



Fundação Universidade Federal do ABC

Pró reitoria de pesquisa

Av. dos Estados, 5001, Santa Terezinha, Santo André/SP, CEP 09210-580

Bloco L, 3ºAndar, Fone (11) 3356-7617

iniciacao@ufabc.edu.br

Projeto de Iniciação Científica submetido  
para avaliação no Edital Nº 4/2022 -  
PROPES (11.01.07)

**Título do projeto:**

Avaliação comportamental nas fases proestro/ estro e metaestro/ diestro de ratas do modelo MAM sob tratamento crônico com NAC

**Palavras-chave do projeto:** modelo MAM, N-acetil-L-cisteína, esquizofrenia, neuroinflamação, ciclo estral

**Área do conhecimento do projeto:** Neurociência, neuropsicofarmacologia

Sumário

1 Resumo..... 3

2 Introdução e Justificativa ..... 4

3 Objetivos ..... 7

4 Materiais e Métodos ..... 7

5 Cronograma de atividades ..... 10

6 Referências..... 12

## 1 Resumo

A hipótese de neurodesenvolvimento deficiente na esquizofrenia tem levado à utilização de modelos animais baseados em intervenções na fase perinatal. Dentre eles, o MAM consiste na injeção do antimitótico acetato de metilazoximetanol (MAM) no décimo sétimo dia de gestação de ratas Wistar, cujos filhotes apresentam prejuízos comportamentais e neuroquímicos, na fase adulta, tais como, aumento da locomoção na arena, sensibilidade a psicoestimulantes, redução na interação social, déficit no teste pré-atencional de inibição pré-pulso (PPI) e redução de neurônios gabaérgicos que expressam parvalbumina. Várias destas evidências se assemelham a alterações observadas em pacientes com esquizofrenia. Estudos recentes apontam para um aumento de citocinas inflamatórias e redução do antioxidante endógeno glutathione (GSH) em pacientes esquizofrênicos, levantando a hipótese acerca do papel do estresse oxidativo e da inflamação na fisiopatologia deste transtorno. Nossos resultados recentes demonstraram que o tratamento agudo ou crônico com o precursor do GSH, N-Acetil-L-Cisteína (NAC), reverteu os déficits comportamentais do modelo MAM. Considerando a escassez de estudos comportamentais em fêmeas e as diferenças hormonais e neuroquímicas, o presente projeto tem como objetivo principal avaliar os efeitos comportamentais em fêmeas, do uso crônico de NAC em filhotes de ratas tratadas com MAM. Inicialmente, as ratas receberão tratamento de MAM do 17º dia de gestação (ou salina, para os animais controle). Após o desmame, as fêmeas serão separadas dos machos e entre os dias 45-60 de vida receberão o primeiro dia de tratamento com NAC (ou salina), conforme a detecção da fase do ciclo estral (metade das fêmeas nas fases estro/proestro e a outra metade nas fases metaestro/ diestro). As ratas serão tratadas por 15 dias com NAC (tratamento crônico) ou salina e 24 após a última dose serão feitos os testes comportamentais de interação social, hiperlocomoção na arena e PPI. Durante todo o tratamento crônico será feito o lavado vaginal para verificar a fase do ciclo estral em que as ratas se encontram.

## 2 Introdução e Justificativa

A esquizofrenia é um transtorno psicótico crônico de origem multifatorial, envolvendo fatores genéticos e ambientais. A prevalência da esquizofrenia ao longo da vida de 0,3 a 0,7% (van Os e Kapur, 2009). Estima-se que em média 13,5 e 11,4 anos de vida sejam perdidos por morte prematura entre os homens e mulheres com esquizofrenia, respectivamente (Laursen et al., 2019). O início da esquizofrenia é marcado pelo primeiro episódio psicótico que, em geral, ocorre entre o final da adolescência e o início da vida adulta. O gênero parece influenciar a idade de manifestação do transtorno: em mulheres, o início ocorre em média 4 a 5 anos mais tarde (Seeman, 2021a). Além disso, em mulheres há um segundo pico de incidência do primeiro episódio psicótico na faixa etária dos 50 aos 54 anos, que coincide com a menopausa (Jongsma et al., 2018).

A esquizofrenia pode se manifestar através de sintomas positivos, negativos e cognitivos. Exemplos de sintomas positivos são alucinações, delírios e desordem de pensamento; os negativos se traduzem como embotamento afetivo, isolamento social, um sentimento profundo de desesperança que intensifica tendências ao suicídio, entre outros e os cognitivos representam pobre funcionamento executivo, déficits na memória de trabalho, comprometimento da linguagem, falhas na aprendizagem, atenção seletiva e filtro atencional reduzidos. A associação desses sintomas causa grandes prejuízos psíquicos, familiares, sociais e profissionais aos portadores desta síndrome. (Van Os and Kapur, 2009, Modinos et al., 2013).

Estudos post-mortem de cérebros de pacientes esquizofrênicos revelam uma diminuição no peso cerebral e um aumento dos ventrículos; outras modificações envolvem anormalidades da matéria branca, diminuição de volume em áreas frontais, tálamo, corpo caloso, gânglios da base, localização irregular de células corticais e uma diminuição de glutatona (GSH, antioxidante endógeno) no líquido cefalorraquidiano (Silva 2006, Schwabe et al 2006, Castro 2001, Wong and Van Tol, 2003).

Alterações em sinapses e em diversos sistemas de neurotransmissores também tem sido implicadas na fisiopatologia da esquizofrenia. Uma hipótese prevalente é que a neurotransmissão excessiva de dopamina (DA) contribui para a psicose. De acordo com a hipótese dopaminérgica os eventos psicóticos da esquizofrenia ocorrem pela ativação específica de receptores de DA que levam a manifestações de agitação psicomotora, alucinações auditivas e ideias delirantes do tipo persecutório que são cessadas após a

administração de neurolépticos bloqueadores de receptores dopaminérgicos (Geyer et al 2001, Graeff e Guimarães 1999, Mansbach et al 1988).

Dentre os modelos estudados para o estudo da esquizofrenia, está o chamado MAM. Baseado na utilização do antimitótico acetato de metilazoximetanol (MAM) no décimo sétimo dia gestacional (GD17) de ratas, inibindo temporariamente a mitose e, consequentemente, a formação de redes neuronais no hipocampo e a ramificação deste para outras regiões, como o CPF (Modinos et al., 2015). Com base na teoria do neurodesenvolvimento, o MAM desencadeia o aparecimento de sinais similares a alguns sintomas da esquizofrenia nos filhotes assim que eles entram na idade adulta (Gottschalk, 2013, Modinos et al., 2015).

O MAM é considerado um modelo de esquizofrenia com validade de constructo e de predição, pois a injeção desta toxina no GD17 (Flagstad et al., 2004a) resulta na redução do tamanho do hipocampo, aumento seletivo na densidade neuronal no CPF medial, déficits na neurotransmissão glutamatérgica hipocampal e outras alterações na prole (Grace, 2012, Hradetzky et al., 2012, Lodge and Grace, 2012, Gill et. al., 2014).

Adicionalmente, vários déficits comportamentais são observados na fase adulta destes animais do modelo MAM como redução na inibição pré-pulso (IPP), hiperlocomoção na arena, interação social diminuída, déficit na memória de trabalho e sensibilidade a psicotomiméticos, como antagonistas NMDA (Moore et al., 2006). Assim, o hipocampo parece ser hiperativo, devido presumivelmente a uma redução da atividade de interneurônios gabaérgicos que expressam parvalbumina no hipocampo ventral (Lodge and Grace, 2008). Os ratos desse modelo exibem uma diminuição da densidade de interneurônios de parvalbumina-positiva no CPF medial (CPFm), no hipocampo ventral e subiculum (Lodge et al., 2009). O aumento da função dopaminérgica e o déficit na regulação glutamatérgica atribuída a essa redução afetam diretamente o CPF através das diversas conexões entre este e o hipocampo (Grace e Gomes, 2019).

Resultados recentes de nosso grupo de pesquisa, demonstraram que o tratamento agudo ou crônico com o precursor do GSH, a n-acetil-cisteína (NAC) ou o tratamento agudo com um inibidor da síntese de óxido nítrico (L-NOARG) no modelo MAM foram capazes de reverter os déficits comportamentais desse modelo (Salum et al., 2014; Lopes-Rocha et al., 2022). Além disso, os efeitos comportamentais do NAC crônico foram abolidos pelo tratamento sub-crônico com o precursor do óxido nítrico, L-arginina, que também

potencializou os déficits comportamentais em animais MAM não tratados com NAC. Adicionalmente, foi observado um aumento da expressão de NADPH-d, cofator da NOS, no estriado de animais MAM. Além das propriedades antioxidantes do NAC, este fármaco pode modular a neurotransmissão de DA através de sua ação como sequestrador de óxido nítrico. Estudos mostraram que o NAC reverteu o aumento na liberação e inibição da recaptação de DA causados por doadores de óxido nítrico em cultura primária de células mesencefálicas (Salum et al., 2008, 2015). Em suma, os efeitos do NAC na redução dos déficits comportamentais em animais MAM sugerem que, pelo menos em parte, são causados pela redução de óxido nítrico e também que o aumento de óxido nítrico é capaz de potencializar as alterações comportamentais no modelo MAM.

A formação de radicais livres é combatida no sistema nervoso principalmente por um antioxidante endógeno conhecido pelo GSH, que como portador de um grupo tiol ativo possui múltiplas funções em organismos vivos (Gospodaryov and Lushchak, 2012). Suas funções envolvem a adição de um elétron em moléculas de superóxido, NO, radical hidroxila e o peroxinitrito (ONOO<sup>-</sup>). Além disso, ele serve como cofator essencial para um número de enzimas e serve como principal tampão redox mantendo a homeostase intracelular. O GSH também serve como neuromodulador ao se ligar a porção gama-glutamil em receptores NMDA, além de ser necessário no período de desenvolvimento para a proliferação celular e diferenciação neuronal (Aoyama et al., 2008).

A competência do NAC em restaurar os níveis de GSH no SNC, bem como sua segurança e tolerabilidade foram comprovados em vários estudos (Dodd et al., 2008, Gibson et al., 2009, Shimamoto et al., 2011). Além de seu papel como restaurador dos níveis de GSH, o NAC possui suas próprias atividade antioxidantes, como eliminar diretamente radicais hidroxila e ácido hipocloroso (Bridges et al., 2012).

A maioria dos estudos com uso de modelos animais é realizada predominantemente com machos e seus resultados generalizados para fêmeas. Assim, potenciais diferenças entre sexos permanecem inexploradas. O ciclo estral de roedores dura em torno de 4-5 dias, sendo dividido em quatro fases: proestro, estro, metaestro e diestro. Um estudo recente demonstrou que fêmeas expressam maior densidade de complexos de heterômeros D1-D2 e maior número de neurônios expressando D1-D2 (Hasbi et al., 2020) e que este aumento na expressão pode aumentar a suscetibilidade para apresentar comportamentos de ansiedade e depressão.

Considerando a diferença hormonal e as evidências neuroquímicas em machos e fêmeas, a literatura carece de maior investigação das alterações comportamentais em fêmeas sob os diferentes tratamentos farmacológicos.

### 3 Objetivos

O presente projeto tem como objetivo principal investigar os efeitos do tratamento com NAC crônico em fêmeas filhotes de mães tratadas com MAM ou salina, nas diferentes fases do ciclo estral.

Os objetivos específicos são:

1- Avaliar os efeitos do tratamento crônico com NAC nos testes de PPI, IS e locomoção na arena em ratas filhotes de mães tratadas com MAM,;

2 – Investigar se a fase do ciclo estral (fases proestro/ estro e metaestro/diestro) interfere na resposta comportamental dos tratamentos farmacológicos

### 4 Materiais e Métodos

#### 4.1 Animais

Serão utilizados ratos Wistar, 10 fêmeas e 5 machos, com aproximadamente 90 dias de idade e peso corporal de aproximadamente 250 g no início dos experimentos. Serão alojadas individualmente em gaiolas de polipropileno (40 x 33 x 18 cm) com uma camada de maravalha (3 cm), com água e comida ad libitum, e mantidas no biotério da UFABC com temperatura controlada ( $23^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ ) e ciclo de iluminação claro-escuro de 12 x 12 h (início às 7 horas). Após o nascimento e desmame (PN21) serão separados filhotes machos das fêmeas, que serão mantidos nas mesmas condições anteriores, porém em até 5 por gaiola. Serão utilizadas 40 ratas no total, 20 animais para cada experimento, contando com 5 animais por tratamento/ experimento, sendo os tratamentos salina/salina, MAM/salina, Salina/NAC, MAM/NAC.

#### 4.2 Drogas

O MAM (metilazoximetanol, Midwest Research Institute, Kansas City, EUA) será dissolvido em salina e administrado com injeção intraperitoneal na dose de 25mg/kg

(Lodge, 2013). O N-acetyl-L-cisteína (NAC, Sigma, Brasil) será administrado via intraperitoneal na dose de 250 mg/kg/ ml durante 15 dias.

#### 4.3 Equipamentos

##### 4.3.1 Caixas de sobressalto para teste de IPP

A resposta de sobressalto será avaliada em duas câmaras de sobressalto (SR-LAB; San Diego Instruments, San Diego, Califórnia, EUA). Cada câmara contém um cilindro claro que reside em cima de uma plataforma contendo abaixo alto-falantes de alta frequência que produzem um ruído de fundo constante de 59 dB e os estímulos acústicos emitidos durante o teste. A resposta de sobressalto do rato produz vibrações no cilindro, que são convertidos em sinais analógicos por uma unidade piezoelétrica ligada e armazenados como dados de digitalização em um computador. Em cada início do estímulo, 59 consecutivos 1 ms leituras serão obtidos para determinar a amplitude média da resposta de sobressalto acústico. Equipamentos SR-LAB será calibrado regularmente para assegurar a medição consistentemente precisa.

##### 4.3.2 Campo Aberto

Consiste em uma arena cilíndrica de acrílico transparente 50 cm (altura) x 60 cm (diâmetro) com base de madeira (100 cm x 80 cm) pintada em preto fosco.

#### 4.4 Procedimentos e Delineamento Experimental

##### 4.4.1 Teste de locomoção

Os animais serão submetidos ao teste de campo aberto. Serão colocados individualmente no centro da arena e deixados explorar por 1 hora, onde será registrada a distância percorrida por cada animal. Será utilizada iluminação de baixa intensidade durante o experimento. O comportamento (distância percorrida e velocidade) do animal será registrado pelo sistema EthoVision (Noldus).

##### 4.4.2. Teste de Interação Social

Após a fase final do teste IPP, cada rata será colocada em uma arena contendo uma rata adulta não familiar sob o mesmo tratamento farmacológico, MAM ou veículo,



e as interações serão registradas. Cada animal será posicionado em um lado da arena e os comportamentos exibidos durante 10 minutos serão analisados. Os comportamentos registrados serão a duração das respostas ativas de aproximação do adulto (cheirar, exploração anal/genital, “focinhar”, limpeza, lambar, brincar, tentativas de copular, exploração com as patas e orientação em direção ao rato jovem), sendo acumulados como total em segundos durante 10 minutos. Os comportamentos serão subdivididos em interação social passiva e ativa de cada rato baseando-se em se o animal estava em movimento ou não. Serão calculadas as médias de tempo dos comportamentos e serão avaliadas com análises de variância.

#### 4.4.3 Teste de PPI

Os animais serão colocados, individualmente, na caixa de sobressalto (San Diego Instruments) para a realização da sessão experimental. As sessões experimentais terão as seguintes etapas: um período de 5 minutos de aclimatização durante o qual será apresentado um ruído branco de fundo constante (65 dB). Em seguida, será apresentada uma série de 10 estímulos (pulsos; 40 ms de ruído branco na intensidade de 120dB) com intervalos de 15s em média entre eles, visando determinar a linha de base do sobressalto e a habituação ao estímulo. Após estas etapas ocorrerá o teste da IPP que constará de 35 apresentações aleatórias de 8 tipos diferentes de estímulos sonoros apresentados com intervalos de 15s em média: pulso (P), pré-pulso (PP, 20ms de som nas intensidades de 69, 73 ou 81dB de ruído branco), pulso precedido por pré-pulso (PP + P aplicados com intervalo de 100ms) e sem estímulo (ausência de som). Será calculada a média da amplitude de resposta de sobressalto (ARS) para cada tipo de estímulo. A IPP será calculada como a porcentagem da amplitude de resposta ao pré-pulso + pulso em relação à amplitude de resposta ao pulso sozinho, isto é,  $\%IPP = 100 - (100 * \frac{PP}{P})$ , onde o *PP* denota a média do ASR do pré-pulso + pulso e o *P* a média do ASR do pulso sozinho. Esse índice será calculado para cada animal em cada uma das intensidades de exposição do pré-pulso.

#### 4.4.4 Delineamento Experimental

O projeto será desenvolvido em dois experimentos, cada um com metade dos animais de cada grupo.

Experimento 1: Serão feitos os cruzamentos entre os animais, metade das ratas grávidas receberá salina e a outra metade, MAM, no 17º dia de gestação. Após o nascimento dos filhotes e desmame (PN21), as fêmeas (aproximadamente 20 animais) serão separadas em 3-4 por caixa. A partir do PN45, cada rata receberá uma injeção i.p. de salina ou NAC. Após uma hora os animais serão submetidos aos testes de PPI, locomoção na arena e IS. Estes mesmos testes comportamentais serão realizados 24 horas após a última dose (PN60) dos respectivos tratamentos.

Experimento 2: Replicação do experimento 1

#### 4.5. Coleta das amostras para a quantificação de citocinas

Serão feitas as coletas de amostra de sangue e dissecação das regiões de interesse para futuras quantificações de citocinas em outro projeto.

O sangue será coletado pela veia lateral da cauda. O animal será colocado em um suporte de restrição com a cauda exposta. A cauda será lavada com água (cerca de 30°C) para limpeza e dilatação da veia. Será aplicado creme anestésico local. Após isso, a agulha da seringa com tubo EDTA será inserida em ângulo raso em uma distância de 5cm da ponta da cauda. Após a coleta, será aplicada leve pressão no local afim de parar o sangramento. O tubo será armazenado a -80°C até o dia da análise.

As ratas serão sacrificadas por decapitação após anestesia com uretano (e o encéfalo será retirado para a análise de citocinas. Serão dissecadas as regiões de interesse (CPF e hipocampo ventral). Serão imediatamente congelados a -80°C até o dia da análise, em que serão pesados, descongelados, e colocados em uma placa de petri sobre gelo onde o tecido será cortado utilizando um bisturi e depois colocado em um Eppendorf com solução tampão de lise e coquetel inibidor de protease, que será incubado por 1h a 4°C. Em seguida, será colocado em um sonicador por 7 minutos com 0,5 min de períodos de sonicação a 4°C. As amostras serão centrifugadas por 15 min a 4 ° C a 14.000 rpm, após isso, o sobrenadante será aliqüotado e armazenado a -80 ° C.

## 5 Cronograma de atividades

### Atividades

- 1) Cruzamento dos animais (Experimento 1)
- 2) Experimentos comportamentais (Experimento 1)
- 3) Análise parcial dos dados e Escrita do primeiro relatório parcial
- 4) Cruzamento dos animais (Experimento 2)
- 5) Experimentos comportamentais (Experimento 2)
- 6) Análise dos Dados Experimentais
- 7) Escrita do relatório final

### Cronograma

Atividade/ Mês	Set/ out 2022	Nov/ Dez 2022	Jan/ Fev 2023	Mar/ Abr 2023	Mai/ Jun 2023	Jul/ Ago 2023
1)	x					
2)		x				
3)			x			
4)			x			
5)				x		
6)					x	
7)						x

## 6 Referências

- Grace, A.A. and Gomes, F.V., 2019. The circuitry of dopamine system regulation and its disruption in schizophrenia: insights into treatment and prevention. *Schizophr. Bull.*, 45(1), pp.148-157. doi: 10.1093/schbul/sbx199
- Du, Y. and Grace, A.A., (2016). Loss of parvalbumin in the hippocampus of MAM schizophrenia model rats is attenuated by peripubertal diazepam. *Int. J. Neuropsychopharmacol*, 19(11), p.pyw065. doi: 10.1093/ijnp/pyw065
- Moore, H., Jentsch, J.D., Ghajarnia, M., Geyer, M.A. and Grace, A.A., 2006. A neurobehavioral systems analysis of adult rats exposed to methylazoxymethanol acetate on E17: implications for the neuropathology of schizophrenia. *Biol. Psychiatry*, 60(3), pp.253-264. doi: 10.1016/j.biopsych.2006.01.003
- Territo PR and Zarrinmayeh H (2021) P2X7 Receptors in Neurodegeneration: Potential Therapeutic Applications From Basic to Clinical Approaches. *Front. Cell. Neurosci.* 15:617036. doi: 10.3389/fncel.2021.617036
- Zhu X, Cabungcal JH, Cuenod M, Uliana DL, Do KQ, Grace AA. Thalamic reticular nucleus impairments and abnormal prefrontal control of dopamine system in a developmental model of schizophrenia: prevention by N-acetylcysteine. *Mol Psychiatry*. 2021 Jun 30. doi: 10.1038/s41380-021-01198-8. Epub ahead of print. PMID: 34193975.
- Perez SM, Donegan JJ, Lodge DJ. Effect of estrous cycle on schizophrenia-like behaviors in MAM exposed rats. *Behav Brain Res*. 2019 Apr 19;362:258-265. doi: 10.1016/j.bbr.2019.01.031. Epub 2019 Jan 17. PMID: 30660776; PMCID: PMC6394843.
- van Os, J., & Kapur, S. (2009). Schizophrenia. *The Lancet*, 374(9690), 635–645. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(09\)60995-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(09)60995-8)
- Laursen T.M., Plana-Ripoll O., Andersen P.K., McGrath J.J., Toender A., Nordentoft M., Canudas-Romo V., Erlangsen A. Cause-specific life years lost among persons diagnosed with schizophrenia: Is it getting better or worse? *Schizophr Res*, v.206, p.284-290. 2019. 11424–11430. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2847-07.2007>
- Seeman M.V. Schizophrenia Psychosis in Women. *Women*, v.1, n.1, p.1-15. 2021a.
- Jongsma H.E., Gayer-Anderson C., Lasalvia A., Quattrone D., Mule A., Szoke A., Selten J.P., Turner C., Arango C., Tarricone I., Berardi D., Tortelli A., Llorca P.M., de Haan L., Bobes J., Bernardo M., Sanjuan J., Santos J.L., Arrojo M., Del-Ben C.M., Menezes P.R., Velthorst E., Murray R.M., Rutten B.P., Jones P.B., van Os J., Morgan C., Kirkbride J.B., European Network of National Schizophrenia Networks Studying Gene-Environment Interactions Work Package G. Treated Incidence of Psychotic Disorders in the Multinational EU-GEI Study. *JAMA Psychiatry*, v.75, n.1, p.36-46. 2018.
- Silva, R. C. B. (2006). Esquizofrenia: uma revisão. *Psicologia USP*, 17(4), 263-285.
- Geyer, M.A., Thomson, K.K., Braff, D., & Swerdlow, N.(2001). Pharmacological studies of prepulse inhibition models of sensorimotor gating deficits in schizophrenia: a decade in review. *Psychopharmacology* 156,117-154.
- Modinos, G., Allen, P., Grace, A. A., & McGuire, P. (2015). Translating the MAM model of psychosis to humans. *Trends in Neurosciences*, 38(3), 129–138. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2014.12.005>
- Modinos G, Iyegbe C, Prata D, Rivera M, Kempton MJ, Valmaggia LR, Sham PC, van Os J, McGuire P (2013) Molecular genetic gene-environment studies using candidate genes in schizophrenia: a systematic review. *Schizophr Res* 150:356-365.

Dodd, S., Dean, O., Copolov, D. L., Malhi, G. S., & Berk, M. (2008). Drug Evaluation N -acetylcysteine for antioxidant therapy : pharmacology and. 1955–1962.

Hasbi, A. et al. Sex difference in dopamine D1-D2 receptor complex expression and signaling affects depression- and anxiety-like behaviors. *Biology of Sex Differences*, v. 11, n. 8, 2020.

Salum, C., Raisman-Vozari, R., Michel, P. P., Gomes, M. Z., Mitkovski, M., Ferrario, J. E., Ginestet, L., & Del Bel, E. A. (2008). Modulation of dopamine uptake by nitric oxide in cultured mesencephalic neurons. *Brain Research*, 1198, 27–33. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2007.12.054>

Salum, C., Brosco, M., Messias-Filho, O., & Rodrigues, A. (2014). Poster #M16 EFFECTS OF A NITRIC OXIDE SYNTHASE INHIBITOR ON AN ANIMAL MODEL FOR THE STUDY OF SCHIZOPHRENIA BASED ON THE NEURODEVELOPMENTAL HYPOTHESIS. *Schizophrenia Research*, 153, S194–S195. [https://doi.org/10.1016/s0920-9964\(14\)70566-3](https://doi.org/10.1016/s0920-9964(14)70566-3)

Salum, C., Schmidt, F., Michel, P. P., Del-Bel, E., & Raisman-Vozari, R. (2015). Signaling Mechanisms in the Nitric Oxide Donor- and Amphetamine-Induced Dopamine Release in Mesencephalic Primary Cultured Neurons. *Neurotoxicity Research*, 29(1), 92–104. <https://doi.org/10.1007/s12640-015-9562-8>

Flagstad P, Mork A, Glenthøj BY, van Beek J, Michael-Titus AT, Didriksen M (2004a) Disruption of neurogenesis on gestational day 17 in the rat causes behavioral changes relevant to positive and negative schizophrenia symptoms and alters amphetamine-induced dopamine release in nucleus accumbens. *Neuropsychopharmacology* 29:2052-2064.

Flagstad, P., Glenthøj, B. Y., & Didriksen, M. (2005). Cognitive deficits caused by late gestational disruption of neurogenesis in rats: A preclinical model of schizophrenia. *Neuropsychopharmacology*, 30(2), 250–260. <https://doi.org/10.1038/sj.npp.1300625>

Grace, A. A. (2012). Dopamine system dysregulation by the hippocampus: Implications for the pathophysiology and treatment of schizophrenia. *Neuropharmacology*, 62(3), 1342–1348. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2011.05.011>

Gospodaryov, Dmytro & Lushchak, Volodymyr. (2012). Oxidative Stress: Cause and Consequence of Diseases. 10.5772/38093.

Bridges, R., Lutgen, V., Lobner, D., & Baker, D. A. (2012). Thinking outside the cleft to understand synaptic activity: Contribution of the cystine-glutamate antiporter (System Xc-) to normal and pathological glutamatergic signaling. *Pharmacological Reviews*, 64(3), 780–802. <https://doi.org/10.1124/pr.110.003889>