têm sido discutido como uma segunda possibilidade terapêutica para melhorar os sintomas da esquizofrenia<sup>61,62</sup>. Esta hipótese é chamada “estresse oxidativo para a esquizofrenia”. O prolongado processo de neuroinflamação gera apoptose, disfunções mitocondriais, excitotoxicidade e processos neurotóxicos que contribuem para a fisiopatologia da esquizofrenia<sup>44,51,63-65</sup>. O estresse oxidativo é considerado um estado limite entre o sistema antioxidante e o nível de radicais livres capaz de danificar os tecidos<sup>2,66</sup>. Assim, têm sido discutido que a formação de radicais livres em resposta ao processo inflamatório poderia contribuir para a patologia da esquizofrenia e o bloqueio de sua formação seria uma possibilidade de tratamento<sup>44,65,67</sup>.

Lafioniatitis et al. (2016) demonstraram que o inibidor da iNOS, aminoguanidina, neutralizou o déficit de memória de reconhecimento produzido pela

disfunção glutamatérgica e dopaminérgica em ratos induzidas por ketamina e apomorfina. Esse estudo corrobora com a hipótese do estresse oxidativo, no qual o NO proveniente da iNOS estaria envolvido no déficit de memória na esquizofrenia<sup>68</sup>.

Os antioxidantes que atuam no equilíbrio entre oxidação/redução são as enzimas superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e glutathione peroxidase (GSH-Px)<sup>69</sup>. Elas atuam em cooperação, bloqueando a formação de radicais livres em diferentes estágios metabólicos, sendo que o peróxido de hidrogênio formado pela SOD é decomposto em água e oxigênio pela catalase. A interrupção desse mecanismo de proteção leva à peroxidação lipídica. Entretanto, a GSH-Px é capaz de impedir o processo ao transformar hidroperóxidos tóxicos em formas menos ativas. Assim, distúrbios na ativação de qualquer uma das três enzimas tornam as membranas celulares mais vulneráveis a danos provocados por radicais livres<sup>2,70</sup>. Albayrak al. (2013) demonstraram que pacientes esquizofrênicos com sintomas negativos persistentes possuem potenciais antioxidantes totais reduzidos, ao mesmo tempo que apresentam taxas aumentadas de estresse oxidativo quando comparados a pacientes saudáveis (sem esquizofrenia)<sup>71</sup>. Posteriormente, Nasyrova et al. (2015) afirmaram que, apesar de algumas contraindicações a efetividade do tratamento baseado nos indicadores de estresse oxidativo foi confirmada<sup>2</sup>.

Retomando conhecimentos clássicos e bem estabelecidos, os tratamentos antipsicóticos utilizados possuem como principais alvos terapêuticos as vias dopaminérgicas e serotoninérgicas. Entretanto, em adição ao fato de tais drogas serem pouco eficientes no tratamento dos sintomas positivos, negativos e cognitivos persistentes, aproximadamente 30% dos pacientes respondem muito pouco a estas drogas<sup>72,73</sup>. Assim, é de fundamental importância estudos que possam contribuir para o esclarecimento de outras possíveis vias/mecanismos envolvidos na fisiopatologia da esquizofrenia, a fim de que possam ser identificados novos potenciais alvos terapêuticos para o tratamento desta patologia mais eficazes do que os já existentes.

### **Modelos experimentais para o estudo da esquizofrenia**

Modelos experimentais tem sido amplamente utilizados para estudar as neuropatologias e tem contribuído consideravelmente para o avanço do conhecimento relacionado aos mecanismos cerebrais envolvidos. Considerando especificamente a esquizofrenia, a criação de ratos em isolamento a partir do desmame e mantidos durante todo o período do desenvolvimento cerebral constitui um modelo experimental não farmacológico que induz alterações cerebrais semelhantes àquelas que ocorrem no cérebro de humanos esquizofrênicos.

Diferentes modelos têm sido utilizados para estudar as alterações comportamentais, morfológicas, fisiológicas e neuroquímicas que ocorrem na esquizofrenia. Estes modelos, classificados basicamente como farmacológicos e não farmacológicos, utilizam principalmente ratos e tem como principal objetivo induzir alterações cerebrais semelhantes àquelas que ocorrem no cérebro de humanos portadores desta neuropatologia.

Considerando os modelos farmacológicos, a ketamina, um antagonista do receptor NMDA, quando administrada em animais induz alterações nas vias dopaminérgicas, serotoninérgicas, glutamatérgicas e GABAérgicas, resultando em um quadro fisiopatológico semelhante à esquizofrenia<sup>74</sup>, com sintomas positivos e negativos e déficits cognitivos<sup>75,76</sup>. O mecanismo pelo qual a ketamina produz os efeitos psicóticos têm sido atribuído, em parte, ao bloqueio de receptores NMDA localizados nos interneurônios GABAérgicos levando à desinibição da atividade neural de estruturas límbicas. Essa desinibição aumenta a atividade neuronal e causa a liberação em excesso da dopamina e do glutamato no córtex pré frontal e nas regiões límbicas<sup>77,78</sup>. Em adição à ketamina, foi demonstrado que outros antagonistas do receptor NMDA como fenciclidina (PCP) e MK-801 quando administrados em humanos foram capazes de induzir sintomas comportamentais semelhantes aos positivos e negativos da esquizofrenia<sup>78-80</sup> e potencializar os sintomas já existentes em pacientes portadores da doença<sup>78,81,82</sup>. Quando administrados em roedores foi demonstrado que todos estes antagonistas foram capazes de provocar os mesmos sinais<sup>78,83</sup>.

Modelos farmacológicos têm sido utilizados para estudar o potencial antipsicótico de vários compostos, entre eles os doadores ou inibidores



do NO. Kandratavicius et al. (2015) demonstraram que a administração de nitroprussiato de sódio e gliceriltrinitrato, doadores de NO, atenuaram a perda da memória de longo prazo e a hiperlocomoção induzidas por ketamina em ratos. Da mesma forma, o pré-tratamento com azul de metileno, inibidor de NO, foi capaz de recuperar a memória de longo prazo. Esses achados mostram o impacto potencial de compostos relacionados ao NO em comportamentos induzidos por ketamina<sup>76</sup>. Adicionalmente, a baixa produção de NO também pode estar associada aos sintomas da esquizofrenia<sup>78</sup>. Assim, doadores de NO que levam ao aumento de sua produção podem representar um potencial terapêutico para o tratamento da esquizofrenia. Como demonstrado em outros estudos experimentais, doadores de NO como molsidomina, nitroprussiato de sódio e S-nitroso-N-acetilpenicilamina (SNAP) produziram efeitos contrários aos induzidos pelos antagonistas do receptor NMDA, como hipermotilidade, estereótipos, ataxia<sup>78,84-86</sup> e déficits cognitivos em roedores<sup>78,86,87</sup>.

Modelos experimentais são sempre limitados em reproduzir com fidelidade todas as características das patologias que ocorrem em seres humanos. Neste aspecto, os modelos farmacológicos de esquizofrenia não reproduzem as características etiológicas da doença, uma vez que os fármacos são administrados nos animais já adultos e a esquizofrenia, embora se manifeste no início da idade adulta, é uma doença afetiva que ocorre durante o neurodesenvolvimento.

### Isolamento social a partir do desmame

Com o objetivo de reproduzir o desenvolvimento das alterações cerebrais semelhantes à esquizofrenia de forma mais fidedigna, modelos experimentais não farmacológicos foram desenvolvidos. Dentre eles, o isolamento de ratos a partir do desmame tem sido largamente empregado<sup>88-90</sup>. O isolamento social de longa duração é considerado um estressor afetivo crônico<sup>88</sup> e induz alterações comportamentais, fisiológicas e neuroquímicas semelhantes àquelas que ocorrem em humanos portadores de algumas neuropatologias<sup>16</sup>. O isolamento de ratos iniciado imediatamente a partir do desmame (vigésimo primeiro dia de vida) e mantido por todo o período do desenvolvimento cerebral (no mínimo oito semanas) é o modelo experimental

não farmacológico mais utilizado na pesquisa das alterações cerebrais que ocorrem na esquizofrenia.

A submissão ao estresse afetivo no início da vida interfere negativamente nos processos do desenvolvimento cerebral como neurogênese, migração e diferenciação celular, sinaptogênese e mielinização<sup>91</sup>. Assim, neste modelo experimental o isolamento completo de ratos a partir do desmame é um estresse afetivo severo que afeta o desenvolvimento cerebral e leva a déficits afetivos e cognitivos que mimetizam o desenvolvimento da esquizofrenia em humanos<sup>89,90</sup>.

Estudos em seres humanos esquizofrênicos e modelos animais de esquizofrenia demonstraram alterações estruturais semelhantes no CPF, hipocampo e amígdala basolateral (ABL)<sup>92,93</sup>. Adicionalmente, foram descritas alterações de peso corporal, comportamento exploratório, inibição pelo pré-pulso do sobressalto acústico, inibição latente, anedonia, interação social, dor, esQUIVA passiva, déficits cognitivos, ansiedade, depressão, dificuldade de aprendizado discriminativo, atrofia dendrítica do estriado, funções dopaminérgica e serotoninérgica aumentadas na área mesolímbica, déficits na memória de reconhecimento, entre outras alterações que ocorrem na esquizofrenia<sup>89,94-96,99</sup>. Foi também observado que ratos isolados por um longo período tornaram-se mais agressivos e reativos, apresentando hiperfunção do córtex da glândula adrenal<sup>97,98</sup>. É esperado que neste modelo experimental ocorram também mudanças na organização molecular no cérebro destes animais.

Evidências farmacológicas e terapêuticas importantes também foram descritas a partir de estudos utilizando este modelo experimental. Por exemplo, foi demonstrado que drogas antipsicóticas como a risperidona e a clozapina atenuam o comportamento agressivo induzido pela criação de ratos em isolamento, bem como o déficit do PPI1. Uma vez que estudos recentes demonstraram o envolvimento do grupo II de receptores glutamatérgicos metabotrópicos (mGluR2/3) em distúrbios psiquiátricos, Kawasaki et al (2011) analisaram a ligação do antagonista do receptor mGluR2/3, [(3)H]LY341495, no cérebro de ratos criados em isolamento. Eles demonstraram que no córtex pré-frontal, nas camadas I-III corticais e no hipocampo esta ligação foi significativamente maior nos animais isolados, enquanto que em outras regiões cerebrais não foi alterada<sup>100</sup>. Isso sugere que uma disfunção da mediação glutamatérgica,

especificamente via receptor mGluR 2/3, participa das alterações cerebrais induzidas pela criação em isolamento<sup>99</sup>. Estes pesquisadores também investigaram o potencial terapêutico do agonista seletivo para o receptor mGluR2/3, MGS0028, no tratamento de doenças psiquiátricas e demonstraram que esta droga inibe a hiperatividade e o comportamento agressivo dos ratos criados em isolamento, além de reduzir os déficits do PPI.

## CONCLUSÃO

As evidências em conjunto reforçam o fato de que estudos adicionais devem ser realizados com o objetivo de esclarecer o envolvimento de outras neurotransmissões e vias de sinalização na fisiopatologia da esquizofrenia. Especificamente, um maior conhecimento sobre a neurotransmissão glutamatérgica, via receptores metabotrópicos, e a via ativada por NO representa uma contribuição fundamental para identificar novos alvos terapêuticos e aprimorar o tratamento desta e de outras doenças psiquiátricas.

## AGRADECIMENTOS

Auxílio financeiro: FACISB; FAPESP (Bolsa IC, L.D., Proc: 2018/06702-0)

## REFERÊNCIAS

- Guedes A da SM. Avaliação do impacto da perturbação mental na família, e implementação de um programa psicoeducacional. Universidade do Porto; 2008.
- Nasyrova RF, Ivashchenko DV, Ivanov MV, Neznanov NG. Role of nitric oxide and related molecules in schizophrenia pathogenesis: biochemical, genetic and clinical aspects. *Frontiers in physiology*. 2015;6:139.
- Van Os J, Kapur S. Schizophrenia. *Lancet*. 2009 Aug 22;374(9690):635–45.
- Silva RCB. Esquizofrenia: uma revisão. *Psicologia USP*. 2006;17(4):263-85.
- Lehman AF, Lieberman JA, Dixon LB, et al. Practice guideline for the treatment of patients with schizophrenia, second edition. *Am J Psychiatry* 2004; 161: 1–56.
- Sullivan PF, Kendler KS, Neale MC. Schizophrenia as a complex trait: evidence from a meta-analysis of twin studies. *Arch Gen Psychiatry*. 2003 Dec;60(12):1187–92.
- Brennand KJ, Simone A, Jou J, Gelboin-Burkhart C, Tran N, Sangar S, et al. Modelling schizophrenia using human induced pluripotent stem cells. *Nature*. 2011;473(7346):221–5.
- Vogel F. Schizophrenia genesis: The origins of madness. *Am J Hum Genet*. 1991 Jun;48(6):1218.
- Kandel ER, Schwartz JH, Jessell TM, Siegelbaum SA, Hudspeth AJ, editors. *Principles of Neural Science*, Fifth Edition. 5th edition. New York: McGraw-Hill Education / Medical; 2012; 1760.
- Hardy J, Gwinn-Hardy K. Genetic classification of primary neurodegenerative disease. *Science*. 1998;282(5391):1075–9.
- Freedman R. Schizophrenia. *New England Journal of Medicine*. 2003 Oct 30;349(18):1738–49.
- Krystal JH, D'Souza DC, Sanacora G, Goddard AW, Charney DS. Current perspectives on the pathophysiology of schizophrenia, depression, and anxiety disorders. *Med Clin North Am*. 2001 May;85(3):559–77.
- Vallada Filho H, Bussato Filho, G. Esquizofrenia. P. A, L. Dractu, R. Laranjeira (Orgs.), editor. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1996; 307.
- Lang UE, Puls I, Muller DJ, Strutz-Seebohm N, Gallinat J. Molecular mechanisms of schizophrenia. *Cell Physiol Biochem*. 2007;20(6):687–702.
- Field JR, Walker AG, Conn PJ. Targeting glutamate synapses in schizophrenia. *Trends Mol Med*. 2011 Dec;17(12):689–98.
- Li B-J, Liu P, Chu Z, Shang Y, Huan M-X, Dang Y-H, et al. Social isolation induces schizophrenia-like behavior potentially associated with HINT1, NMDA receptor 1, and dopamine receptor 2. *Neuroreport*. 2017 May 24;28(8):462–9.
- de Kloet ER, Joels M, Holsboer F. Stress and the brain: from adaptation to disease. *Nature reviews Neuroscience*. 2005;6(6):463-75.
- Reis GC, Arruda ALA. Fisiopatologia da esquizofrenia baseada nos aspectos moleculares da hipótese glutamatérgica. *Rev Bras Farm*. 2011;92(3):118–22.
- Stroeh E. Estudo do Inibidor da 3-Hidróxi-3-Metilglutaril-Coenzima A Redutase (Atorvastatina) na Transmissão e Toxicidade Glutamatérgica. Universidade Federal de Santa Catarina; 2008.
- Bressan RA, Pilowsky LS. Glutamatergic hypothesis of schizophrenia. *Brazilian Journal of Psychiatry*. 2003 Sep;25(3):177–83.
- Kubo M, Ito E. Structural dynamics of an ionotropic glutamate receptor. *Proteins*. 2004 Aug 15;56(3):411–9.
- Maksymetz J, Moran SP and Conn PJ. 2017. Targeting metabotropic glutamate receptors for novel treatments of schizophrenia. *Mol Brain*. 10(1):15.
- Ozawa S, Kamiya H, Tsuzuki K. Glutamate receptors in the mammalian central nervous system. *Prog Neurobiol*. 1998 Apr;54(5):581–618.
- Grewer C, Rauen T. Electrogenic glutamate transporters in the CNS: molecular mechanism, pre-steady-state kinetics, and their impact on synaptic signaling. *J Membr Biol*. 2005 Jan;203(1):1–20.
- Araripe Neto AG de A, Bressan RA, Busatto Filho G. Fisiopatologia da esquizofrenia: aspectos atuais. *Archives of Clinical Psychiatry (São Paulo)*. 2007;34:198–203.
- Seeman P. Glutamate and dopamine components in schizophrenia. *J Psychiatry Neurosci*. 2009 Mar;34(2):143–

- 9.
27. Stahl SM. Beyond the dopamine hypothesis to the NMDA glutamate receptor hypofunction hypothesis of schizophrenia. *CNS Spectr*. 2007 Apr;12(4):265–8.
28. Collinge J, Curtis D. Decreased hippocampal expression of a glutamate receptor gene in schizophrenia. *Br J Psychiatry*. 1991 Dec;159:857–9.
29. Eastwood SL, McDonald B, Burnet PW, Beckwith JP, Kerwin RW, Harrison PJ. Decreased expression of mRNAs encoding non-NMDA glutamate receptors GluR1 and GluR2 in medial temporal lobe neurons in schizophrenia. *Brain Res Mol Brain Res*. 1995 Apr;29(2):211–23.
30. Eastwood SL, Kerwin RW, Harrison PJ. Immunoautoradiographic evidence for a loss of alpha-amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazole propionate-preferring non-N-methyl-D-aspartate glutamate receptors within the medial temporal lobe in schizophrenia. *Biol Psychiatry*. 1997 Mar 15;41(6):636–43.
31. Eastwood SL, Burnet PW, Harrison PJ. GluR2 glutamate receptor subunit flip and flop isoforms are decreased in the hippocampal formation in schizophrenia: a reverse transcriptase-polymerase chain reaction (RT-PCR) study. *Brain Res Mol Brain Res*. 1997 Feb;44(1):92–8.
32. Porter RH, Eastwood SL, Harrison PJ. Distribution of kainate receptor subunit mRNAs in human hippocampus, neocortex and cerebellum, and bilateral reduction of hippocampal GluR6 and KA2 transcripts in schizophrenia. *Brain Res*. 1997 Mar 21;751(2):217–31.
33. Sestito RS, Trindade LB, de Souza RG, Kerbauy LN, Iyomasa MM, Rosa MLNM. Effect of isolation rearing on the expression of AMPA glutamate receptors in the hippocampal formation. *J Psychopharmacol (Oxford)*. 2011 Dec;25(12):1720–9.
34. Paz RD, Tardito S, Atzori M, Tseng KY. Glutamatergic Dysfunction in Schizophrenia: from basic neuroscience to clinical psychopharmacology. *Eur Neuropsychopharmacol*. 2008 Nov;18(11):773–86.
35. Marek GJ. Metabotropic glutamate2/3 (mGlu2/3) receptors, schizophrenia and cognition. *Eur J Pharmacol*. 2010 Aug 10;639(1–3):81–90.
36. Zhang H, Sulzer D. Glutamate spillover in the striatum depresses dopaminergic transmission by activating group I metabotropic glutamate receptors. *J Neurosci*. 2003 Nov 19;23(33):10585–92.
37. Satow A, Suzuki G, Maehara S, Hikichi H, Murai T, Murai T, et al. Unique antipsychotic activities of the selective metabotropic glutamate receptor 1 allosteric antagonist 2-cyclopropyl-5-[1-(2-fluoro-3-pyridinyl)-5-methyl-1H-1,2,3-triazol-4-yl]-2,3-dihydro-1H-indol-1-one. *J Pharmacol Exp Ther*. 2009 Jul;330(1):179–90.
38. Manahan-Vaughan D, Braunewell K-H. The metabotropic glutamate receptor, mGluR5, is a key determinant of good and bad spatial learning performance and hippocampal synaptic plasticity. *Cereb Cortex*. 2005 Nov;15(11):1703–13.
39. Homayoun H, Jackson ME, Moghaddam B. Activation of metabotropic glutamate 2/3 receptors reverses the effects of NMDA receptor hypofunction on prefrontal cortex unit activity in awake rats. *J Neurophysiol*. 2005 Apr;93(4):1989–2001.
40. Lorrain DS, Bacceti CS, Bristow LJ, Anderson JJ, Varney MA. Effects of ketamine and N-methyl-D-aspartate on glutamate and dopamine release in the rat prefrontal cortex: modulation by a group II selective metabotropic glutamate receptor agonist LY379268. *Neuroscience*. 2003;117(3):697–706.
41. Moghaddam B, Adams BW. Reversal of phencyclidine effects by a group II metabotropic glutamate receptor agonist in rats. *Science*. 1998 Aug 28;281(5381):1349–52.
42. Bernstein HG, Keilhoff G, Steiner J, Dobrowolny H, Bogerts B. Nitric oxide and schizophrenia: present knowledge and emerging concepts of therapy. *CNS & neurological disorders drug targets*. 2011;10(7):792-807.
43. Coyle JT. Nitric oxide and symptom reduction in schizophrenia. *JAMA psychiatry*. 2013;70(7):664-5.
44. Shim S, Shuman M, Duncan E. An emerging role of cGMP in the treatment of schizophrenia: A review. *Schizophrenia research*. 2016;170(1):226-31.
45. Docherty AR, Bigdeli TB, Edwards AC, Bacanu S, Lee D, Neale MC, et al. Genome-wide gene pathway analysis of psychotic illness symptom dimensions based on a new schizophrenia-specific model of the OPCRIT. *Schizophrenia research*. 2015;164(1-3):181-6.
46. Forstermann U, Closs EI, Pollock JS, Nakane M, Schwarz P, Gath I, et al. Nitric oxide synthase isozymes. Characterization, purification, molecular cloning, and functions. *Hypertension*. 1994;23(6 Pt 2):1121-31.
47. Flora Filho R, Zilberstein B. Óxido nítrico: o simples mensageiro percorrendo a complexidade. *Metabolismo, síntese e funções*. Revista da Associação Médica Brasileira. 2000;46:265-71.
48. Halliwell B. Biochemistry of oxidative stress. *Biochemical Society transactions*. 2007;35(Pt 5):1147-50.
49. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The international journal of biochemistry & cell biology*. 2007;39(1):44-84.
50. Ataya B, Tzeng E, Zuckerbraun BS. Nitrite-generated nitric oxide to protect against intimal hyperplasia formation. *Trends in cardiovascular medicine*. 2011;21(6):157-62.
51. Wu JQ, Kosten TR, Zhang XY. Free radicals, antioxidant defense systems, and schizophrenia. *Progress in neuro-psychopharmacology & biological psychiatry*. 2013;46:200-6.
52. Hampson AJ, Grimaldi M, Axelrod J, Wink D. Cannabidiol and (-)Delta9-tetrahydrocannabinol are neuroprotective antioxidants. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1998;95(14):8268-73.
53. Furchgott RF, Zawadzki JV. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature*. 1980;288(5789):373-6.
54. Endres M, Laufs U, Liao JK, Moskowitz MA. Targeting eNOS for stroke protection. *Trends in neurosciences*. 2004;27(5):283-9.

55. Virarkar M, Alappat L, Bradford PG, Awad AB. L-arginine and nitric oxide in CNS function and neurodegenerative diseases. *Critical reviews in food science and nutrition*. 2013;53(11):1157-67.
56. Reif A, Herterich S, Strobel A, Ehliis AC, Saur D, Jacob CP, et al. A neuronal nitric oxide synthase (NOS-I) haplotype associated with schizophrenia modifies prefrontal cortex function. *Molecular psychiatry*. 2006;11(3):286-300.
57. Shinkai T, Ohmori O, Hori H, Nakamura J. Allelic association of the neuronal nitric oxide synthase (NOS1) gene with schizophrenia. *Molecular psychiatry*. 2002;7(6):560-3.
58. Zhang Z, Chen X, Yu P, Zhang Q, Sun X, Gu H, et al. Evidence for the contribution of NOS1 gene polymorphism (rs3782206) to prefrontal function in schizophrenia patients and healthy controls. *Neuropsychopharmacology : official publication of the American College of Neuropsychopharmacology*. 2015;40(6):1383-94.
59. Liu P, Jing Y, Collie ND, Dean B, Bilkey DK, Zhang H. Altered brain arginine metabolism in schizophrenia. *Translational psychiatry*. 2016;6:e871.
60. Yang YJ, Xiong JW, Zhao Y, Zhan JQ, Chen HB, Yan K, et al. Increased plasma asymmetric dimethylarginine is associated with cognitive deficits in patients with schizophrenia. *Psychiatry research*. 2016;246:480-4.
61. Bessis A, Bechade C, Bernard D, Roumier A. Microglial control of neuronal death and synaptic properties. *Glia*. 2007;55(3):233-8.
62. Garrido-Mesa N, Zarzuelo A, Galvez J. What is behind the non-antibiotic properties of minocycline? *Pharmacological research*. 2013;67(1):18-30.
63. Dean OM, Data-Franco J, Giorlando F, Berk M. Minocycline: therapeutic potential in psychiatry. *CNS drugs*. 2012;26(5):391-401.
64. Mizoguchi Y, Kato TA, Horikawa H, Monji A. Microglial intracellular Ca(2+) signaling as a target of antipsychotic actions for the treatment of schizophrenia. *Frontiers in cellular neuroscience*. 2014;8:370.
65. Zhang L, Zhao J. Profile of minocycline and its potential in the treatment of schizophrenia. *Neuropsychiatric disease and treatment*. 2014;10:1103-11.
66. Kohen R, Nyska A. Oxidation of biological systems: oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions, and methods for their quantification. *Toxicologic pathology*. 2002;30(6):620-50.
67. Yong VW, Wells J, Giuliani F, Casha S, Power C, Metz LM. The promise of minocycline in neurology. *The Lancet Neurology*. 2004;3(12):744-51.
68. Lafioniatas A, Orfanidou MA, Papadopoulou ES, Pitsikas N. Effects of the inducible nitric oxide synthase inhibitor aminoguanidine in two different rat models of schizophrenia. *Behavioural brain research*. 2016;309:14-21.
69. Yao JK, Keshavan MS. Antioxidants, redox signaling, and pathophysiology in schizophrenia: an integrative view. *Antioxidants & redox signaling*. 2011;15(7):2011-35.
70. Smith CV. *Free Radical Mechanisms of Tissue Injury*. Mary Treinen Moslen CVS, editor. Boca Raton, Florida: CRC Press; 1992; 22.
71. Albayrak Y, Unsal C, Beyazyuz M, Unal A, Kuloglu M. Reduced total antioxidant level and increased oxidative stress in patients with deficit schizophrenia: a preliminary study. *Progress in neuro-psychopharmacology & biological psychiatry*. 2013;45:144-9.
72. Horacek J, Bubenikova-Valesova V, Kopecek M, Palenicek T, Dockery C, Mohr P, et al. Mechanism of action of atypical antipsychotic drugs and the neurobiology of schizophrenia. *CNS drugs*. 2006;20(5):389-409.
73. Kennedy JL, Altar CA, Taylor DL, Degtiar I, Hornberger JC. The social and economic burden of treatment-resistant schizophrenia: a systematic literature review. *International clinical psychopharmacology*. 2014;29(2):63-76.
74. Lindfors N, Barati S, O'Connor WT. Differential effects of single and repeated ketamine administration on dopamine, serotonin and GABA transmission in rat medial prefrontal cortex. *Brain research*. 1997;759(2):205-12.
75. Frohlich J, Van Horn JD. Reviewing the ketamine model for schizophrenia. *Journal of psychopharmacology*. 2014;28(4):287-302.
76. Kandratavicius L, Balista PA, Wolf DC, Abrao J, Evora PR, Rodrigues AJ, et al. Effects of nitric oxide-related compounds in the acute ketamine animal model of schizophrenia. *BMC neuroscience*. 2015;16:9.
77. Razoux F, Garcia R, Lena I. Ketamine, at a dose that disrupts motor behavior and latent inhibition, enhances prefrontal cortex synaptic efficacy and glutamate release in the nucleus accumbens. *Neuropsychopharmacology : official publication of the American College of Neuropsychopharmacology*. 2007;32(3):719-27.
78. Trevlopoulou A, Touzlatzi N, Pitsikas N. The nitric oxide donor sodium nitroprusside attenuates recognition memory deficits and social withdrawal produced by the NMDA receptor antagonist ketamine and induces anxiolytic-like behaviour in rats. *Psychopharmacology*. 2016;233(6):1045-54.
79. Javitt DC, Zukin SR. Recent advances in the phencyclidine model of schizophrenia. *The American journal of psychiatry*. 1991;148(10):1301-8.
80. Krystal JH, Karper LP, Seibyl JP, Freeman GK, Delaney R, Bremner JD, et al. Subanesthetic effects of the noncompetitive NMDA antagonist, ketamine, in humans. Psychotomimetic, perceptual, cognitive, and neuroendocrine responses. *Archives of general psychiatry*. 1994;51(3):199-214.
81. Lahti AC, Weiler MA, Tamara Michaelidis BA, Parwani A, Tamminga CA. Effects of ketamine in normal and schizophrenic volunteers. *Neuropsychopharmacology : official publication of the American College of Neuropsychopharmacology*. 2001;25(4):455-67.
82. Malhotra AK, Pinals DA, Adler CM, Elman I, Clifton A, Pickar D, et al. Ketamine-induced exacerbation of psychotic symptoms and cognitive impairment in neuroleptic-free schizophrenics. *Neuropsychopharmacology : official publication of the American College of Neuropsychopharmacology*. 1997;17(3):141-50.
83. Neill JC, Barnes S, Cook S, Grayson B, Idris NF, McLean SL, et al. Animal models of cognitive dysfunction and negative symptoms of schizophrenia: focus on NMDA receptor antagonism. *Pharmacology & therapeutics*. 2010;128(3):419-32.

84. Bujas-Bobanovic M, Bird DC, Robertson HA, Dursun SM. Blockade of phencyclidine-induced effects by a nitric oxide donor. *British journal of pharmacology*. 2000;130(5):1005-12.
85. Maia-de-Oliveira JP, Lobao-Soares B, Ramalho T, Gavioli EC, Soares VP, Teixeira L, et al. Nitroprusside single-dose prevents the psychosis-like behavior induced by ketamine in rats for up to one week. *Schizophrenia research*. 2015;162(1-3):211-5.
86. Pitsikas N, Zisopoulou S, Sakellaris N. Nitric oxide donor molsidomine attenuates psychotomimetic effects of the NMDA receptor antagonist MK-801. *Journal of neuroscience research*. 2006;84(2):299-305.
87. Yamada K, Noda Y, Hasegawa T, Komori Y, Nikai T, Sugihara H, et al. The role of nitric oxide in dizocilpine-induced impairment of spontaneous alternation behavior in mice. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*. 1996;276(2):460-6.
88. Blanchard RJ, McKittrick CR, Blanchard DC. Animal models of social stress: effects on behavior and brain neurochemical systems. *Physiology & behavior*. 2001;73(3):261-71.
89. Fone KC, Porkess MV. Behavioural and neurochemical effects of post-weaning social isolation in rodents-relevance to developmental neuropsychiatric disorders. *Neuroscience and biobehavioral reviews*. 2008;32(6):1087-102.
90. Weiss IC, Pryce CR, Jongen-Rejo AL, Nanz-Bahr NI, Feldon J. Effect of social isolation on stress-related behavioural and neuroendocrine state in the rat. *Behavioural brain research*. 2004;152(2):279-95.
91. Bandeira F, Lent R, Herculano-Houzel S. Changing numbers of neuronal and non-neuronal cells underlie postnatal brain growth in the rat. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2009 Aug 18;106(33):14108-13.
92. Jaaro-Peled H, Ayhan Y, Pletnikov MV, Sawa A. Review of pathological hallmarks of schizophrenia: comparison of genetic models with patients and nongenetic models. *Schizophr Bull*. 2010 Mar;36(2):301-13.
93. Levitt JJ, Bobrow L, Lucia D, Srinivasan P. A selective review of volumetric and morphometric imaging in schizophrenia. *Curr Top Behav Neurosci*. 2010;4:243-81.
94. Rosa MLNM, Silva RCB, Moura-de-Carvalho FT, Brandão ML, Guimarães FS, Del Bel EA. Routine post-weaning handling of rats prevents isolation rearing-induced deficit in prepulse inhibition. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*. 2005 Nov;38(11):1691-6.
95. Comery TA, Shah R, Greenough WT. Differential rearing alters spine density on medium-sized spiny neurons in the rat corpus striatum: evidence for association of morphological plasticity with early response gene expression. *Neurobiol Learn Mem*. 1995 May;63(3):217-9.
96. Jones GH, Hernandez TD, Kendall DA, Marsden CA, Robbins TW. Dopaminergic and serotonergic function following isolation rearing in rats: study of behavioural responses and postmortem and in vivo neurochemistry. *Pharmacol Biochem Behav*. 1992 Sep;43(1):17-35.
97. Wiberg GS, Grice HC. Long-Term Isolation Stress in Rats. *Science*. 1963;142(3591):507.
98. Bosaipo NB. Padrão de atividade locomotora e expressão de EAAC1 e GLT1 no córtex pré-frontal e entorrinal de ratos criados em isolamento a partir do desmame. [Dissertação de Mestrado ]: Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto (USP); 2012.
99. Ago Y, Araki R, Yano K, Kawasaki T, Chaki S, Nakazato A, et al. The selective metabotropic glutamate 2/3 receptor agonist MGS0028 reverses isolation rearing-induced abnormal behaviors in mice. *Journal of pharmacological sciences*. 2012;118(2):295-8.
100. Kawasaki T, Ago Y, Yano K, Araki R, Washida Y, Onoe H, et al. Increased binding of cortical and hippocampal group II metabotropic glutamate receptors in isolation-reared mice. *Neuropharmacology*. 2011;60(2-3):397-404.

---

**AUTOR DE CORRESPONDÊNCIA****Maria Luiza Nunes Mamede Rosa**

mlrosa.facisb@gmail.com

Av. Loja Maçonica Revonadora 68, Número 100  
Bairro Aeroporto - Barretos - Sp / Cep: 14785-002