

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BÁSICAS DA SAÚDE  
CURSO DE GRADUAÇÃO EM BIOMEDICINA

Sofia Zanini Becker

**VALIDADE PREDITIVA DE ENSAIOS COMPORTAMENTAIS RELEVANTES À  
ESQUIZOFRENIA EM PEIXES-ZEBRA**

Porto Alegre  
2022

Sofia Zanini Becker

**VALIDADE PREDITIVA DE ENSAIOS COMPORTAMENTAIS RELEVANTES À  
ESQUIZOFRENIA EM PEIXES-ZEBRA**

Trabalho de conclusão de curso de graduação apresentado ao Instituto de Ciências Básicas da Saúde da Universidade Federal do Rio Grande do Sul como requisito parcial para a obtenção do título de Bacharela em Biomedicina.

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Ana Paula Herrmann

Coorientador: Prof. Dr. Angelo Piatto

Porto Alegre

2022

### CIP - Catalogação na Publicação

Becker, Sofia Zanini

VALIDADE PREDITIVA DE ENSAIOS COMPORTAMENTAIS  
RELEVANTES À ESQUIZOFRENIA EM PEIXES-ZEBRA / Sofia  
Zanini Becker. -- 2022.

60 f.

Orientadora: Ana Paula Herrmann.

Coorientador: Angelo Piato.

Trabalho de conclusão de curso (Graduação) --  
Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto  
de Ciências Básicas da Saúde, Curso de Biomedicina,  
Porto Alegre, BR-RS, 2022.

1. esquizofrenia. 2. antipsicóticos. 3. MK-801. 4.  
comportamento. 5. peixe-zebra. I. Herrmann, Ana Paula,  
orient. II. Piato, Angelo, coorient. III. Título.

Sofia Zanini Becker

**VALIDADE PREDITIVA DE ENSAIOS COMPORTAMENTAIS RELEVANTES À  
ESQUIZOFRENIA EM PEIXES-ZEBRA**

Trabalho de conclusão de curso de graduação apresentado ao Instituto de Ciências Básicas da Saúde da Universidade Federal do Rio Grande do Sul como requisito parcial para a obtenção do título de Bacharela em Biomedicina.

Aprovado em: 21 de outubro de 2022.

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Anna Maria Siebel - Universidade Federal do Rio Grande, FURG

---

Dr.<sup>a</sup> Radharani Benvenuti - Royal College of Surgeons in Ireland, RCSI

---

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Ana Paula Herrmann - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, UFRGS  
(orientadora)

## AGRADECIMENTOS

O desenvolvimento desse trabalho de conclusão de curso só foi possível devido à contribuição de diversas pessoas pelas quais eu sou extremamente grata.

Aos meus pais, Lilian e Jair, por todo incentivo e apoio ao longo dos anos e das decisões tomadas. Por sempre me deixarem livre, embarcarem comigo nas ideias e me ensinarem a refletir acerca das situações sob diferentes pontos de vista, com certeza isso me fez ser quem sou e saber como evoluir para buscar novos objetivos. Ao meu irmão, Enzo, pela companhia, por estar sempre pronto para me ajudar e ser meu parceiro em momentos de lazer. E a minha tia Sônia, minha avó Irene e Graci por colaborarem com um ambiente divertido e de boa convivência.

A minha orientadora, Ana Paula Herrmann, por ter aceitado me orientar e, ao longo do trabalho, ter sido sempre uma inspiração de conhecimento e dedicação à ciência e à dinâmica de laboratório. Além da atenção e disponibilidade em tirar dúvidas e ajudar no direcionamento do trabalho, fazendo com que fosse uma experiência muito mais tranquila e prazerosa.

Ao meu coorientador, Angelo Piato, por ter me recebido no laboratório sempre disposto a apoiar, corrigir e aperfeiçoar detalhes ao longo deste período.

Aos meus amigos que fizeram parte de toda minha trajetória acadêmica, especialmente Anderson, Isadora, Larissa, Lisie e Raphaela, sempre entendendo os momentos e sendo essenciais para ouvir, aconselhar, deixar tudo mais leve e fazer parte das melhores experiências.

Aos membros do Laboratório de Psicofarmacologia e Comportamento, obrigada pela ajuda na realização dos testes, análises e dúvidas. Em especial ao Matheus, por me acompanhar em todas as etapas e me ensinar a realizá-las.

## RESUMO

**Introdução:** A esquizofrenia é um transtorno psicótico grave caracterizado por pensamento desorganizado, alucinações, delírios, isolamento social, e déficits cognitivos. Embora sua fisiopatologia ainda não esteja totalmente esclarecida, sabe-se que está relacionada a disfunções em vias dopaminérgicas e transmissão glutamatérgica. Os antipsicóticos, fármacos utilizados no tratamento dessa condição, são classificados em típicos (bloqueadores de receptores dopaminérgicos D<sub>2</sub>) e atípicos (bloqueadores de receptores D<sub>2</sub> e 5-HT<sub>2A</sub> de serotonina). O MK-801 é um antagonista de receptores glutamatérgicos NMDA utilizado como ferramenta farmacológica para mimetizar fenótipos comportamentais relevantes aos sintomas da esquizofrenia em animais de laboratório. Entretanto, a literatura carece de estudos avaliando o efeito de antipsicóticos sobre as alterações comportamentais induzidas por MK-801 em peixes-zebra. **Objetivo:** Avaliar se os antipsicóticos olanzapina (atípico) e sulpirida (típico) previnem os efeitos da exposição aguda ao MK-801 em peixes-zebra, gerando informações quanto à validade preditiva de tais ensaios comportamentais. **Métodos:** Foram utilizados peixes-zebra adultos de ambos os sexos (n=15/grupo). Os animais foram aleatoriamente e individualmente expostos por 20 min a solução controle (água ou DMSO 1%) ou 3 concentrações de olanzapina (experimento 1 - 7,5, 15 e 30 mg/L) ou sulpirida (experimento 2 - 42,5, 85 e 170 mg/L); posteriormente, foram expostos por 20 min a MK-801 ou solução controle (água). Os animais foram então submetidos ao teste de preferência social (7 minutos) seguido pelo teste de tanque aberto (5 minutos). Os vídeos foram posteriormente analisados utilizando o software ANY-Maze®. Os dados foram analisados por ANOVA de duas vias/Bonferroni. **Resultados:** No teste de preferência social, o MK-801 reduziu o tempo na zona de interação e aumentou a distância percorrida, o número de cruzamentos e o tempo de imobilidade; entretanto, somente a alteração no número de cruzamentos foi observada em ambos os experimentos. No teste de tanque aberto, o MK-801 diminuiu a distância percorrida, o ângulo absoluto de virada e as rotações em sentido horário, enquanto aumentou o tempo de imobilidade; tais efeitos foram observados nos dois experimentos. A olanzapina reduziu de forma inespecífica o tempo na zona de interação na concentração mais alta, aumentou a distância percorrida na concentração mais baixa, e potencializou o efeito do MK-801 no número de cruzamentos nas concentrações mais baixa e intermediária. No teste de tanque aberto, todas as concentrações de olanzapina preveniram o aumento do tempo de imobilidade induzido pelo MK-801, e aumentaram de forma inespecífica a distância percorrida e o número de rotações em sentido horário (efeitos na direção oposta do MK-801). A sulpirida não teve efeitos significativos em nenhum dos parâmetros analisados. **Discussão:** Os efeitos do MK-801 no teste de tanque aberto foram mais robustos do que no teste de preferência social, que pode ser mais sensível a variações ambientais desconhecidas e/ou variabilidade interindividual. Embora a olanzapina tenha demonstrado efeitos na direção oposta aos do MK-801 no teste de tanque aberto, o contrário foi observado no teste de preferência social. Mais estudos são necessários para estabelecer a validade preditiva desse tipo de ensaio comportamental em peixes-zebra. São perspectivas desse trabalho testar outros antipsicóticos e ampliar a faixa de concentrações, modificar a ordem e a duração dos tratamentos, e avaliar os desfechos de interesse em outros testes comportamentais.

**Palavras-chave:** esquizofrenia; olanzapina; sulpirida; MK-801; comportamento; preferência social; teste de tanque aberto.

## ABSTRACT

**Introduction:** Schizophrenia is a severe psychotic disorder characterized by disorganized thinking, hallucinations, delusions, social isolation, and cognitive deficits. Although its pathophysiology is not yet fully understood, it is known to be related to dysfunctions in dopaminergic pathways and glutamatergic transmission. Antipsychotics, drugs used to treat this condition, are classified into typical (blockers of D<sub>2</sub> dopamine receptors) and atypical (blockers of serotonin 5-HT<sub>2A</sub> and D<sub>2</sub> receptors). MK-801 is an NMDA glutamatergic receptor antagonist used as a pharmacological tool to mimic behavioral phenotypes relevant to schizophrenia symptoms in laboratory animals. However, the literature lacks studies evaluating the effect of antipsychotics on behavioral changes induced by MK-801 in zebrafish. **Objective:** To assess whether the antipsychotics olanzapine (atypical) and sulpiride (typical) prevent the effects of acute exposure to MK-801 in zebrafish, generating information regarding the predictive validity of such behavioral assays. **Methods:** Adult zebrafish of both sexes were used (n=15/group). The animals were randomly and individually exposed for 20 min to a control solution (water or 1% DMSO) or 3 concentrations of olanzapine (experiment 1 - 7.5, 15 and 30 mg/L) or sulpiride (experiment 2 - 42.5, 85 and 170 mg/L); subsequently, they were exposed for 20 min to MK-801 or control solution (water). The animals were then subjected to the social preference test (7 minutes) followed by the open tank test (5 minutes). The videos were later analyzed using the ANY-Maze® software. Data were analyzed by two-way ANOVA/Bonferroni. **Results:** In the social preference test, MK-801 reduced the time in the interaction zone and increased the distance traveled, the number of crossings and the immobility time; however, only the change in the number of crossings was observed in both experiments. In the open tank test, MK-801 decreased travel distance, absolute turn angle and clockwise rotations, while increasing immobility time; such effects were observed in both experiments. Olanzapine nonspecifically reduced the time in the zone of interaction at the highest concentration, increased the distance traveled at the lowest concentration, and potentiated the effect of MK-801 on the number of crossings at the lowest and intermediate concentrations. In the open tank test, all concentrations of olanzapine prevented the increase in immobility time induced by MK-801, and nonspecifically increased the distance traveled and the number of clockwise rotations (effects in the opposite direction of MK-801). Sulpiride had no significant effects on any of the parameters analyzed. **Discussion:** The effects of MK-801 in the open tank test were more robust than in the social preference test, which may be more sensitive to unknown environmental variations and/or inter-individual variability. Although olanzapine demonstrated effects in the opposite direction to those of MK-801 in the open tank test, the opposite was observed in the social preference test. More studies are needed to establish the predictive validity of this type of behavioral assay in zebrafish. The prospects of this work are to test other antipsychotics and expand the range of concentrations, modify the order and duration of treatments, and evaluate the outcomes of interest in other behavioral tests.

**Keywords:** schizophrenia; olanzapine; sulpiride; MK-801; behavior; social preference; open tank test.

## LISTA DE ABREVIATURAS

D <sub>1</sub>	Receptor da dopamina
D <sub>2</sub>	Receptor da dopamina
5-HT	Serotonina
GABA	Ácido gama-aminobutírico
H1	Receptor histamínico
GluN	Subunidades do receptor glutamatérgico
M1,2,3,4	Receptor muscarínico
MK-801	Dizocilpina
NMDA	N-metil-D-aspartato



## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>9</b>
1.1 ESQUIZOFRENIA.....	9
1.2. MK-801 E PEIXE-ZEBRA .....	11
1.3. ANTIPSICÓTICOS.....	12
1.4 JUSTIFICATIVA .....	13
<b>2. OBJETIVOS .....</b>	<b>15</b>
2.1 OBJETIVO GERAL.....	15
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	15
<b>3. ARTIGO CIENTÍFICO.....</b>	<b>16</b>
<b>4. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS .....</b>	<b>30</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>31</b>
<b>APÊNDICE A – INSTRUMENTO DE COLETA DE DADOS .....</b>	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
<b>ANEXO A – NORMAS DE PUBLICAÇÃO DA REVISTA PSYCHOPHARMACOLOGY.....</b>	<b>36</b>

## 1. INTRODUÇÃO

### 1.1 Esquizofrenia

No ano de 1908, o psiquiatra suíço Eugen Bleuler cunhou o termo esquizofrenia e também descreveu os sintomas primários desse grave transtorno mental: associações anormais, comportamento e pensamento autista, afeto anormal e ambivalência (ASHOK; BAUGH; YERAGANI, 2012; MAATZ; HOFF; ANGST, 2015). Atualmente, sabe-se que a esquizofrenia é um transtorno psicótico caracterizado por três classes de sintomas: positivos, como alucinações e delírios; negativos, como anedonia, embotamento afetivo e déficit de interação social; e sintomas cognitivos, como problemas de atenção e de memória (JAUHAR; JOHNSTONE; MCKENNA, 2022). O diagnóstico da esquizofrenia pode ser feito a partir da presença de dois ou mais desses sintomas (por mais de 6 meses): delírios, alucinações e discurso desorganizado (a presença de um desses é obrigatória por pelo menos 1 mês contínuo), além de comportamento catatônico e sintomas negativos (American Psychiatric Association, 2014; GIRDLER; CONFINO; WOESNER, 2019). A necessidade desses seis meses ocorre em razão da variação das fases sintomáticas que o transtorno pode apresentar, sendo elas prodrômica, psicótica e residual. Na fase prodrômica há um aumento do isolamento social e da irritabilidade, sintomas que precedem o primeiro episódio psicótico (KLOSTERKÖTTER et al., 2001). Na fase psicótica há uma deterioração progressiva e um aumento dos sintomas típicos, além alterações morfológicas no encéfalo – diminuição do volume intracraniano médio, da integridade e da dimensão das substâncias cinzenta e branca (KAHN et al., 2015). Por fim, a fase residual, depois de 5 a 10 anos do primeiro surto, é similar à fase prodrômica em sintomas, embora haja uma preponderância em sintomas negativos e episódios neurodegenerativos (MAYES; MAYES, 2006; PERKINS et al., 2005).

Com relação à epidemiologia, sabe-se que a esquizofrenia tem prevalência de cerca de 1% da população (KAHN et al., 2015), e que normalmente o primeiro surto psicótico acontece no final da adolescência ou início da vida adulta (CHARLSON et al., 2018). A esquizofrenia também causa impactos em âmbitos variados para as pessoas acometidas por esse transtorno, já que está associada a desemprego, a pobreza (CHARLSON et al., 2018), a um alto índice de suicídio – até 50% dos pacientes com esquizofrenia apresentam ideação suicida e a mortalidade anual por essa razão é de 0,4-0,8% (BALHARA; VERMA, 2012) –, a perda de qualidade de

vida, ganho de peso, tabagismo, síndrome metabólica (JAUHAR; JOHNSTONE; MCKENNA, 2022) e redução da expectativa de vida (em 10 a 20 anos) (CHESNEY; GOODWIN; FAZEL, 2014).

Já foram identificados alguns fatores de risco para o desenvolvimento da esquizofrenia, como infecções no período pré-natal, complicações durante o nascimento e abuso de drogas. Em relação a diferenças de sexo, a incidência parece ser levemente maior em homens que em mulheres, com uma proporção de 1,7:1; junto disso, sabe-se que o pico da incidência em homens é aos 20 anos, enquanto em mulheres é a partir de 40 anos e tem um declínio menos acentuado (JAUHAR; JOHNSTONE; MCKENNA, 2022). Com relação aos sintomas, pacientes homens têm mais sintomas negativos e retraimento social, ao passo que mulheres têm mais alterações de humor e sintomas relacionados a depressão. Essas variações podem estar relacionadas aos cromossomos sexuais ou aos hormônios (LI et al., 2016).

A partir da metade do século XX, houve um maior enfoque na transmissão química do encéfalo como possível causa para o distúrbio, muito em razão da melhora das técnicas de neuroimagem e do advento dos antipsicóticos (NETO; BRESSAN; BUSATTO FILHO, 2007). O enfoque principal passou a ser a teoria dopaminérgica, que coloca o neurotransmissor dopamina como o principal causador, surgindo a partir de demonstrações de que a clorpromazina e o haloperidol (antipsicóticos) aumentavam os níveis de dopamina em certas regiões por atuarem como antagonistas de receptores dopaminérgicos D<sub>2</sub> (NETO; BRESSAN; BUSATTO FILHO, 2007). A dopamina está relacionada à função locomotora, secreção de prolactina, vasodilatação periférica, aprendizado e sistema de recompensa da via mesolímbica no sistema nervoso central (BERKE, 2018; BRUNTON; HILAL-DANDAN; KNOLLMANN, 2018).

No sistema nervoso central a dopamina está presente em 3 grandes projeções: mesolímbica/mesocortical (relacionadas a dependência, aprendizado, recompensa, motivação e emoção), tuberoinfundibular (regula prolactina) e nigroestriatal (movimento). A dopamina tem duas subfamílias de receptores, D<sub>1</sub> e D<sub>2</sub>, com variação nos aminoácidos e na função farmacológica (BRUNTON; HILAL-DANDAN; KNOLLMANN, 2018). Além disso, se observou que o abuso de anfetamina, uma droga que causa liberação excessiva de dopamina, induz sintomas semelhantes ao da esquizofrenia (JAUHAR; JOHNSTONE; MCKENNA, 2022). Com isso, surge a base da teoria de que os sintomas positivos estão associados à

hiperatividade da via dopaminérgica mesolímbica, enquanto os sintomas negativos seriam causados por hipoatividade da via dopaminérgica mesocortical (POGARELL et al., 2012).

Outra teoria importante envolve o glutamato (CARLSSON et al., 2001; HARDINGHAM; DO, 2016), principal neurotransmissor excitatório do encéfalo e envolvido também na migração neuronal (ZHOU; DANBOLT, 2014). A fenciclidina, uma droga que atua como antagonista de receptores glutamatérgicos do tipo N-metil-D-aspartato (NMDA) (ADELL, 2020; JAUHAR; JOHNSTONE; MCKENNA, 2022), também é capaz de induzir sintomas psicóticos e neurotoxicidade (DOMINO; LUBY, 2012). Os receptores de glutamato se dividem em receptores ionotrópicos – canais iônicos controlados por ligantes, relacionados à plasticidade sináptica – e receptores metabotrópicos – que possuem segundos mensageiros intracelulares e são moduladores da atividade neuronal. Dentre os receptores ionotrópicos está o NMDA (KIM et al., 2020; TRAYNELIS et al., 2010).

O receptor NMDA é formado por subunidades (GluN1, GluN2 e GluN3) (YAO et al., 2013) e possui pelo menos 4 sítios distintos de ligação: o local de ligação da fenciclidina (PCP/MK801), os locais de ligação do glutamato no GluN2, o local de ligação para glicina na subunidade GluN1, e os sítios moduladores alostéricos (KIM et al., 2020). Uma hipofunção de receptores NMDA pode prejudicar a atividade de interneurônios GABAérgicos, gerando uma inibição desses interneurônios e um aumento na atividade dos neurônios glutamatérgicos (STAHL, 2014). Esse mau funcionamento do receptor NMDA, ao diminuir a eficácia do GABA, faz gerar também um aumento nos disparos de neurônios dopaminérgicos na via mesolímbica (ADELL, 2020). Como é bem improvável que todos os pacientes tenham o mesmo mecanismo para o transtorno, sabe-se que a esquizofrenia tem etiologia multifatorial, envolvendo fatores genéticos e ambientais (KAHN et al., 2015).

## **1.2. MK-801 e peixe-zebra**

O NMDA desempenha um importante papel na fisiopatologia da esquizofrenia; em razão disso, existem diversos estudos que utilizam antagonistas NMDA, como o MK-801 – antagonista potente, não competitivo e seletivo – em modelos animais buscando mimetizar sintomas relevantes (OKADA et al., 2019). Esse uso deriva da observação de que, em pessoas saudáveis, a administração de antagonistas NMDA pode induzir sintomas psicóticos e outras alterações comportamentais e cognitivas semelhantes ao que se observa na esquizofrenia

(KEGELES et al., 2000). Embora os roedores sejam as espécies mais utilizadas em modelos animais de esquizofrenia, sendo o MK-801 conhecido por uma forte influência em diversos comportamentos sociais e locomotores (MOY et al., 2013), sabe-se que, em peixes-zebra, também consegue mimetizar sintomas como o déficit de interação social (ZIMMERMANN et al., 2016) e a hiperlocomção (FRANSCESCON et al., 2020). Além disso, estudos recentes do nosso grupo com administração de MK-801 em peixes-zebra reforçam que essa espécie pode ser empregada para estudar fenótipos comportamentais relevantes à esquizofrenia (BENVENUTTI et al., 2021, 2022; GIONGO et al., 2022).

O peixe-zebra vem sendo cada vez mais utilizado como organismo modelo em pesquisa e desenvolvimento de fármacos, uma vez que possui comportamentos e respostas complexas a certos estímulos que podem ser relacionados com circuitos específicos (COLWILL; CRETON, 2011; GIACOMOTTO et al., 2016). Também possui vantagens como alta fecundidade, fácil adaptação a diferentes abordagens comportamentais (PYATI; LOOK; HAMMERSCHMIDT, 2007), homologia de cerca de 70% com os genes humanos (STEWART et al., 2015) e sistemas já bem caracterizados em relação a neurotransmissores, receptores e enzimas (KALUEFF; STEWART; GERLAI, 2014; STEWART et al., 2015, 2014).

### **1.3. Antipsicóticos**

O tratamento farmacológico para a esquizofrenia busca reduzir o sofrimento e estabilizar as funções comportamentais e cognitivas dos pacientes (DA SILVA, 2006; STEPNIICKI; KONDEJ; KACZOR, 2018), além de reduzir hospitalizações e recaídas (CERASO et al., 2020). Os principais fármacos utilizados para tratar a esquizofrenia são os antipsicóticos, fármacos que surgiram por volta de 1950 (GRINCHII; DREMENCOV, 2020) e que são divididos em dois grupos: os de primeira geração, ou típicos, e os de segunda geração, ou atípicos (GIBSON, 2018). Embora a adesão ao tratamento seja limitada, as duas classes são relativamente eficazes no controle dos sintomas positivos; no entanto, não são capazes de minimizar os sintomas negativos e cognitivos (SHAFER; DAZZI, 2019).

Os antipsicóticos típicos agem bloqueando receptores dopaminérgicos D<sub>2</sub> sem seletividade entre as vias (STEPNIICKI; KONDEJ; KACZOR, 2018); em razão disso, estão relacionados a diversos efeitos adversos, como efeitos extrapiramidais – bradicinesia, rigidez muscular, acatisia, distonia, discinesia –, enquanto os atípicos estão associados a efeitos

metabólicos, incluindo hiperglicemia (diabetes), ganho de peso, síndrome metabólica (JEON; KIM, 2017), e aumento do risco de eventos cardiovasculares. Esses efeitos comprometem a adesão ao tratamento e afetam a qualidade de vida das pessoas (BRUIJNZEEL; SURYADEVARA; TANDON, 2014). Os antipsicóticos atípicos, que surgiram apenas nos anos 90, com a introdução da clozapina (GRINCHII; DREMENCOV, 2020), além de agir nos receptores  $D_2$ , também são antagonistas de receptores do tipo 5-HT<sub>2A</sub> (MELTZER, 2013).

A olanzapina é um antipsicótico atípico lançado no mercado em 1996. Além do seu efeito nos receptores  $D_2$ , também atua como antagonista  $D_1$ ; ademais, a olanzapina tem uma ação em receptores serotoninérgicos (5-HT<sub>2A</sub> e 5-HT<sub>2B</sub>, em menores concentrações e, em maiores concentrações, em 5-HT<sub>2C</sub>, 5-HT<sub>6</sub>, 5-HT<sub>7</sub>) (BYMASTER et al., 1999; DAVIS; SANGER, 2021), muscarínicos (M1, M2, M3 e M4) e receptor histamínico H1 (relacionado à saciedade e possivelmente ao aumento de peso) (JEON; KIM, 2017; TEIXEIRA; ROCHA, 2006); entretanto, destaca-se pela baixa incidência de efeitos extrapiramidais (FERREIRA, 2015).

A sulpirida, descoberta em 1960 e pertencente à classe das benzamidas (CALEY; WEBER, 1995; JAUHAR; JOHNSTONE; MCKENNA, 2022) pode ser classificada como antipsicótico típico ou atípico dependendo da fonte, uma vez que atua em receptores dopaminérgicos (CALEY; WEBER, 1995) e serotoninérgicos, porém surgiu na mesma época que os antipsicóticos típicos (WANG; SAMPSON, 2014). Está relacionada a efeitos extrapiramidais mais leves e tem uma boa tolerabilidade em idosos, tendo uma boa margem entre dosagens terapêuticas e tóxicas; entretanto, está relacionada a uma elevação na produção da prolactina dependente da dose aplicada (MAURI et al., 1996).

#### **1.4 Justificativa**

A esquizofrenia é caracterizada por ser um transtorno multifatorial, com diversos achados patológicos em diferentes circuitos e sintomatologia heterogênea. O tratamento com antipsicóticos, como a olanzapina e a sulpirida, apresenta limitações, como a eficácia limitada e efeitos adversos incapacitantes. Justifica-se, portanto, a busca por novos tratamentos e a padronização de modelos animais com valor translacional. Nesse sentido, é necessário avaliar a validade preditiva dos protocolos com MK-801 em peixes-zebra recentemente publicados pelo grupo. Considerando o baixo número de estudos avaliando o efeito de antipsicóticos em

peixes-zebra, é interessante estudar esse organismo modelo que está em constante crescimento na pesquisa neurocomportamental e que possui diversas vantagens em relação aos roedores, analisando a capacidade de prever os efeitos de fármacos já utilizados na clínica para tratar a esquizofrenia. Esse projeto está inserido dentro de um projeto guarda-chuva já aprovado pela CEUA e registrado com o título “Estabelecimento e validação farmacológica de modelos de esquizofrenia em peixes-zebra” (#35535).

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo geral**

O objetivo desse trabalho foi avaliar a validade preditiva de ensaios comportamentais com exposição ao MK-801 em peixes-zebra.

### **2.2 Objetivos específicos**

São objetivos específicos deste projeto:

- a) Avaliar os efeitos da olanzapina sobre as alterações comportamentais induzidas por MK-801 no teste de interação e no teste de tanque aberto em peixes-zebra;
- b) Avaliar os efeitos da sulpirida sobre as alterações comportamentais induzidas por MK-801 no teste de interação social e no teste de tanque aberto em peixes-zebra.



### **3. ARTIGO CIENTÍFICO**

Artigo elaborado segundo as normas da revista Psychopharmacology (ANEXO A).  
Disponível em: <https://bit.ly/3CjeCTu>.

## **VALIDADE PREDITIVA DE ENSAIOS COMPORTAMENTAIS RELEVANTES À ESQUIZOFRENIA EM PEIXES-ZEBRA**

Sofia Zanini Becker<sup>1\*</sup>, Matheus Gallas-Lopes<sup>1\*</sup>, Carlos G. Reis<sup>2,3</sup>, Leonardo M. Bastos<sup>2</sup>,  
Thailana S. Buss<sup>2</sup>, Elaine Elisabetsky<sup>4</sup>, Angelo Piato<sup>2,3,5</sup>, Ana P. Herrmann<sup>1,5</sup>

<sup>1</sup>Laboratório de Neurobiologia e Psicofarmacologia Experimental (PsychoLab),  
Departamento de Farmacologia, Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Universidade Federal  
do Rio Grande do Sul, Rua Ramiro Barcelos 2600, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, 90035-  
003, Brasil.

<sup>2</sup>Laboratório de Psicofarmacologia e Comportamento (LAPCOM), Departamento de  
Farmacologia, Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande  
do Sul, Rua Ramiro Barcelos 2600, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, 90035-003, Brasil.

<sup>3</sup>Programa de Pós-Graduação em Neurociências, Instituto de Ciências Básicas da Saúde,  
Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Rua Ramiro Barcelos 2600, Porto Alegre, Rio  
Grande do Sul, 90035-003, Brasil.

<sup>4</sup>Programa de Pós-Graduação em Bioquímica, Instituto de Ciências Básicas da Saúde,  
Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Rua Ramiro Barcelos 2600, Porto Alegre, Rio  
Grande do Sul, 90035-003, Brasil.

<sup>5</sup>Programa de Pós-Graduação em Farmacologia e Terapêutica, Instituto de Ciências Básicas  
da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Rua Ramiro Barcelos 2600, Porto  
Alegre, Rio Grande do Sul, 90035-003, Brasil.

Autora correspondente: Ana Paula Herrmann. Departamento de Farmacologia, Instituto de  
Ciências Básicas da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Rua Ramiro  
Barcelos 2600, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, 90035-003, Brasil  
E-mail: ana.herrmann@ufrgs.br

\*Esses autores contribuíram igualmente para o artigo.

## RESUMO

A esquizofrenia é um transtorno psiquiátrico grave relacionado a disfunções em vias dopaminérgicas e transmissão glutamatérgica. O MK-801 é um antagonista de receptores glutamatérgicos NMDA utilizado como ferramenta farmacológica para mimetizar fenótipos comportamentais relevantes aos sintomas da esquizofrenia em animais de laboratório, incluindo peixes-zebra. O objetivo desse estudo foi avaliar se os antipsicóticos olanzapina (atípico) e sulpirida (típico) previnem os efeitos comportamentais causados pela exposição aguda ao MK-801 em peixes-zebra. Peixes-zebra adultos de ambos os sexos (n=15/grupo) foram expostos a solução controle ou 3 concentrações de cada antipsicótico e, posteriormente, a MK-801 ou solução controle. Os animais foram submetidos ao teste de preferência social e de tanque aberto. No teste de preferência social, o MK-801 reduziu o tempo na zona de interação e aumentou a distância percorrida, o número de cruzamentos e o tempo de imobilidade. No teste de tanque aberto, o MK-801 diminuiu a distância percorrida, o ângulo absoluto de virada e as rotações em sentido horário, enquanto aumentou o tempo de imobilidade. Embora a olanzapina tenha demonstrado efeitos na direção oposta aos do MK-801 no teste de tanque aberto, o contrário foi observado no teste de preferência social. A sulpirida não teve efeitos significativos em nenhum dos parâmetros analisados. Mais estudos são necessários para estabelecer a validade preditiva desse tipo de ensaio comportamental em peixes-zebra.

**Palavras-chave:** esquizofrenia, olanzapina, sulpirida, MK-801, comportamento, preferência social, teste tanque aberto.

## 1. Introdução

A esquizofrenia é um grave transtorno mental que permanece como um desafio para a psiquiatria e apresenta três classes de sintomas: positivos, como alucinações e delírios; negativos, como anedonia e déficit de interação social; e cognitivos, como déficit de memória (ANG et al., 2020). Em relação à epidemiologia, sabe-se que a esquizofrenia tem prevalência em torno de 1% na população (MCGRATH et al., 2008), e que causa impactos em diferentes âmbitos, tais como o desemprego e redução de 10 a 20 anos na expectativa de vida (HJORTHØJ et al., 2017).

Embora as bases neurobiológicas da esquizofrenia e dos seus tratamentos ainda sejam pouco compreendidas, existem teorias que apontam que os sintomas positivos estariam relacionados à hiperatividade da via dopaminérgica mesolímbica, enquanto os sintomas negativos seriam causados por hipoatividade da via dopaminérgica mesocortical (HOWES; KAPUR, 2009). Outra hipótese muito utilizada para as pesquisas em modelos animais é a disfunção de receptores de glutamato do tipo NMDA – responsáveis por regular as funções de interneurônios GABAérgicos – gerando sua inibição e, assim, a hiperativação dos neurônios glutamatérgicos (OWEN; SAWA; MORTENSEN, 2016).

Diversos estudos utilizam compostos como o MK-801 – antagonista potente, não seletivo e competitivo de receptores NMDA (BONDI; MATTHEWS; MOGHADDAM, 2012)– em modelos animais buscando mimetizar sintomas relevantes ao transtorno, tais como déficit de preferência social, memória e aumento da locomoção (WINSHIP et al., 2019). Esse uso advém da observação de que, quando administrado em pessoas saudáveis, os antagonistas NMDA podem induzir sintomas psicóticos e outras alterações comportamentais e cognitivas (COYLE, 2012).

A administração de antipsicóticos é o principal tratamento para a esquizofrenia. Esses fármacos são divididos em primeira geração, ou típicos, e segunda geração, ou atípicos (LALLY; MACCABE, 2015) e ambas as classes são eficazes no controle dos sintomas positivos; no entanto, não possuem efeitos significativos nos sintomas negativos e cognitivos (OWEN; SAWA; MORTENSEN, 2016). Com relação ao mecanismo de ação, as duas classes de antipsicóticos atuam bloqueando os receptores D<sub>2</sub> de dopamina; entretanto, os atípicos também são antagonistas de receptores do tipo 5-HT<sub>2A</sub> (LALLY; MACCABE, 2015). Enquanto os antipsicóticos de primeira geração estão relacionados a sintomas extrapiramidais, os de segunda geração estão relacionados aos efeitos metabólicos (SIAFIS et al., 2017).

Dentro dessa classe de fármacos, tem-se a olanzapina, antipsicótico atípico lançado no mercado em 1996 e que se destaca pela baixa incidência de efeitos extrapiramidais (KOMOSSA et al., 2010), e a sulpirida, descoberta em 1960, que pode ser classificada como antipsicótico típico ou atípico dependendo da fonte, pois apesar de ter surgido na mesma época dos antipsicóticos típicos, atua em receptores dopaminérgicos e serotoninérgicos (NAKAZATO; HORIKAWA; AKIYAMA, 1998). Tanto a sulpirida quanto a olanzapina foram eficazes em inibir a hiperlocomoção (SEIBT et al., 2010) e o déficit de interação social (SEIBT et al., 2011) induzidos por MK-801 em peixe-zebra. Entretanto, esses estudos carecem de replicação e empregaram protocolos com avaliação manual dos desfechos. O objetivo desse trabalho foi avaliar a validade preditiva dos ensaios comportamentais com MK-

801 em peixes-zebra recentemente publicados pelo nosso grupo de pesquisa (BENVENUTTI et al., 2021), testando os efeitos desses dois antipsicóticos nos testes de preferência social e tanque aberto.

## 2. Materiais e Métodos

### 2.1 Animais

Os experimentos foram realizados utilizando peixes-zebra do tipo selvagem (4 meses, 300-500 mg). Os animais adultos foram obtidos de um fornecedor comercial local (Delphis, RS, Brasil). Todos os animais foram mantidos no Instituto de Ciências Básicas da Saúde em um ciclo claro/escuro de 14/10 horas com as luzes acesas às 7:00 da manhã por, pelo menos, 14 dias antes dos testes. Os peixes foram mantidos em aquários de 40 litros de água (30 × 46 × 33 cm) seguindo os parâmetros controlados exigidos de  $26 \pm 2$  °C; pH  $7,0 \pm 0,3$ ; oxigênio dissolvido em  $7,0 \pm 0,4$  mg/L; amônia total em  $<0,01$  mg/L; dureza total em 5,8 mg/L; alcalinidade em 22 mg/L CaCO<sub>3</sub>; condutividade de 1.500–1.600 µS/cm; além disso, os aquários foram constantemente filtrados e aerados. A alimentação com ração comercial em flocos (Poytara®, SP, Brasil) e artêmia (*Artemia salina*) foi disponibilizada duas vezes ao dia, no horário de 9:00 da manhã e 17:00 da tarde. Após os experimentos, os animais foram eutanasiados por choque hipotérmico de acordo com as Diretrizes da AVMA para a Eutanásia de Animais (Leary e Johnson, 2020) e decapitados. Todos os procedimentos foram aprovados pelo Comitê de Ética da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (#35525).

### 2.2 Drogas

Sulpirida (CAS: 15676-16-1) e MK-801 (dizocilpina) (CAS: 77086-22-7) foram adquiridos da Sigma-Aldrich. Olanzapina (CAS: 132539-06-1) foi adquirida da Selleck Chemicals. MK-801 foi diluído em água, olanzapina foi diluída em água com adição de uma quantidade mínima de ácido clorídrico 0,1 N; sulpirida foi diluída em água com adição de DMSO na proporção final de 1% para a maior concentração. As soluções foram renovadas durante o teste pelo menos a cada 8 animais.

### 2.3 Testes comportamentais

Os animais foram alocados aleatoriamente nos grupos experimentais por meio da randomização em bloco para contrabalancear variáveis como dia do experimento, sexo, tanque moradia, aparatos e lado do tanque com estímulo social. Na primeira etapa de tratamento os animais foram expostos por 20 minutos em béqueres contendo 200 mL de solução controle (água do tanque ou DMSO 1%) ou a uma das 3 concentrações dos antipsicóticos

(experimentos separados para cada antipsicótico). Na segunda etapa, os animais foram expostos por 20 minutos à água do tanque (controle) ou a uma solução de MK-801 5  $\mu$ M. As concentrações de olanzapina foram 7,5, 15 e 30 mg/L (experimento 1); e as concentrações de sulpirida foram 42,5, 85 e 170 mg/L (experimento 2). Logo após o tratamento, os animais foram submetidos sequencialmente ao teste de preferência social e ao teste de tanque aberto. A análise automatizada dos desfechos foi conduzida por experimentadores cegos aos grupos de tratamento.

### **2.3.1 Preferência Social**

Os animais foram colocados individualmente em um aquário (30  $\times$  10  $\times$  15 cm) flanqueado lateralmente por dois aquários idênticos (15  $\times$  10  $\times$  13 cm) contendo apenas água ou 10 animais desconhecidos como estímulo social. Os três aquários foram preenchidos a um nível de 10 cm com água nas condições padrões para peixe-zebra. Os tanques laterais foram trocados (direita e esquerda do tanque principal) de posição ao longo dos experimentos e a água do tanque principal foi trocada após cada animal. O aparato foi dividido virtualmente em três zonas (preferência social, meio e neutra) para avaliar o comportamento filmado de uma posição frontal por 7 minutos (2 de habituação mais 5 de teste) com o software ANY-Maze®. Foram quantificados o tempo que o animal permaneceu na zona mais próxima ao estímulo social, a distância total percorrida, o número de cruzamentos e o tempo de imobilidade.

### **2.3.2 Teste de tanque aberto**

Os animais foram posicionados em uma arena circular (24 cm de diâmetro e 8 cm de altura, 2 cm de nível de água) e filmados de cima para uma melhor avaliação dos comportamentos locomotores durante 5 minutos. Para análise dos vídeos, o aparato foi dividido virtualmente em duas zonas: zona central de 12 cm de diâmetro e periferia, e os seguintes parâmetros foram analisados pelo ANY-Maze®: movimentos circulares, ângulo absoluto de virada, distância total percorrida e tempo de imobilidade.

## **2.4 Análise estatística**

Foi usado o GraphPad Prism 8 (versão 8.4.3) para macOS para realizar as análises estatísticas e plotar os resultados. Os dados foram analisados por ANOVA de duas vias, sendo um fator o pré-tratamento com olanzapina ou sulpirida e o segundo fator o tratamento com MK-801. O teste post hoc de Bonferroni foi aplicado quando cabível. O nível de significância de  $p < 0.05$  foi estabelecido e os dados foram expressos em média  $\pm$  desvio padrão.

## **3. Resultados**

A figura 1 mostra os resultados do teste de preferência social. No experimento 1 os animais expostos ao MK-801 passaram menos tempo na zona de interação social, configurando uma diminuição da preferência social em comparação com o grupo controle ( $F_{1,112} = 30,05$ ,  $p < 0,0001$ , Fig. 1a); no experimento 2 o efeito do MK-801 nesse parâmetro não foi estatisticamente significativo ( $F_{1,112} = 3,474$ ,  $p = 0,0650$ , Fig. 1b). Além disso, o MK-801 aumentou a distância total percorrida ( $F_{1,112} = 19,94$ ,  $p < 0,0001$ , Fig. 1c) e o número de cruzamentos ( $F_{1,112} = 66,99$ ,  $p < 0,0001$ , Fig. 1e) no experimento 1; já no experimento 2, o MK-801 aumentou o número de cruzamentos ( $F_{1,112} = 5,744$ ,  $p = 0,00182$ , Fig. 1f) e o tempo de imobilidade ( $F_{1,112} = 7,032$ ,  $p = 0,0092$ , Fig. 1h) em comparação com os controles. As discrepâncias entre os dois experimentos demonstram que o efeito do MK-801 nesse teste não é completamente robusto.

A olanzapina reduziu de forma inespecífica o tempo na zona de interação na concentração mais alta ( $F_{3,112} = 4,582$ ,  $p = 0,0046$ , Fig. 1a) e aumentou a distância percorrida na concentração mais baixa ( $F_{3,112} = 4,880$ ,  $p = 0,0032$ , Fig. 1c). Além disso, observou-se uma interação entre a olanzapina e o MK-801 no número de cruzamentos ( $F_{3,112} = 3,103$ ,  $p = 0,0295$ , Fig. 1e); as análises *post hoc* mostraram que a olanzapina potencializou o efeito do MK-801 nas concentrações de 7.5 mg/L e 15 mg/L. Vale notar que os efeitos da olanzapina no teste de preferência social foram sempre no mesmo sentido que os efeitos do MK-801. A sulpirida foi desprovida de efeitos em todos os parâmetros, uma vez que não foram observados efeitos principais ou interações significativas estatisticamente.

A figura 2 mostra os resultados do teste de tanque aberto. Diferente do teste anterior, aqui os efeitos do MK-801 foram observados em todos os parâmetros de maneira equivalente nos dois experimentos, o que indica uma maior robustez desse ensaio. Observamos que o MK-801 diminuiu a distância percorrida ( $F_{1,112} = 38,30$ ,  $p < 0,0001$ , Fig. 2a;  $F_{1,112} = 29,10$ ,  $p < 0,0001$ , Fig. 2b), o ângulo absoluto de virada ( $F_{1,112} = 93,41$ ,  $p < 0,0001$ , Fig. 2c;  $F_{1,112} = 61,55$ ,  $p < 0,0001$ , Fig. 2d) e as rotações em sentido horário ( $F_{1,112} = 11,92$ ,  $p = 0,0008$ , Fig. 2e;  $F_{1,112} = 26,65$ ,  $p < 0,0001$ , Fig. 2f), enquanto aumentou o tempo de imobilidade ( $F_{1,112} = 18,18$ ,  $p < 0,0001$ , Fig. 2g;  $F_{1,112} = 17,92$ ,  $p < 0,0001$ , Fig. 2h).

A olanzapina em todas as concentrações testadas aumentou de forma inespecífica a distância percorrida ( $F_{3,112} = 8,931$ ,  $p < 0,0001$ , Fig. 2a) e o número de rotações em sentido horário ( $F_{3,112} = 11,92$ ,  $p = 0,0008$ , Fig. 2e) no teste de tanque aberto; tais efeitos foram na direção oposta aos efeitos induzidos pelo MK-801. Além disso, observou-se uma interação entre a olanzapina e o MK-801 no tempo de imobilidade ( $F_{3,112} = 6,864$ ,  $p = 0,0003$ , Fig. 2g); as análises *post hoc* mostraram que todas as concentrações de olanzapina preveniram o aumento do tempo de imobilidade induzido pelo MK-801. A sulpirida não teve efeitos significativos em nenhum dos parâmetros analisados; entretanto, a inspeção visual do gráfico revela que concentrações maiores poderiam levar a algum efeito preventivo no parâmetro tempo de imobilidade.

## 4. Discussão

Em relação aos efeitos do MK-801, observamos uma variabilidade nos resultados dos testes de preferência social. No experimento com olanzapina, o MK-801 diminuiu a preferência social e aumentou a distância total e o número de cruzamentos - o déficit de interação social e a hiperlocomoção são efeitos esperados com base na literatura do nosso e de outros grupos (RUNG et al., 2005; SEIBT et al., 2010; BENVENUTTI et al., 2021). Já no experimento com sulpirida, somente o efeito do MK-801 no número de cruzamentos foi replicado, e observou-se ainda um aumento no tempo de imobilidade que não foi observado no experimento com olanzapina. Isso demonstra que o teste de preferência social parece ser sensível a fatores ambientais desconhecidos que podem ter variado de um experimento para outro, bem como a eventuais diferenças entre os animais de cada experimento. Além disso, uma característica importante desse teste é a presença do estímulo social, que é outro fator que pode variar entre os testes. O comportamento do grupo de 10 animais que servem de estímulo social pode variar ao longo do experimento e mesmo dentro de um único teste. Além disso, os mesmos 10 animais não são usados para todos os testes, e a variabilidade intrínseca entre os animais também pode levar a diferenças de comportamento, de cor, padrão, forma e tamanho do corpo, dentre outros, o que pode influenciar o comportamento do indivíduo que está sendo testado. Por essa razão, alguns estudos adotaram o uso de animais virtuais apresentados por telas de computador, permitindo dessa forma a padronização do estímulo social entre os testes (SAVERINO; GERLAI, 2008; FERNANDES et al., 2015).

Já no teste do tanque aberto, os resultados para o MK-801 são bem mais robustos e possivelmente são indicadores de um comportamento estereotipado (BENVENUTTI et al., 2022; WU et al., 2005). Nos dois experimentos há diminuição da distância total, do ângulo absoluto de virada e da rotação em sentido horário, além do aumento no tempo de imobilidade, como esperado (BENVENUTTI et al., 2021). Essa maior robustez nos resultados do teste de tanque aberto pode também ser explicada pela diferença na altura da coluna d'água: alguns estudos relacionam a coluna d'água com alterações em testes como o de claro/escuro (CÓRDOVA; DOS SANTOS; DE OLIVEIRA, 2016). Enquanto no teste de tanque aberto há apenas a possibilidade de mobilidade horizontal em águas rasas, no teste de preferência social a coluna d'água é muito maior e também há mobilidade vertical.

Cabe ressaltar que, enquanto se observou uma hiperlocomoção nos grupos expostos ao MK-801 no teste de preferência social, no teste de tanque aberto o MK-801 causou efeito contrário. Esses efeitos discrepantes estão de acordo com resultados encontrados em artigo anterior do nosso grupo (BENVENUTTI et al., 2021), e podem ser explicados pela já relatada dependência de contexto para os efeitos hiperlocomotores do MK-801 (TRAN et al., 2016).

No teste de preferência social a olanzapina teve efeitos na mesma direção do MK-801, já que reduziu a preferência social e aumentou a distância percorrida e o número de cruzamentos. Apesar de não ser o efeito esperado para um antipsicótico e divergir da literatura (SEIBT et al., 2011), a literatura de roedores também mostra inconsistências e efeitos semelhantes (BIAŁOŃ et al., 2021; MORIMOTO et al., 2002; MENEZES et al., 2015). Uma revisão sistemática com metanálise corroborou esse cenário, demonstrando alta heterogeneidade para os efeitos de antipsicóticos no déficit de interação social induzido por MK-801 em roedores (HAZANI; LAVIDOR; WELLER, 2022). Além disso, sabe-se que os antipsicóticos na clínica não são eficazes no tratamento de sintomas negativos (OWEN; SAWA; MORTENSEN, 2016).



Nos testes de tanque aberto, os efeitos da olanzapina foram na direção oposta aos efeitos do MK-801, já que aumentou a distância percorrida e as rotações em sentido horário, e preveniu os efeitos do MK-801 no tempo de imobilidade. Pode-se especular que esse teste seja mais apropriado para detectar efeitos antipsicóticos em protocolos com antagonistas NMDA.

A sulpirida foi desprovida de efeitos em todos os parâmetros e testes analisados, mas não podemos descartar resultados diferentes com uma outra faixa de concentrações. De fato, no parâmetro tempo de imobilidade no teste de tanque aberto parece haver uma tendência em prevenir os efeitos do MK-801 que poderia ser revelada em concentrações maiores. De qualquer modo, a ausência de respostas não era o esperado para a sulpirida, já que dois estudos em peixes-zebra mostraram sua eficácia em prevenir ou reverter efeitos induzidos pelo MK-801, porém em protocolos substancialmente diferentes (SEIBT et al., 2010, 2011). Por outro lado, na literatura de roedores os antipsicóticos atípicos em geral são mais eficazes em reverter os efeitos de antagonistas NMDA (HAZANI; LAVIDOR; WELLER, 2022). A sulpirida possui uma classificação controversa como antipsicótico, já que surgiu na época dos típicos (1960), mas atua tanto em receptores dopaminérgicos como serotoninérgicos e possui menos efeitos adversos (WANG; SAMPSON, 2014).

De modo geral, esse trabalho demonstrou que nenhum dos antipsicóticos consegue prevenir agudamente de maneira robusta os efeitos do MK-801; a olanzapina, inclusive, potencializa alguns efeitos nos teste de preferência social. Apesar de não ser o esperado e estar em desacordo com os estudos anteriores, isso está em acordo com os resultados ainda inconsistentes desses antipsicóticos na sua eficácia clínica - principalmente em sintomas negativos e cognitivos - e com os resultados ainda controversos nos diferentes modelos animais. Com base nisso, mais estudos são necessários para estabelecer a validade preditiva desse tipo de ensaio comportamental em peixes-zebra. Dentre as perspectivas desse trabalho podemos citar: testar outros antipsicóticos e ampliar a faixa de concentrações, modificar a ordem e a duração dos tratamentos, e avaliar os desfechos de interesse em outros testes comportamentais e formatos de estímulo social.

## 5. Agradecimentos

Agradecemos à Pró-Reitoria de Pesquisa – Universidade Federal do Rio Grande do Sul (PROPESQ-UFRGS), à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS), à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelas bolsas concedidas a M.G-L, C.G.R., L.M.B., T.S.B., E.E. and A.P.

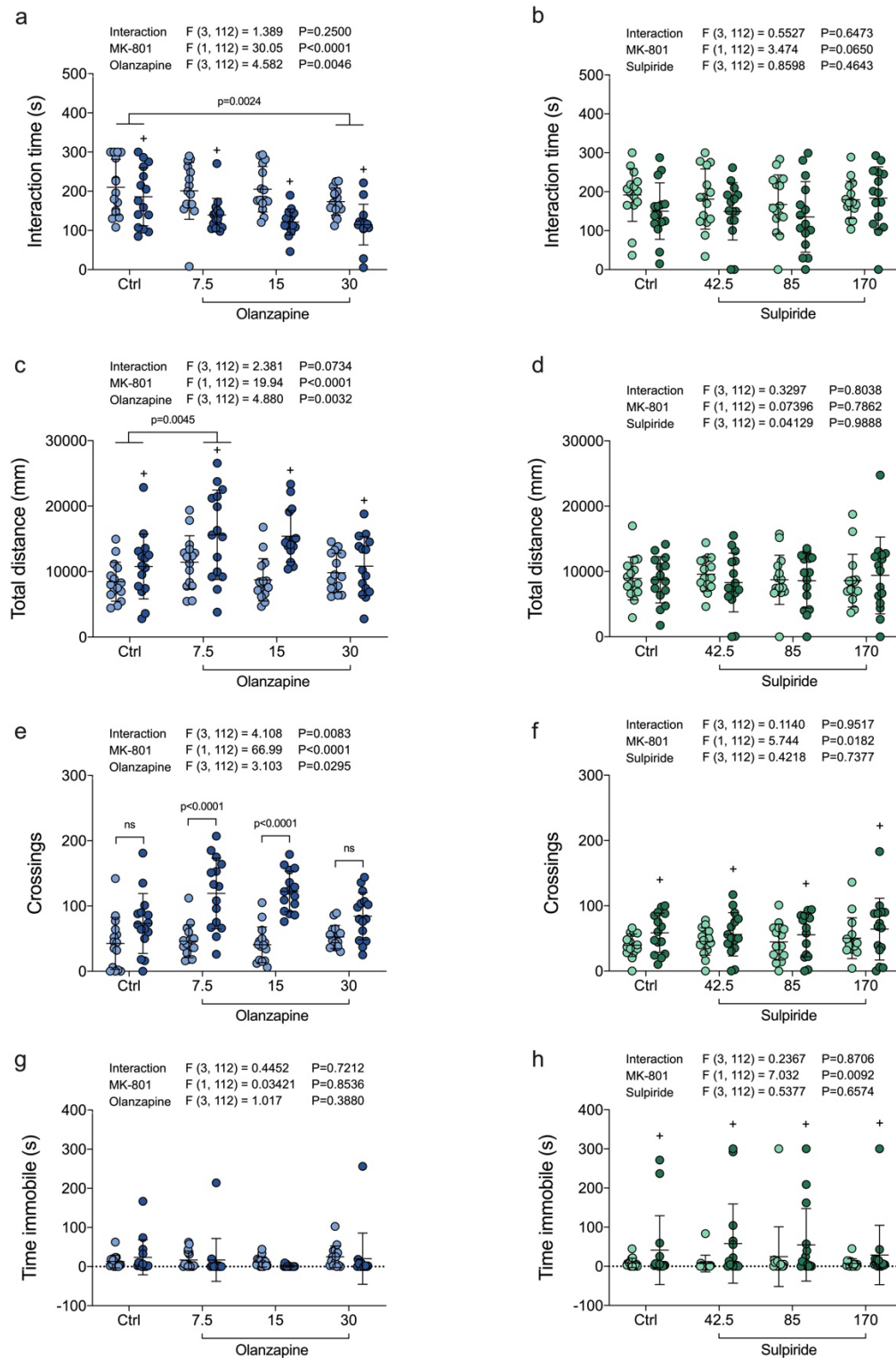
## 6. Referências

Ang, M. J., Lee, S., Kim, J.-C., Kim, S.-H., & Moon, C. (2020). Behavioral Tasks Evaluating Schizophrenia-like Symptoms in Animal Models: A Recent Update. *Current Neuropharmacology*, 19(5). <https://doi.org/10.2174/1570159x18666200814175114>

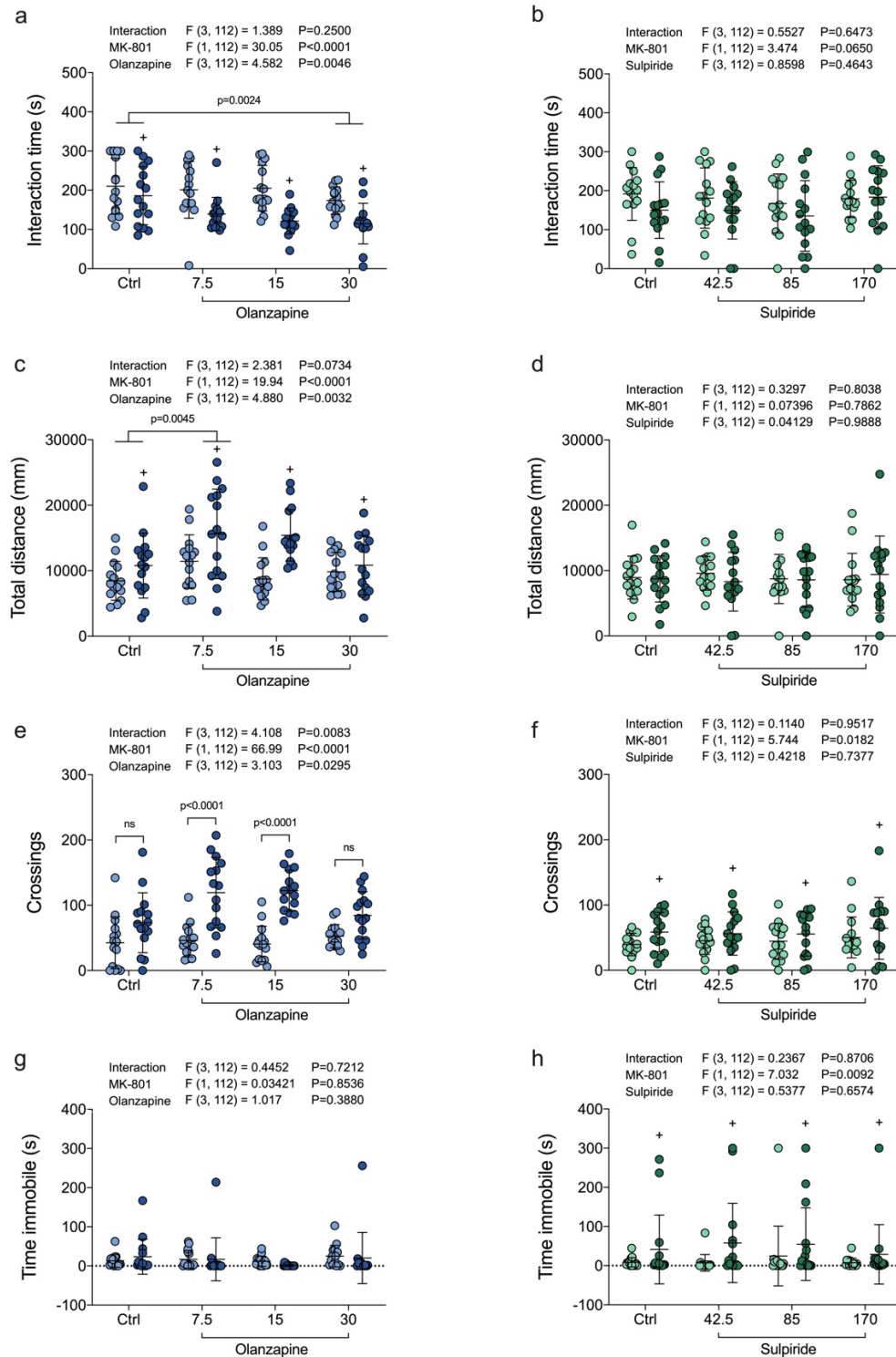
- Benvenuti R, Gallas-Lopes M, Marcon M, Reschke CR, Herrmann AP, Piato A. Glutamate NMDA Receptor Antagonists with Relevance to Schizophrenia: A Review of Zebrafish Behavioral Studies. *Curr Neuropharmacol*. 2022 Mar 4;20(3):494-509. doi: 10.2174/1570159X19666210215121428. PMID: 33588731.
- Benvenuti, R., Gallas-Lopes, M., Sachett, A., Marcon, M., Strogulski, N. R., Reis, C. G., Chitolina, R., Piato, A., & Herrmann, A. P. (2021). How do zebrafish (*Danio rerio*) respond to MK-801 and amphetamine? Relevance for assessing schizophrenia-related endophenotypes in alternative model organisms. *Journal of Neuroscience Research*, 99(11). <https://doi.org/10.1002/jnr.24948>.
- Białoń, M., Chocyk, A., Majcher-Maślanka, I., Żarnowska, M., Michalski, K., Antkiewicz-Michaluk, L., & Wąsik, A. (2021). 1MeTIQ and olanzapine, despite their neurochemical impact, did not ameliorate performance in fear conditioning and social interaction tests in an MK-801 rat model of schizophrenia. *Pharmacological Reports*, 73(2). <https://doi.org/10.1007/s43440-020-00209-9>.
- Bondi, C., Matthews, M., & Moghaddam, B. (2012). Glutamatergic animal models of schizophrenia. *Current Pharmaceutical Design*, 18(12).
- Córdova, S. D., dos Santos, T. G., & de Oliveira, D. L. (2016). Water column depth and light intensity modulate the zebrafish preference response in the black/white test. *Neuroscience Letters*, 619. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2016.03.008>.
- Coyle, J. T. (2012). NMDA receptor and schizophrenia: A brief history. In *Schizophrenia Bulletin* (Vol. 38, Issue 5). <https://doi.org/10.1093/schbul/sbs076>.
- Fernandes, Y., Rampersad, M., Jia, J., & Gerlai, R. (2015). The effect of the number and size of animated conspecific images on shoaling responses of zebrafish. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 139. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2015.01.011>.
- Hazani, R., Lavidor, M., & Weller, A. (2022). Treatments for Social Interaction Impairment in Animal Models of Schizophrenia: A Critical Review and Meta-analysis. *Schizophrenia Bulletin*, sbac093. <https://doi.org/10.1093/schbul/sbac093>.
- Hjorthøj, C., Stürup, A. E., McGrath, J. J., & Nordentoft, M. (2017). Years of potential life lost and life expectancy in schizophrenia: a systematic review and meta-analysis. *The Lancet Psychiatry*, 4(4). [https://doi.org/10.1016/S2215-0366\(17\)30078-0](https://doi.org/10.1016/S2215-0366(17)30078-0)
- Howes, O. D., & Kapur, S. (2009). The dopamine hypothesis of schizophrenia: Version III - The final common pathway. In *Schizophrenia Bulletin* (Vol. 35, Issue 3). <https://doi.org/10.1093/schbul/sbp006>.
- Komossa, K., Rummel-Kluge, C., Hunger, H., Schmid, F., Schwarz, S., Duggan, L., Kissling, W., & Leucht, S. (2010). Olanzapine versus other atypical antipsychotics for schizophrenia. In *Cochrane Database of Systematic Reviews* (Vol. 2010, Issue 3). <https://doi.org/10.1002/14651858.CD006654.pub2>.
- Lally, J., & MacCabe, J. H. (2015). Antipsychotic medication in schizophrenia: A review. *British Medical Bulletin*, 114(1). <https://doi.org/10.1093/bmb/ldv017>.

- McGrath, J., Saha, S., Chant, D., & Welham, J. (2008). Schizophrenia: A concise overview of incidence, prevalence, and mortality. In *Epidemiologic Reviews* (Vol. 30, Issue 1). <https://doi.org/10.1093/epirev/mxn001>
- Morimoto, T., Hashimoto, K., Yasumatsu, H., Tanaka, H., Fujimura, M., Kuriyama, M., Kimura, K., Takehara, S., & Yamagami, K. (2002). Neuropharmacological profile of a novel potential atypical antipsychotic drug Y-931 (8-fluoro-12-(4-methylpiperazin-1-yl)-6H-[1]benzothieno[2,3-b][1,5] benzodiazepine maleate). *Neuropsychopharmacology*, 26(4). [https://doi.org/10.1016/S0893-133X\(01\)00368-2](https://doi.org/10.1016/S0893-133X(01)00368-2)
- Menezes, F. P., Kist, L. W., Bogo, M. R., Bonan, C. D., & Da Silva, R. S. (2015). Evaluation of age-dependent response to NMDA receptor antagonism in zebrafish. *Zebrafish*, 12(2). <https://doi.org/10.1089/zeb.2014.1018>
- Nakazato, T., Horikawa, H. P. M., & Akiyama, A. (1998). The dopamine D2 receptor antagonist sulpiride causes long-lasting serotonin release. *European Journal of Pharmacology*, 363(1). [https://doi.org/10.1016/S0014-2999\(98\)00796-1](https://doi.org/10.1016/S0014-2999(98)00796-1)
- Owen, M. J., Sawa, A., & Mortensen, P. B. (2016). Schizophrenia. In *The Lancet* (Vol. 388, Issue 10039). [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(15\)01121-6](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(15)01121-6)
- Rung, J. P., Carlsson, A., Markinhuhta, K. R., & Carlsson, M. L. (2005). (+)-MK-801 induced social withdrawal in rats; A model for negative symptoms of schizophrenia. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 29(5). <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2005.03.004>
- Saverino, C., & Gerlai, R. (2008). The social zebrafish: Behavioral responses to conspecific, heterospecific, and computer animated fish. *Behavioural Brain Research*, 191(1). <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2008.03.013>
- Seibt, K. J., Oliveira, R. da L., Zimmermann, F. F., Capiotti, K. M., Bogo, M. R., Ghisleni, G., & Bonan, C. D. (2010). Antipsychotic drugs prevent the motor hyperactivity induced by psychotomimetic MK-801 in zebrafish (*Danio rerio*). *Behavioural Brain Research*, 214(2). <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2010.06.014>
- Seibt, K. J., Piato, A. L., da Luz Oliveira, R., Capiotti, K. M., Vianna, M. R., & Bonan, C. D. (2011). Antipsychotic drugs reverse MK-801-induced cognitive and social interaction deficits in zebrafish (*Danio rerio*). *Behavioural Brain Research*, 224(1). <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2011.05.034>
- Siafis, S., Tzachanis, D., Samara, M., & Papazisis, G. (2017). Antipsychotic Drugs: From Receptor-binding Profiles to Metabolic Side Effects. *Current Neuropharmacology*, 16(8). <https://doi.org/10.2174/1570159x15666170630163616>
- Tran, S., Muraleetharan, A., Fulcher, N., Chatterjee, D., & Gerlai, R. (2016). MK-801 increases locomotor activity in a context-dependent manner in zebrafish. *Behavioural Brain Research*, 296. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2015.08.029>
- Wang, J., & Sampson, S. (2014). Sulpiride versus placebo for schizophrenia. In *Cochrane Database of Systematic Reviews* (Vol. 2014, Issue 4). <https://doi.org/10.1002/14651858.CD007811.pub2>
- Winship, I. R., Dursun, S. M., Baker, G. B., Balista, P. A., Kandratavicius, L., Maia-de-Oliveira, J. P., Hallak, J., & Howland, J. G. (2019). An Overview of Animal Models Related to Schizophrenia. In *Canadian Journal of Psychiatry* (Vol. 64, Issue 1). <https://doi.org/10.1177/0706743718773728>

Wu, J., Zou, H., Strong, J. A., Yu, J., Zhou, X., Xie, Q., Zhao, G., Jin, M., & Yu, L. (2005). Bimodal effects of MK-801 on locomotion and stereotypy in C57BL/6 mice. *Psychopharmacology*, 177(3). <https://doi.org/10.1007/s00213-004-1944-1>



**Figura 1.** Efeitos da olanzapina e da sulpirida no teste de preferência social em peixes-zebra. O tempo despendido na zona de interação social (a-b) foi medido como parâmetro primário para a preferência social, enquanto a distância percorrida (c-d), o número de cruzamentos (e-f) e o tempo de imobilidade (g-h) foram quantificados como parâmetros secundários. ANOVA de duas vias seguida de teste post hoc de Bonferroni; + denota o efeito principal de MK-801. Os dados são apresentados como média  $\pm$  DP. n=15. Ctrl: controle, olanzapine: olanzapina, sulpiride: sulpirida (as concentrações estão indicadas em mg/L).



**Figura 2.** Efeitos da olanzapina e da sulpirida no teste de tanque aberto em peixe-zebra. A distância total (a-b) foi medida como parâmetro primário, enquanto o ângulo absoluto de virada (c-d), as rotações em sentido horário (e-f) e o tempo de imobilidade (g-h) foram quantificados como parâmetros secundários. ANOVA de duas vias seguida de teste post hoc de Bonferroni; + denota o efeito principal de MK-801. Os dados são apresentados como média  $\pm$  DP. n=15. Ctrl: controle, olanzapine: olanzapina, sulpiride: sulpirida (as concentrações estão indicadas em mg/L).

#### **4. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS**

Os resultados do MK-801 foram semelhantes aos resultados encontrados pelo nosso grupo em artigos anteriores e, apesar dos resultados da ação dos antipsicóticos olanzapina e sulpirida não terem sido o que se esperava em comparação com seus efeitos em outros modelos animais e estudos anteriores, o resultado corrobora com a necessidade de mais estudos em peixes-zebra para que seja possível adquirir maior robustez nos protocolos comportamentais empregados atualmente e demonstrar a validade preditiva para fármacos já utilizados na clínica.

As perspectivas futuras são realizar estudos com diferentes concentrações e tipos de antipsicóticos, inverter a ordem dos testes e dos tratamentos, e verificar a reprodutibilidade dos achados anteriores em peixes-zebra através de uma replicação direta. Também seria interessante analisar o comportamento social de outras formas, modificando o formato do estímulo social (animais reais versus animação) e aferindo a interação social em grupos e não individualmente.

## REFERÊNCIAS

- Adell, A. (2020). Brain NMDA receptors in schizophrenia and depression. In *Biomolecules* (Vol. 10, Issue 6). <https://doi.org/10.3390/biom10060947>
- American Psychiatric Association (APA). *Manual diagnóstico e estatístico de transtornos mentais: DSM-5*. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2014.
- Ashok, A. H., Baugh, J., & Yeragani, V. K. (2012). Paul Eugen Bleuler and the origin of the term schizophrenia (SCHIZOPRENIEGRUPPE). *Indian Journal of Psychiatry*, 54(1). <https://doi.org/10.4103/0019-5545.94660>
- Balhara, Y. P. S., & Verma, R. (2012). Schizophrenia and suicide. In *East Asian Archives of Psychiatry* (Vol. 22, Issue 3). <https://doi.org/10.5455/cap.20110327>.
- Benvenuti R, Gallas-Lopes M, Marcon M, Reschke CR, Herrmann AP, Piato A. Glutamate NMDA Receptor Antagonists with Relevance to Schizophrenia: A Review of Zebrafish Behavioral Studies. *Curr Neuropharmacol*. 2022 Mar 4;20(3):494-509. doi: 10.2174/1570159X19666210215121428. PMID: 33588731.
- Benvenuti, R., Gallas-Lopes, M., Sachett, A., Marcon, M., Strogulski, N. R., Reis, C. G., Chitolina, R., Piato, A., & Herrmann, A. P. (2021). How do zebrafish (*Danio rerio*) respond to MK-801 and amphetamine? Relevance for assessing schizophrenia-related endophenotypes in alternative model organisms. *Journal of Neuroscience Research*, 99(11). <https://doi.org/10.1002/jnr.24948>.
- Berke, J. D. (2018). What does dopamine mean? In *Nature Neuroscience* (Vol. 21, Issue 6). <https://doi.org/10.1038/s41593-018-0152-y>
- Bruijnzeel, D., Suryadevara, U., & Tandon, R. (2014). Antipsychotic treatment of schizophrenia: An update. In *Asian Journal of Psychiatry* (Vol. 11). <https://doi.org/10.1016/j.ajp.2014.08.002>
- Brunton, L., Hilal-Dandan, R., & Knollmann, B. C. (2018). *Goodman & Gilman : The Pharmacological Basic of Therapeutics*. In Thirteenth Edition.
- Bymaster, F. P., Nelson, D. L., Delapp, N. W., Falcone, J. F., Eckols, K., Truex, L. L., Foreman, M. M., Lucaites, V. L., & Calligaro, D. O. (1999). Antagonism by olanzapine of dopamine D1, serotonin2, muscarinic, histamine H1 and  $\alpha$ 1-adrenergic receptors in vitro. *Schizophrenia Research*, 37(1). [https://doi.org/10.1016/S0920-9964\(98\)00146-7](https://doi.org/10.1016/S0920-9964(98)00146-7)
- Caley, C. F., & Weber, S. S. (1995). Sulpiride: An antipsychotic with selective dopaminergic antagonist properties. In *Annals of Pharmacotherapy* (Vol. 29, Issue 2). <https://doi.org/10.1177/106002809502900210>
- Carlsson, A., Waters, N., Holm-Waters, S., Tedroff, J., Nilsson, M., & Carlsson, M. L. (2001). Interactions between monoamines, glutamate, and GABA in schizophrenia: New evidence. In *Annual Review of Pharmacology and Toxicology* (Vol. 41). <https://doi.org/10.1146/annurev.pharmtox.41.1.237>
- Ceraso, A., Lin, J. J., Schneider-Thoma, J., Sifakis, S., Tardy, M., Komossa, K., Heres, S., Kissling, W., Davis, J. M., & Leucht, S. (2020). Maintenance treatment with antipsychotic



- drugs for schizophrenia. In *Cochrane Database of Systematic Reviews* (Vol. 2020, Issue 8). <https://doi.org/10.1002/14651858.CD008016.pub3>
- Charlson, F. J., Ferrari, A. J., Santomauro, D. F., Diminic, S., Stockings, E., Scott, J. G., McGrath, J. J., & Whiteford, H. A. (2018). Global epidemiology and burden of schizophrenia: Findings from the global burden of disease study 2016. *Schizophrenia Bulletin*, 44(6). <https://doi.org/10.1093/schbul/sby058>
- Chesney, E., Goodwin, G. M., & Fazel, S. (2014). Risks of all-cause and suicide mortality in mental disorders: A meta-review. *World Psychiatry*, 13(2). <https://doi.org/10.1002/wps.20128>.
- Colwill, R. M., & Creton, R. (2011). Imaging escape and avoidance behavior in zebrafish larvae. *Reviews in the Neurosciences*, 22(1). <https://doi.org/10.1515/RNS.2011.008>
- da Silva, R. C. B. (2006). Esquizofrenia: Uma revisão. In *Psicologia USP* (Vol. 17, Issue 4). <https://doi.org/10.1590/S0103-65642006000400014>
- Davis, M. P., & Sanger, G. J. (2021). The Benefits of Olanzapine in Palliating Symptoms. In *Current Treatment Options in Oncology* (Vol. 22, Issue 1). <https://doi.org/10.1007/s11864-020-00804-1>
- Domino, E. F., & Luby, E. D. (2012). Phencyclidine/schizophrenia: One view toward the past, the other to the future. *Schizophrenia Bulletin*, 38(5). <https://doi.org/10.1093/schbul/sbs011>
- Ferreira, R. (2015). Antipsicóticos de segunda geração no tratamento da esquizofrenia. *Revista Acadêmica OSWALDO CRUZ*, n.7.
- Franscescon, F., Müller, T. E., Bertencello, K. T., & Rosemberg, D. B. (2020). Neuroprotective role of taurine on MK-801-induced memory impairment and hyperlocomotion in zebrafish. *Neurochemistry International*, 135. <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2020.104710>
- Giacomotto, J., Carroll, A. P., Rinkwitz, S., Mowry, B., Cairns, M. J., & Becker, T. S. (2016). Developmental suppression of schizophrenia-associated miR-137 alters sensorimotor function in Zebrafish. *Translational Psychiatry*, 6(5). <https://doi.org/10.1038/tp.2016.88>
- Gibson, M. D. (2018). Second-generation antipsychotic medications: Pharmacology, administration, and side effects. In *UpToDate*.
- Giongo, F. K., Gallas-Lopes, M., Benvenuti, R., Sachett, A., Bastos, L. M., Rosa, A. R., & Herrmann, A. P. (2022). Effects of taurine in mice and zebrafish behavioral assays with translational relevance to schizophrenia. *BioRxiv*, 2022.03.29.486302. <https://doi.org/10.1101/2022.03.29.486302>.
- Girdler, S. J., Confino, J. E., & Woesner, M. E. (2019). Exercise as a Treatment for Schizophrenia: A Review. In *Psychopharmacology bulletin* (Vol. 49, Issue 1).
- Grinchii, D., & Dremencov, E. (2020). Mechanism of action of atypical antipsychotic drugs in mood disorders. In *International Journal of Molecular Sciences* (Vol. 21, Issue 24). <https://doi.org/10.3390/ijms21249532>
- Hardingham, G. E., & Do, K. Q. (2016). Linking early-life NMDAR hypofunction and oxidative stress in schizophrenia pathogenesis. In *Nature Reviews Neuroscience*. <https://doi.org/10.1038/nrn.2015.19>
- Jauhar, S., Johnstone, M., & McKenna, P. J. (2022). Schizophrenia. *The Lancet*, 399(10323), 473–486. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(21\)01730-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(21)01730-X).

- Jeon, S. W., & Kim, Y. K. (2017). Unresolved issues for utilization of atypical antipsychotics in schizophrenia: Antipsychotic polypharmacy and metabolic syndrome. In *International Journal of Molecular Sciences* (Vol. 18, Issue 10). <https://doi.org/10.3390/ijms18102174>
- Kahn, R. S., Sommer, I. E., Murray, R. M., Meyer-Lindenberg, A., Weinberger, D. R., Cannon, T. D., O'Donovan, M., Correll, C. U., Kane, J. M., Van Os, J., & Insel, T. R. (2015). Schizophrenia. *Nature Reviews Disease Primers*, 1. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2015.67>
- Kalueff, A. V., Stewart, A. M., & Gerlai, R. (2014). Zebrafish as an emerging model for studying complex brain disorders. In *Trends in Pharmacological Sciences* (Vol. 35, Issue 2). <https://doi.org/10.1016/j.tips.2013.12.002>
- Kegeles, L. S., Abi-Dargham, A., Zea-Ponce, Y., Rodenhiser-Hill, J., Mann, J. J., Van Heertum, R. L., Cooper, T. B., Carlsson, A., & Laruelle, M. (2000). Modulation of amphetamine-induced striatal dopamine release by ketamine in humans: Implications for schizophrenia. *Biological Psychiatry*, 48(7). [https://doi.org/10.1016/S0006-3223\(00\)00976-8](https://doi.org/10.1016/S0006-3223(00)00976-8)
- Kim, J. H., Marton, J., Ametamey, S. M., & Cumming, P. (2020). A review of molecular imaging of glutamate receptors. In *Molecules* (Vol. 25, Issue 20). <https://doi.org/10.3390/molecules25204749>
- Klosterkötter, J., Hellmich, M., Steinmeyer, E. M., & Schultze-Lutter, F. (2001). Diagnosing schizophrenia in the initial prodromal phase. *Archives of General Psychiatry*, 58(2). <https://doi.org/10.1001/archpsyc.58.2.158>
- Li, R., Ma, X., Wang, G., Yang, J., & Wang, C. (2016). Why sex differences in schizophrenia? HHS Public Access. In *J Transl Neurosci (Beijing)* (Vol. 1, Issue 1).
- Maatz, A., Hoff, P., & Angst, J. (2015). Eugen Bleuler's schizophrenia—a modern perspective. *Dialogues in Clinical Neuroscience*, 17(1). <https://doi.org/10.31887/dcms.2015.17.1/amaatz>
- Mauri, M. C., Bravin, S., Bitetto, A., Rudelli, R., & Invernizzi, G. (1996). A risk-benefit assessment of sulpiride in the treatment of schizophrenia. In *Drug Safety* (Vol. 14, Issue 5). <https://doi.org/10.2165/00002018-199614050-00003>
- Mayes, C., & Mayes, P. B. (2006). Sandtray Therapy With A 24-Year-Old Woman in the Residual Phase of Schizophrenia. *International Journal of Play Therapy*, 15(1). <https://doi.org/10.1037/h0088910>
- Meltzer, H. Y. (2013). Update on typical and atypical antipsychotic drugs. In *Annual Review of Medicine* (Vol. 64). <https://doi.org/10.1146/annurev-med-050911-161504>
- Moy, S. S., Nonneman, R. J., Shafer, G. O., Nikolova, V. D., Riddick, N. V., Agster, K. L., Baker, L. K., & Knapp, D. J. (2013). Disruption of social approach by MK-801, amphetamine, and fluoxetine in adolescent C57BL/6J mice. *Neurotoxicology and Teratology*, 36. <https://doi.org/10.1016/j.ntt.2012.07.007>
- Neto, A. G. D. A. A., Bressan, R. A., & Busatto Filho, G. (2007). Fisiopatologia da esquizofrenia: Aspectos atuais. In *Revista de Psiquiatria Clinica* (Vol. 34, Issue SUPPL. 2). <https://doi.org/10.1590/S0101-60832007000800010>
- Okada, M., Fukuyama, K., Nakano, T., & Ueda, Y. (2019). Pharmacological discrimination of effects of MK801 on thalamocortical, mesothalamic, and mesocortical transmissions. *Biomolecules*, 9(11). <https://doi.org/10.3390/biom9110746>

- Perkins, D. O., Gu, H., Boteva, K., & Lieberman, J. A. (2005). Relationship between duration of untreated psychosis and outcome in first-episode schizophrenia: A critical review and meta-analysis. In *American Journal of Psychiatry* (Vol. 162, Issue 10). <https://doi.org/10.1176/appi.ajp.162.10.1785>
- Pogarell, O., Koch, W., Karch, S., Dehning, S., Müller, N., Tatsch, K., Poepperl, G., & Möller, H. J. (2012). Dopaminergic neurotransmission in patients with schizophrenia in relation to positive and negative symptoms. *Pharmacopsychiatry*, 45 Suppl 1. <https://doi.org/10.1055/s-0032-1306313>
- Pyati, U. J., Look, A. T., & Hammerschmidt, M. (2007). Zebrafish as a powerful vertebrate model system for in vivo studies of cell death. In *Seminars in Cancer Biology* (Vol. 17, Issue 2). <https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2006.11.007>
- Shafer, A., & Dazzi, F. (2019). Meta-analysis of the positive and Negative Syndrome Scale (PANSS) factor structure. *Journal of Psychiatric Research*, 115. <https://doi.org/10.1016/j.jpsychires.2019.05.008>
- STAHL, Stephen M. *Psicofarmacologia: bases neurocientíficas e aplicações práticas*. 4ª ed. Rio de Janeiro, RJ: Guanabara Koogan, 2014.
- Stepnicki, P., Kondej, M., & Kaczor, A. A. (2018). Current concepts and treatments of schizophrenia. In *Molecules* (Vol. 23, Issue 8). <https://doi.org/10.3390/molecules23082087>
- Stewart, A. M., Ullmann, J. F. P., Norton, W. H. J., Parker, M. O., Brennan, C. H., Gerlai, R., & Kalueff, A. V. (2015). Molecular psychiatry of zebrafish. In *Molecular Psychiatry* (Vol. 20, Issue 1). <https://doi.org/10.1038/mp.2014.128>
- Stewart, A. M., Braubach, O., Spitsbergen, J., Gerlai, R., & Kalueff, A. V. (2014). Zebrafish models for translational neuroscience research: From tank to bedside. In *Trends in Neurosciences* (Vol. 37, Issue 5). <https://doi.org/10.1016/j.tins.2014.02.011>
- Teixeira, P. J. R., & Rocha, F. L. (2006). Efeitos adversos metabólicos de antipsicóticos e estabilizadores de humor. *Revista de Psiquiatria Do Rio Grande Do Sul*, 28(2). <https://doi.org/10.1590/s0101-81082006000200011>
- Traynelis, S. F., Wollmuth, L. P., McBain, C. J., Menniti, F. S., Vance, K. M., Ogden, K. K., Hansen, K. B., Yuan, H., Myers, S. J., & Dingledine, R. (2010). Glutamate receptor ion channels: Structure, regulation, and function. In *Pharmacological Reviews* (Vol. 62, Issue 3). <https://doi.org/10.1124/pr.109.002451>
- Wang, J., & Sampson, S. (2014). Sulpiride versus placebo for schizophrenia. In *Cochrane Database of Systematic Reviews* (Vol. 2014, Issue 4). <https://doi.org/10.1002/14651858.CD007811.pub2>
- Yao, Y., Belcher, J., Berger, A. J., Mayer, M. L., & Lau, A. Y. (2013). Conformational analysis of NMDA receptor GluN1, GluN2, and GluN3 ligand-binding domains reveals subtype-specific characteristics. *Structure*, 21(10). <https://doi.org/10.1016/j.str.2013.07.011>
- Zhou, Y., & Danbolt, N. C. (2014). Glutamate as a neurotransmitter in the healthy brain. In *Journal of Neural Transmission* (Vol. 121, Issue 8). <https://doi.org/10.1007/s00702-014-1180-8>

Zimmermann, F. F., Gaspary, K. V., Siebel, A. M., & Bonan, C. D. (2016). Oxytocin reversed MK-801-induced social interaction and aggression deficits in zebrafish. *Behavioural Brain Research*, 311. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2016.05.059>

## ANEXO A – NORMAS DE PUBLICAÇÃO DA REVISTA PSYCHOPHARMACOLOGY

### Submission guidelines

#### Contents

- Instructions for Authors
  - General Guidelines
  - Editorial Procedure
  - Types of Papers
  - Manuscript Structure
  - Text
  - References
  - Tables
  - Artwork
  - Supplementary Information (SI)
  - Suggestions for Referees
  - After Acceptance
  - Open Choice
  - Ethical Responsibilities of Authors
  - Compliance with Ethical Standards
  - Disclosure of potential conflicts of interest
  - Editing Services
  - Reporting Guidelines
- Links and downloads
- Open access publishing

#### Instructions for Authors

##### General Guidelines

##### Legal Requirements

The author(s) guarantee(s) that the manuscript will not be published elsewhere in any language without the consent of the copyright owners, that the rights of third parties will not be violated, and that the publisher will not be held legally responsible should there be any claims for compensation. For more details, please visit the journal's website and refer to the section on "Copyright Information" under "For Authors and Editors."

##### Authorship

**Psychopharmacology** adheres to the following principles, as set out by The Society for Neuroscience in its guidelines on "Responsible Conduct Regarding Scientific Communication" (<http://www.sfn.org/index.cfm?pagename=responsibleConduct>): "Authorship should be based on a substantial intellectual contribution.

Authorship must be reserved for individuals who have met each of the following conditions: (a) made a significant contribution to the conception and design or the analysis and interpretation of data, (b) participated in drafting the article or reviewing and/or revising it for intellectual content, and (c) approved the final version of the manuscript. (Deceased persons deemed appropriate as authors should be so included with a footnote reporting their death.)".

### **Permissions**

Authors wishing to include figures or text passages that have already been published elsewhere are required to obtain permission from the copyright owner(s) and to include evidence that such permission has been granted when submitting their papers. Any material received without such evidence will be assumed to originate from the authors.

Once your paper has been accepted for publication, you will receive per e-mail a link to the "Copyright Transfer Statement," which must be signed and submitted before your paper can be published.

- - -

The editors reserve the right to reject manuscripts that do not comply with the above-mentioned requirements. The author will be held responsible for false statements or failure to fulfill the above-mentioned requirements.

### **Open Choice Publication**

In addition to the normal publication process (whereby an article is submitted to the journal and access to that article is granted to customers who have purchased a subscription), Springer now provides an alternative publishing option: Springer Open Choice. A Springer Open Choice article receives all the benefits of a regular 'subscription-based' article, but in addition is made available publicly through Springer's online platform SpringerLink. We regret that Springer Open Choice cannot be ordered for published articles. For more details, please visit the journal's website and refer to the section on "Open Choice" under "For Authors and Editors" (<http://springer.com/openchoice>).

Back to top

## **Editorial Procedure**

Manuscripts should be prepared carefully in accordance with the following points.

- 1. Manuscripts should be submitted online using the link on the journal's homepage.
- 2. Please identify the appropriate Principal Editor for your submission according to the information on the Editorial Board tab. Manuscripts which fall under more than one category or about which the author has some doubt should identify the Coordinating Editors for America (Janak) or the rest of the world (Robbins), who will take appropriate action.

[Back to top](#)

## **Types of Papers**

The following types of articles may be submitted for publication in the journal:

- Review Articles
- should not exceed 25 pages of text (excluding title page, abstract, references, tables, and figures).
- Original Investigations
- should not exceed 15 pages of text (excluding title page, abstract, references, tables, and figures). It should be noted that Psychopharmacology does not impose a minimum length on original investigations.
- Theoretical and Methodological Perspectives:
- This type of manuscript is primarily intended for critical evaluations of methods and theories, preferably by a consortium of authors from different laboratories. These contributions may also introduce novel theories and methods. Such contributions should be planned in consultation with a Principal Editor. Typically, these contributions are limited to 15 pages of text (excluding title page, abstract, references, tables, and figures) and may contain supplementary video material.
- Letters to the Editor and Commentaries
- are generally in the form of technical comments or points of controversy and should not exceed 3 pages of text.

[Back to top](#)

## **Manuscript Structure**

### **Title page**

The title page should include:

- The name(s) of the author(s)
- A concise and informative title (avoid assertive sentences)
- The affiliation(s) and address(es) of the author(s)
- The e-mail address, telephone, and fax numbers of the communicating author
- Acknowledgments of funding and grants and of any conflict of interest or of any circumstances that could be perceived as a potential conflict of interest

### **Abstract**

Each paper should be preceded by a structured Abstract in English of not more than 250 words. Abstracts should contain the following subheadings (in italic type), in the following order: Rationale, Objectives, Methods (if applicable), Results, Conclusions.

The **abstract** should not contain any undefined abbreviations or unspecified references.

### **Keywords**

Up to 10 keywords should be supplied after the Abstract for indexing purposes.

### **Abbreviations**

Abbreviations should be defined at first mention in the abstract and again in the main body of the text and used consistently thereafter. Abbreviations and metric units should conform to the International System of Units (SI).

### **Please note:**

Acknowledgments of **funding and grants** and of any conflict of interest or of any circumstances that could be perceived as a potential conflict of interest should also be placed on the Title page.

Back to top

### **Text**

#### **Text Formatting**

Manuscripts should be submitted in Word.

- Use a normal, plain font (e.g., 10-point Times Roman) for text.
- Use italics for emphasis.
- Use the automatic page numbering function to number the pages.



- Do not use field functions.
- Use tab stops or other commands for indents, not the space bar.
- Use the table function, not spreadsheets, to make tables.
- Use the equation editor or MathType for equations.
- Save your file in docx format (Word 2007 or higher) or doc format (older Word versions).

Manuscripts with mathematical content can also be submitted in LaTeX. We recommend using Springer Nature's LaTeX template.

### **Headings**

Please use no more than three levels of displayed headings.

### **Abbreviations**

Abbreviations should be defined at first mention and used consistently thereafter.

### **Footnotes**

Footnotes can be used to give additional information, which may include the citation of a reference included in the reference list. They should not consist solely of a reference citation, and they should never include the bibliographic details of a reference. They should also not contain any figures or tables.

Footnotes to the text are numbered consecutively; those to tables should be indicated by superscript lower-case letters (or asterisks for significance values and other statistical data). Footnotes to the title or the authors of the article are not given reference symbols.

Always use footnotes instead of endnotes.

### **Acknowledgments**

Acknowledgments of people, grants, funds, etc. should be placed in a separate section on the title page. The names of funding organizations should be written in full.

### **Please note:**

- One page equals approximately 4500 characters or 800 words without spaces.
- If you use Word 2007, do not create the equations with the default equation editor but use the Microsoft equation editor or MathType instead.
- Save your file as RTF (Rich Text Format) or Microsoft Word compatible formats. Do not submit docx files.

Back to top

## References

### Citation

Cite references in the text by name and year in parentheses. Some examples:

- Negotiation research spans many disciplines (Thompson 1990).
- This result was later contradicted by Becker and Seligman (1996).
- This effect has been widely studied (Abbott 1991; Barakat et al. 1995a, b; Kelso and Smith 1998; Medvec et al. 1999, 2000).

### Reference list

The list of references should only include works that are cited in the text and that have been published or accepted for publication. Personal communications and unpublished works should only be mentioned in the text.

Reference list entries should be alphabetized by the last names of the first author of each work. Please alphabetize according to the following rules: 1) For one author, by name of author, then chronologically; 2) For two authors, by name of author, then name of coauthor, then chronologically; 3) For more than two authors, by name of first author, then chronologically.

If available, please always include DOIs as full DOI links in your reference list (e.g. “<https://doi.org/abc>”).

- Journal article
- Gamelin FX, Baquet G, Berthoin S, Thevenet D, Nourry C, Nottin S, Bosquet L (2009) Effect of high intensity intermittent training on heart rate variability in prepubescent children. *Eur J Appl Physiol* 105:731-738.  
<https://doi.org/10.1007/s00421-008-0955-8>
- Ideally, the names of all authors should be provided, but the usage of “et al” in long author lists will also be accepted:
- Smith J, Jones M Jr, Houghton L et al (1999) Future of health insurance. *N Engl J Med* 341:325–329
- Article by DOI
- Slifka MK, Whitton JL (2000) Clinical implications of dysregulated cytokine production. *J Mol Med.* <https://doi.org/10.1007/s001090000086>
- Book
- South J, Blass B (2001) *The future of modern genomics.* Blackwell, London
- Book chapter

- Brown B, Aaron M (2001) The politics of nature. In: Smith J (ed) The rise of modern genomics, 3rd edn. Wiley, New York, pp 230-257
- Online document
- Cartwright J (2007) Big stars have weather too. IOP Publishing PhysicsWeb. <http://physicsweb.org/articles/news/11/6/16/1>. Accessed 26 June 2007
- Dissertation
- Trent JW (1975) Experimental acute renal failure. Dissertation, University of California

Always use the standard abbreviation of a journal's name according to the ISSN List of Title Word Abbreviations, see

ISSN LTWA

If you are unsure, please use the full journal title.

Back to top

### **Tables**

- All tables are to be numbered using Arabic numerals.
- Tables should always be cited in text in consecutive numerical order.
- For each table, please supply a table caption (title) explaining the components of the table.
- Identify any previously published material by giving the original source in the form of a reference at the end of the table caption.
- Footnotes to tables should be indicated by superscript lower-case letters (or asterisks for significance values and other statistical data) and included beneath the table body.

Back to top

### **Artwork**

For the best quality final product, it is highly recommended that you submit all of your artwork – photographs, line drawings, etc. – in an electronic format. Your art will then be produced to the highest standards with the greatest accuracy to detail. The published work will directly reflect the quality of the artwork provided.

### **Electronic Figure Submission**

- Supply all figures electronically.
- Indicate what graphics program was used to create the artwork.

- For vector graphics, the preferred format is EPS; for halftones, please use TIFF format. MS Office files are also acceptable.
- Vector graphics containing fonts must have the fonts embedded in the files.
- Name your figure files with "Fig" and the figure number, e.g., Fig1.eps.

### **Line Art**

- Definition: Black and white graphic with no shading.
- Do not use faint lines and/or lettering and check that all lines and lettering within the figures are legible at final size.
- All lines should be at least 0.1 mm (0.3 pt) wide.
- Scanned line drawings and line drawings in bitmap format should have a minimum resolution of 1200 dpi.
- Vector graphics containing fonts must have the fonts embedded in the files.

### **Halftone Art**

- Definition: Photographs, drawings, or paintings with fine shading, etc.
- If any magnification is used in the photographs, indicate this by using scale bars within the figures themselves.
- Halftones should have a minimum resolution of 300 dpi.

### **Combination Art**

- Definition: a combination of halftone and line art, e.g., halftones containing line drawing, extensive lettering, color diagrams, etc.
- Combination artwork should have a minimum resolution of 600 dpi.

### **Color Art**

- Color art is free of charge for print and online publication.
- Color illustrations should be submitted as RGB.

### **Figure Lettering**

- To add lettering, it is best to use Helvetica or Arial (sans serif fonts).
- Keep lettering consistently sized throughout your final-sized artwork, usually about 2–3 mm (8–12 pt).
- Variance of type size within an illustration should be minimal, e.g., do not use 8-pt type on an axis and 20-pt type for the axis label.
- Avoid effects such as shading, outline letters, etc.
- Do not include titles or captions within your illustrations.

### **Figure Numbering**

- All figures are to be numbered using Arabic numerals.
- Figures should always be cited in text in consecutive numerical order.
- Figure parts should be denoted by lowercase letters (a, b, c, etc.).
- If an appendix appears in your article and it contains one or more figures, continue the consecutive numbering of the main text. Do not number the appendix figures, "A1, A2, A3, etc." Figures in online appendices [Supplementary Information (SI)] should, however, be numbered separately.

### **Figure Captions**

- Each figure should have a concise caption describing accurately what the figure depicts. Include the captions in the text file of the manuscript, not in the figure file.
- Figure captions begin with the term Fig. in bold type, followed by the figure number, also in bold type.
- No punctuation is to be included after the number, nor is any punctuation to be placed at the end of the caption.
- Identify all elements found in the figure in the figure caption; and use boxes, circles, etc., as coordinate points in graphs.
- Identify previously published material by giving the original source in the form of a reference citation at the end of the figure caption.

### **Figure Placement and Size**

- When preparing your figures, size figures to fit in the column width.
- For large-sized journals the figures should be 84 mm (for double-column text areas), or 174 mm (for single-column text areas) wide and not higher than 234 mm.
- For small-sized journals, the figures should be 119 mm wide and not higher than 195 mm.

### **Permissions**

If you include figures that have already been published elsewhere, you must obtain permission from the copyright owner(s) for both the print and online format. Please be aware that some publishers do not grant electronic rights for free and that Springer will not be able to refund any costs that may have occurred to receive these permissions. In such cases, material from other sources should be used.

### **Accessibility**

In order to give people of all abilities and disabilities access to the content of your figures, please make sure that

- All figures have descriptive captions (blind users could then use a text-to-speech software or a text-to-Braille hardware)
- Patterns are used instead of or in addition to colors for conveying information (color-blind users would then be able to distinguish the visual elements)
- Any figure lettering has a contrast ratio of at least 4.5:1

[Back to top](#)

## **Supplementary Information (SI)**

Springer accepts electronic multimedia files (animations, movies, audio, etc.) and other supplementary files to be published online along with an article or a book chapter. This feature can add dimension to the author's article, as certain information cannot be printed or is more convenient in electronic form.

Before submitting research datasets as Supplementary Information, authors should read the journal's Research data policy. We encourage research data to be archived in data repositories wherever possible.

## **Submission**

- Supply all supplementary material in standard file formats.
- Please include in each file the following information: article title, journal name, author names; affiliation and e-mail address of the corresponding author.
- To accommodate user downloads, please keep in mind that larger-sized files may require very long download times and that some users may experience other problems during downloading.
- High resolution (streamable quality) videos can be submitted up to a maximum of 25GB; low resolution videos should not be larger than 5GB.

## **Audio, Video, and Animations**

- Aspect ratio: 16:9 or 4:3
- Maximum file size: 25 GB for high resolution files; 5 GB for low resolution files
- Minimum video duration: 1 sec
- Supported file formats: avi, wmv, mp4, mov, m2p, mp2, mpg, mpeg, flv, mxf, mts, m4v, 3gp

## **Text and Presentations**

- Submit your material in PDF format; .doc or .ppt files are not suitable for long-term viability.
- A collection of figures may also be combined in a PDF file.

## Spreadsheets

- Spreadsheets should be submitted as .csv or .xlsx files (MS Excel).

## Specialized Formats

- Specialized format such as .pdb (chemical), .wrl (VRML), .nb (Mathematica notebook), and .tex can also be supplied.

## Collecting Multiple Files

- It is possible to collect multiple files in a .zip or .gz file.

## Numbering

- If supplying any supplementary material, the text must make specific mention of the material as a citation, similar to that of figures and tables.
- Refer to the supplementary files as “Online Resource”, e.g., "... as shown in the animation (Online Resource 3)", "... additional data are given in Online Resource 4”.
- Name the files consecutively, e.g. “ESM\_3.mpg”, “ESM\_4.pdf”.

## Captions

- For each supplementary material, please supply a concise caption describing the content of the file.

## Processing of supplementary files

- Supplementary Information (SI) will be published as received from the author without any conversion, editing, or reformatting.

## Accessibility

In order to give people of all abilities and disabilities access to the content of your supplementary files, please make sure that

- The manuscript contains a descriptive caption for each supplementary material
- Video files do not contain anything that flashes more than three times per second (so that users prone to seizures caused by such effects are not put at risk)

Back to top

## Suggestions for Referees

Suggestions for referees may be added upon submission:

- The referees should be internationally acknowledged experts in the field.
- Avoid nominating scientists who might have a conflict of interest (e.g. collaborators, past co-authors, mentors, trainees, etc.).
- Provide the first and last names, institutions, and email addresses (institutional or company e-mail address).
- The list of up to 4 potential referees should be diverse.

Please note: Suggesting referees does not guarantee that these will be chosen as referees by the journal editors. The journal editors may or may not choose the referees whom you have suggested based on their expertise, perceived conflicts, etc.

[Back to top](#)

### **After Acceptance**

Upon acceptance, your article will be exported to Production to undergo typesetting. Once typesetting is complete, you will receive a link asking you to confirm your affiliation, choose the publishing model for your article as well as arrange rights and payment of any associated publication cost.

Once you have completed this, your article will be processed and you will receive the proofs.

### **Article publishing agreement**

Depending on the ownership of the journal and its policies, you will either grant the Publisher an exclusive licence to publish the article or will be asked to transfer copyright of the article to the Publisher.

### **Offprints**

Offprints can be ordered by the corresponding author.

### **Color illustrations**

Publication of color illustrations is free of charge.

### **Proof reading**

The purpose of the proof is to check for typesetting or conversion errors and the completeness and accuracy of the text, tables and figures. Substantial changes in content, e.g., new results, corrected values, title and authorship, are not allowed without the approval of the Editor.

After online publication, further changes can only be made in the form of an Erratum, which will be hyperlinked to the article.



## **Online First**

The article will be published online after receipt of the corrected proofs. This is the official first publication citable with the DOI. After release of the printed version, the paper can also be cited by issue and page numbers.

[Back to top](#)

## **Open Choice**

Open Choice allows you to publish open access in more than 1850 Springer Nature journals, making your research more visible and accessible immediately on publication.

Article processing charges (APCs) vary by journal – [view the full list](#)

Benefits:

- Increased researcher engagement: Open Choice enables access by anyone with an internet connection, immediately on publication.
- Higher visibility and impact: In Springer hybrid journals, OA articles are accessed 4 times more often on average, and cited 1.7 more times on average\*.
- Easy compliance with funder and institutional mandates: Many funders require open access publishing, and some take compliance into account when assessing future grant applications.

It is easy to find funding to support open access – please see our [funding and support](#) pages for more information.

\*) Within the first three years of publication. Springer Nature hybrid journal OA impact analysis, 2018.

[Open Choice](#)

[Funding and Support pages](#)

## **Copyright and license term – CC BY**

Open Choice articles do not require transfer of copyright as the copyright remains with the author. In opting for open access, the author(s) agree to publish the article under the Creative Commons Attribution License.

[Find more about the license agreement](#)

[Back to top](#)

## **Ethical Responsibilities of Authors**

This journal is committed to upholding the integrity of the scientific record. As a member of the Committee on Publication Ethics (COPE) the journal will follow the COPE guidelines on how to deal with potential acts of misconduct.

Authors should refrain from misrepresenting research results which could damage the trust in the journal, the professionalism of scientific authorship, and ultimately the entire scientific endeavour. Maintaining integrity of the research and its presentation is helped by following the rules of good scientific practice, which include\*:

- The manuscript should not be submitted to more than one journal for simultaneous consideration.
- The submitted work should be original and should not have been published elsewhere in any form or language (partially or in full), unless the new work concerns an expansion of previous work. (Please provide transparency on the re-use of material to avoid the concerns about text-recycling ('self-plagiarism')).
- A single study should not be split up into several parts to increase the quantity of submissions and submitted to various journals or to one journal over time (i.e. 'salami-slicing/publishing').
- Concurrent or secondary publication is sometimes justifiable, provided certain conditions are met. Examples include: translations or a manuscript that is intended for a different group of readers.
- Results should be presented clearly, honestly, and without fabrication, falsification or inappropriate data manipulation (including image based manipulation). Authors should adhere to discipline-specific rules for acquiring, selecting and processing data.
- No data, text, or theories by others are presented as if they were the author's own ('plagiarism'). Proper acknowledgements to other works must be given (this includes material that is closely copied (near verbatim), summarized and/or paraphrased), quotation marks (to indicate words taken from another source) are used for verbatim copying of material, and permissions secured for material that is copyrighted.

**Important note: the journal may use software to screen for plagiarism.**

- Authors should make sure they have permissions for the use of software, questionnaires/(web) surveys and scales in their studies (if appropriate).
- Research articles and non-research articles (e.g. Opinion, Review, and Commentary articles) must cite appropriate and relevant literature in support of the claims made. Excessive and inappropriate self-citation or coordinated efforts among several authors to collectively self-cite is strongly discouraged.

- Authors should avoid untrue statements about an entity (who can be an individual person or a company) or descriptions of their behavior or actions that could potentially be seen as personal attacks or allegations about that person.
- Research that may be misapplied to pose a threat to public health or national security should be clearly identified in the manuscript (e.g. dual use of research). Examples include creation of harmful consequences of biological agents or toxins, disruption of immunity of vaccines, unusual hazards in the use of chemicals, weaponization of research/technology (amongst others).
- Authors are strongly advised to ensure the author group, the Corresponding Author, and the order of authors are all correct at submission. Adding and/or deleting authors during the revision stages is generally not permitted, but in some cases may be warranted. Reasons for changes in authorship should be explained in detail. Please note that changes to authorship cannot be made after acceptance of a manuscript.

\*All of the above are guidelines and authors need to make sure to respect third parties rights such as copyright and/or moral rights.

Upon request authors should be prepared to send relevant documentation or data in order to verify the validity of the results presented. This could be in the form of raw data, samples, records, etc. Sensitive information in the form of confidential or proprietary data is excluded.

If there is suspicion of misbehavior or alleged fraud the Journal and/or Publisher will carry out an investigation following COPE guidelines. If, after investigation, there are valid concerns, the author(s) concerned will be contacted under their given e-mail address and given an opportunity to address the issue. Depending on the situation, this may result in the Journal's and/or Publisher's implementation of the following measures, including, but not limited to:

- If the manuscript is still under consideration, it may be rejected and returned to the author.
- If the article has already been published online, depending on the nature and severity of the infraction:
  - - an erratum/correction may be placed with the article
  - - an expression of concern may be placed with the article
  - - or in severe cases retraction of the article may occur.

The reason will be given in the published erratum/correction, expression of concern or retraction note. Please note that retraction means that the article is **maintained on the platform**, watermarked "retracted" and the explanation for the retraction is provided in a note linked to the watermarked article.

- The author's institution may be informed
- A notice of suspected transgression of ethical standards in the peer review system may be included as part of the author's and article's bibliographic record.

### **Fundamental errors**

Authors have an obligation to correct mistakes once they discover a significant error or inaccuracy in their published article. The author(s) is/are requested to contact the journal and explain in what sense the error is impacting the article. A decision on how to correct the literature will depend on the nature of the error. This may be a correction or retraction. The retraction note should provide transparency which parts of the article are impacted by the error.

### **Suggesting / excluding reviewers**

Authors are welcome to suggest suitable reviewers and/or request the exclusion of certain individuals when they submit their manuscripts. When suggesting reviewers, authors should make sure they are totally independent and not connected to the work in any way. It is strongly recommended to suggest a mix of reviewers from different countries and different institutions. When suggesting reviewers, the Corresponding Author must provide an institutional email address for each suggested reviewer, or, if this is not possible to include other means of verifying the identity such as a link to a personal homepage, a link to the publication record or a researcher or author ID in the submission letter. Please note that the Journal may not use the suggestions, but suggestions are appreciated and may help facilitate the peer review process.

Back to top

### **Compliance with Ethical Standards**

To ensure objectivity and transparency in research and to ensure that accepted principles of ethical and professional conduct have been followed, authors should include information regarding sources of funding, potential conflicts of interest (financial or non-financial), informed consent if the research involved human participants, and a statement on welfare of animals if the research involved animals.

Authors should include the following statements (if applicable) in a separate section entitled "Compliance with Ethical Standards" when submitting a paper:

- Disclosure of potential conflicts of interest
- Research involving Human Participants and/or Animals
- Informed consent

Please note that standards could vary slightly per journal dependent on their peer review policies (i.e. single or double blind peer review) as well as per journal subject discipline. Before submitting your article check the instructions following this section carefully.

The corresponding author should be prepared to collect documentation of compliance with ethical standards and send if requested during peer review or after publication.

The Editors reserve the right to reject manuscripts that do not comply with the above-mentioned guidelines. The author will be held responsible for false statements or failure to fulfill the above-mentioned guidelines.

Back to top

### **Disclosure of potential conflicts of interest**

Authors must disclose all relationships or interests that could have direct or potential influence or impart bias on the work. Although an author may not feel there is any conflict, disclosure of relationships and interests provides a more complete and transparent process, leading to an accurate and objective assessment of the work. Awareness of a real or perceived conflicts of interest is a perspective to which the readers are entitled. This is not meant to imply that a financial relationship with an organization that sponsored the research or compensation received for consultancy work is inappropriate. Examples of potential conflicts of interests **that are directly or indirectly related to the research** may include but are not limited to the following:

- Research grants from funding agencies (please give the research funder and the grant number)
- Honoraria for speaking at symposia
- Financial support for attending symposia
- Financial support for educational programs
- Employment or consultation
- Support from a project sponsor
- Position on advisory board or board of directors or other type of management relationships
- Multiple affiliations
- Financial relationships, for example equity ownership or investment interest
- Intellectual property rights (e.g. patents, copyrights and royalties from such rights)
- Holdings of spouse and/or children that may have financial interest in the work

In addition, interests that go beyond financial interests and compensation (non-financial interests) that may be important to readers should be disclosed. These may include but are not limited to personal relationships or competing interests directly or indirectly tied to this research, or professional interests or personal beliefs that may influence your research.

The corresponding author collects the conflict of interest disclosure forms from all authors. In author collaborations where formal agreements for representation allow it, it is sufficient for the corresponding author to sign the disclosure form on behalf of all authors. Examples of forms can be found

here:

The corresponding author will include a summary statement in the text of the manuscript in a separate section before the reference list, that reflects what is recorded in the potential conflict of interest disclosure form(s).

Please make sure to submit all Conflict of Interest disclosure forms together with the manuscript.

See below examples of disclosures:

**Funding:** This study was funded by X (grant number X).

**Conflict of Interest:** Author A has received research grants from Company A. Author B has received a speaker honorarium from Company X and owns stock in Company Y. Author C is a member of committee Z.

If no conflict exists, the authors should state:

Conflict of Interest: The authors declare that they have no conflict of interest.

[Back to top](#)

## **Editing Services**

### **English**

How can you help improve your manuscript for publication?

Presenting your work in a well-structured manuscript and in well-written English gives it its best chance for editors and reviewers to understand it and evaluate it fairly. Many researchers find that getting some independent support helps them present their results in the best possible light. The experts at Springer Nature Author Services can help you with manuscript preparation—including **English language editing, developmental comments, manuscript formatting, figure preparation, translation**, and more.

Get started and save 15%

You can also use our free Grammar Check tool for an evaluation of your work.

Please note that using these tools, or any other service, is not a requirement for publication, nor does it imply or guarantee that editors will accept the article, or even select it for peer review.

## Chinese (中文)

您怎么做才有助于改进您的稿件以便顺利发表？

如果在结构精巧的稿件中用精心组织的英语展示您的作品，就能最大限度地让编辑和审稿人理解并公正评估您的作品。许多研究人员发现，获得一些独立支持有助于他们以尽可能美好的方式展示他们的成果。Springer Nature Author Services

的专家可帮助您准备稿件，具体包括润色英语表述、添加有见地的注释、为稿件排版、设计图表、翻译等。

开始使用即可节省 15% 的费用

您还可以使用我们的免费语法检查工具来评估您的作品。

请注意，使用这些工具或任何其他服务不是发表前必须满足的要求，也不暗示或保证相关文章定会被编辑接受（甚至未必会被选送同行评审）。

## Japanese (日本語)

発表に備えて、論文を改善するにはどうすればよいでしょうか？

内容が適切に組み立てられ、質の高い英語で書かれた論文を投稿すれば、編集者や査読者が論文を理解し、公正に評価するための最善の機会となります。多くの研究者は、個別のサポートを受けることで、研究結果を可能な限り最高の形で発表できると考えています。Springer Nature Author Servicesのエキスパートが、英文の編集、建設的な提言、論文の書式、図の調整、翻訳など、論文の作成をサポートいたします。

今なら15%割引でご利用いただけます

原稿の評価に、無料の文法チェックツールもご利用いただけます。

これらのツールや他のサービスをご利用いただくことは、論文を掲載するための要件ではありません。また、編集者が論文を受理したり、査読に選定したりすることを示唆または保証するものではないことにご注意ください。

## **Korean (한국어)**

게재를 위해 원고를 개선하려면 어떻게 해야 할까요?

여러분의 작품을 체계적인 원고로 발표하는 것은 편집자와 심사자가 여러분의 연구를 이해하고 공정하게 평가할 수 있는 최선의 기회를 제공합니다. 많은 연구자들은 어느 정도 독립적인 지원을 받는 것이 가능한 한 최선의 방법으로 자신의 결과를 발표하는 데 도움이 된다고 합니다. Springer Nature Author Services 전문가들은 **영어 편집, 발전적인 논평, 원고 서식 지정, 그림 준비, 번역** 등과 같은 원고 준비를 도와드릴 수 있습니다.

지금 시작하면 15% 할인됩니다.

또한 당사의 무료 문법 검사도구를 사용하여 여러분의 연구를 평가할 수 있습니다.

이러한 도구 또는 기타 서비스를 사용하는 것은 게재를 위한 필수 요구사항이 아니며, 편집자가 해당 논문을 수락하거나 피어 리뷰에 해당 논문을 선택한다는 것을 암시하거나 보장하지는 않습니다.

[Back to top](#)

## **Reporting Guidelines**

### **Experimental design and statistics**

1. The exact sample size (n) for each experimental group/condition (as a number, not a range).
2. An explanation of how the sample size was chosen for each experiment, including power analysis where appropriate.
3. A description of sample collection that enables the reader to understand whether the samples represent technical or biological replicates, and an explanation of inclusion/exclusion criteria if data samples or subjects were excluded from the analysis (outlier criteria).



4. A description of how samples/animals were allocated to experimental groups and processed, and full details of the randomisation procedure used (if relevant).
5. A statement on whether the investigator was blinded to group assignment and outcome assessment, and how this blinding was achieved and evaluated (if relevant).
6. How many times each experiment shown was replicated (if applicable).
7. Primary and secondary endpoints/measures should be specified.
8. Information on the statistical methods and measures used. Authors should indicate whether tests were one-sided or two-sided and whether adjustments were made for multiple comparisons. The figure legends should indicate whether medians or means are shown, whether error bars are standard deviations (SD), standard error of mean (SEM) or confidence intervals, and should include the number of data points per group used to generate the figure.
9. A justification for the appropriateness of the statistical test used should be provided, e.g., whether data meet the assumptions of the tests (e.g., normal distribution), whether the variation within each group of data has been estimated, and whether the variance observed is similar between the groups that are being statistically compared.
10. Systematic reviews should follow recognised guidelines on conduct and reporting (s. Link below)

## PRISMA

If the study involves human participants, authors should refer to the relevant reporting guidelines from the EQUATOR Network

## EQUATOR Network

### **Availability of Data**

The editors support the principle of raw data sharing where possible and feasible, not only for reasons of full traceability and transparency, but also to advance open science and to allow better exploitation of the data and more complete extraction of the wealth of information potentially existing in those data sets. At present, different publishers and institutional bodies have different requirements, and many are working on the best solution to data availability, including what exactly to deposit and in what format such deposits should be made

Alsheikh-Ali et al., 2011, PLoS ONE 6: e24357; Goodwin, 2015,

Poldrack and Gorgolewski, 2014, Nature Neurosci 17, 1510-1517

NIH Sharing Policies and Related Guidance on NIH-Funded Research Resources  
Announcement of the NIH/Wellcome Trust Open Science Prize, Oct 2015

While we realize the practical difficulties that may be associated with this effort, authors are encouraged to deposit key raw and all processed datasets on which the conclusions of the paper rely in publicly available repositories.

Dryad

FigShare

Neuroscience Information Network

OpenfMRI

Alternatively, the data may be presented in the main paper or supporting files (e.g., as Supplementary Material), in an annotated, machine-readable format whenever possible. Links to deposited datasets or datasets in additional files should be explicitly referenced in a section entitled “Availability of data and materials”. At a minimum, authors should be prepared to provide raw data from published studies, if ethically appropriate, to other investigators upon request, or to the editors during the review process, if needed.

The editor may specifically request that data be made publicly available. If data cannot be deposited in response to such a request, reasons should be provided to the editor and in the “Availability of data and materials” section. Under such circumstances, the editor will determine whether the manuscript can still be considered for publication.

If computer code was used to generate results that are central to the paper’s conclusions, a statement should be included in the “Availability of data and materials” section to indicate whether and how the code can be accessed, including version information as necessary and information on possible restrictions on availability.

Appropriate credit should be given to the originators of the raw data. Third parties using the data for further analysis and publication should cite the source, which could be the publication in *Psychopharmacology* or elsewhere.

## **Resources**

A description of all resources used with enough information to be uniquely identified should be included as a Methods subsection entitled ‘Resources’.

- **Antibodies:** source, characteristics, dilutions and how they were validated for the system under study should be reported.

- Cell lines: source, whether identity has been authenticated and whether cell lines were tested for mycoplasma contamination should be reported.
- Animals: source, species, strain, sex, age, husbandry, inbred and strain characteristics of transgenic and mutant animals should be reported.
- Tools (software, databases and services): standard tool names, provider and version number, if available, should be reported.
- Test compounds: source, purity, chemical structure (if not published previously), salt form, formulation, vehicle, relevant pharmacokinetic and pharmacodynamics properties in the relevant species, e.g., plasma and brain concentration, brain penetration, half-life, stability, affinity, selectivity, target engagement (if not published previously) should be reported. For information already reported elsewhere, the relevant references should be provided. If that information is not available, it remains at the discretion of the editor to decide whether this is acceptable. Test compounds should be tested in appropriate concentration or dose-response.
- Work on the actions of biological extracts of unknown chemical composition, i.e., of a mixture of ingredients that is insufficiently defined and/or of unknown concentrations that might affect the results, is normally not considered for publication. Clinical studies using plant materials with unknown or uncontrolled constituents are discouraged. Exceptions will be made if the plant materials are highly standardized and well characterized (e.g., tobacco; cannabis with specified cannabinoid content). If the pharmacological actions of all the relevant components are taken into account, studies with certain biological materials of uncertain composition may be considered for publication in Psychopharmacology.

Authors are also encouraged to provide Research Resource Identifiers (RRIDs) for antibodies, organisms and tools

#### Resource Identification Portal

While we realize that our new guidelines will cause additional work for authors, we consider these factors to be crucial elements in the reporting of scientific findings in our field and are convinced that the gain of the extra information provided will greatly outweigh this effort and will further increase the impact of the articles published in Psychopharmacology.

#### **Acknowledgements**

The three previous sections (Experimental design and statistics, Availability of Data, and Resources) are taken from an Editorial soon to be published in

Psychopharmacology entitled “Editorial: Reporting Guidelines for Psychopharmacology” and are modified from guidelines recently published by the BioMed Central Reproducibility Working Group

available here;

see also Kenall et al., 2015, *Genome Biology* 16: 141).

[Back to top](#)

### **Links and downloads**

[Author Information - Conflict of Interest Statement \(Download pdf, 122 kB\)](#)

[Back to top](#)

### **Open access publishing**

To find out more about publishing your work Open Access in *Psychopharmacology*, including information on fees, funding and licenses, visit our [Open access publishing page](#).