



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO

---

---

FACULTAD DE CIENCIAS

EVALUACIÓN DE LA ADMINISTRACIÓN  
NEONATAL DE PROBENECID Y KINURENINA  
COMO POSIBLE MODELO DE PSICOSIS

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

BIOLOGA

P R E S E N T A:

CAROLINA YOLOTZIN REYES SOTO



DIRECTOR DE TESIS:  
Dr. ABEL SANTAMARÍA DEL ÁNGEL

Ciudad Universitaria, CDMX 2017



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## Hoja de Datos del Jurado

### 1. Datos del alumno

Reyes

Soto

Carolina Yolotzin

44 37 08 61

Universidad Nacional Autónoma de  
México

Facultad de Ciencias

Biología

308289853

### 2. Datos del tutor

Dr

Abel

Santamaría

Del Ángel

### 3. Datos del sinodal 1

Dra

Sonia

Galván

Arzate

### 4. Datos del sinodal 2

M en C

Ana Laura

Colín

González

### 5. Datos del sinodal 3

M en C

Gabriela

Aguilera

Portillo

### 6. Datos del sinodal 4

M en C

Francisca

Fernandéz

Valverde

### 7. Datos del trabajo escrito.

Evaluación de la administración neonatal de Probenecid y Kinurenina como posible  
modelo de psicosis

68 p.

2017

## *Dedicatoria*

La familia es una de las joyas más preciadas que uno puede tener, sin ella no se puede conseguir la fuerza necesaria para lograr las metas. Este trabajo es un esfuerzo grande que involucra a muchas personas cercanas a mí, en especial ésta tesis se la dedico a mis padres, porque creyeron en mi y me sacaron adelante, dándome ejemplos dignos de superación y entrega, porque en gran parte gracias a ustedes, hoy puedo ver alcanzada mi meta, ya que siempre estuvieron impulsándome en los momentos más difíciles de la carrera y dándome palabras de aliento, porque el orgullo que sienten por mí, fue lo que me hizo ir hasta el final. Va por ustedes, por lo que valen, porque admiro su fortaleza para superar las adversidades, la perseverancia, tenacidad, cariño y dedicación que me brindaron a lo largo de todos estos años, *¡gracias por estar siempre a mi lado y tener fe en mí!!*  
*¡Los amo, son mi par de angelitos guardianes terrenales!!.*

A mi hija Esmeralda, la que una vez más trajo sentido a mi vida, el motor que me impulso a salir adelante, progresar y culminar con éxito ésta tesis, gracias por ceder parte de tu tiempo, ser siempre comprensiva, paciente y creer en mi. Tu afecto y cariño son los detonantes de mi felicidad, esfuerzo y de mis ganas de buscar lo mejor para ti. A tu corta edad me has enseñado y me sigues enseñando muchas cosas, te agradezco por ayudarme a encontrar el lado dulce y no amargo de la vida, fuiste mi motivación más grande para concluir con éxito este proyecto, *¡gracias bebé!!.*

A mis primos y tías, gracias por su confianza, cariño y apoyo incondicional, los amo a todos y cada uno de ustedes.

A mi tía Lucy y abuelita Ofe, quienes fueron y serán siempre pilares fundamentales y parte esencial de mi formación, educación y valores como persona.

Y por último pero no menos importante a la memoria de mi abuelita Santa, quien me enseñó el significado del amor, dedicación y entrega para la familia, y desde el cielo me guió para terminar mi formación académica.

## *Agradecimientos*

Antes que nada quiero empezar agradeciendo a mis padres, por darme una infancia llena de felicidad, por la formación y educación que con mucho esfuerzo e ímpetu lograron enseñarme.

Gracias a mi mami Clau, que siempre ha estado en el momento preciso para extenderme su mano, por estar apoyándome en cada momento para guiarme a través del camino de la vida, te agradezco todo el amor incondicional que me has dado y el cuál me ha ayudado a convertirme en la persona que soy, por ser mi eterna cómplice en tantas travesuras y por consentirme hasta hoy como enana.

A mi papi, quien me enseñó a valorar los resultados de un gran esfuerzo, a conocer el precio de tener una gota de sudor en la frente y darme palabras de aliento, ocupas un lugar muy especial en mi corazón.

A Esmeralda por transformar mi vida tan radicalmente, por devolverme la felicidad y dibujar todos los días una gran sonrisa en mi rostro, por alimentar de amor mi corazón, y por deleitar mis oídos escuchando esa vocecita diciéndome mamá, porque eres la razón para luchar y seguir adelante, ¡mi vida es hermosa por que existes tú!!!

Al Dr. Abel Santamaría por compartir sus conocimientos, cederme tiempo y abrirme las puertas de su grupo de investigación, por tener la paciencia ante mis dudas y escuchar atentamente los problemas que a lo largo de ésta tesis surgieron.

A Anita por su ayuda, por compartirme conocimiento y dedicarme tiempo para culminar éste trabajo con éxito.

A mis sinodales la Dra. Francisca y Gaby, por brindarme su tiempo y consejos para seguir progresando académicamente. A la Dra. Sonia y la Dra. Esperanza por permitir llevar a cabo experimentos en sus laboratorios y darme siempre apoyo incondicional .

# Contenido

|   |    |
|---|----|
| Índice de figuras                                   | I  |
| Abreviaturas  | II |
| <b>I. INTRODUCCIÓN</b>                              |    |
| 1.1 Psicosis y esquizofrenia                        | 1  |
| 1.2 La esquizofrenia                                | 1  |
| 1.3 Hipótesis de la esquizofrenia                   | 3  |
| 1.3.1 Hipótesis de transmisión dopaminérgica        | 4  |
| 1.3.2 Hipótesis glutamatérgica                      | 5  |
| 1.4 Modelos animales                                | 6  |
| 1.5 Receptores NMDA (rNMDA)                         | 11 |
| 1.5.1 Subunidades de rNMDA                          | 12 |
| 1.6 La vía de la Kinurenina (VK)                    | 14 |
| 1.7 Actividad biológica del ácido kinurénico (KYNA) | 16 |
| 1.8 Probenecid (PROB) Y KYNA                        | 18 |
| <b>II. JUSTIFICACIÓN</b>                            | 24 |
| <b>III. HIPÓTESIS</b>                               | 25 |
| <b>IV. OBJETIVOS</b>                                | 25 |
| 4.1 Objetivo general                                | 25 |
| 4.2 Objetivo particulares                           | 25 |
| <b>V. METODOLOGÍA</b>                               | 26 |
| 5.1 Animales en experimentación                     | 26 |
| 5.2 Fármacos utilizados y dosis administradas       | 26 |
| 5.3 Pruebas sociales                                | 27 |
| 5.4 Actividad locomotora y estereotipias            | 30 |
| 5.5 Obtención de muestras para HPLC                 | 30 |
| 5.6 Análisis estadístico                            | 32 |
| <b>VI. RESULTADOS</b>                               | 33 |

|  |    |
|--|----|
| 6.1 Los tratamientos KYN y KYN+PROB disminuyeron la interacción social y la preferencia por la novedad social en ratas | 33 |
| 6.2 Los tratamientos de KYN y KYN+PROB aumentaron la actividad locomotora en ratas                                     | 34 |
| 6.3 Los tratamientos de KYN y KYN+PROB incrementaron estereotipias en ratas  | 35 |
| 6.4 Los tratamientos KYN, PROB y KYN + PROB aumentaron los niveles de DA en el estriado y la corteza prefrontal        | 36 |
| 6.5 La administración de KYN postnatal a ratas aumentó la relación Glu/GABA en el hipocampo                            | 38 |
| <b>VII. DISCUSIÓN</b>  | 40 |
| Conducta social  | 40 |
| Actividad locomotora   | 43 |
| Incremento de estereotipias  | 44 |
| Relación DA y HVA  | 46 |
| Relación de glutamato/GABA   | 47 |
| <b>VIII. CONCLUSIÓN</b>  | 50 |
| <b>IX. BIBLIOGRAFÍA</b>  | 51 |

## Índice de figuras

|  |              |
|--|--------------|
| - <b>Figura 1.</b> Estequiometría del receptor NMDA.   | <b>13</b>    |
| - <b>Figura 2.</b> Vía de la Kinurenina  | <b>15</b>    |
| - <b>Figura 3.</b> Diagrama que representa los objetivos farmacológicos de PROB en el SNC.   | <b>21</b>    |
| - <b>Figura 4.</b> Diagrama que representa el régimen de administración de los 4 tratamientos.   | <b>27</b>    |
| - <b>Figura 5.</b> Esquema que representa las sesiones I y II, para evaluar la conducta social con el dispositivo de Crawley.  | <b>29</b>    |
| - <b>Figura 5.1</b> Diagrama que representa el régimen de administración de los 4 tratamientos y la cronología en que se llevaron a cabo pruebas conductuales, locomotoras y perfiles neuroquímicos. | <b>32</b>    |
| - <b>Figura 6.1</b> Cambios en el comportamiento social durante la sesión I y II.  | <b>34</b>    |
| - <b>Figura 6.2.</b> Incremento de la actividad locomotora.  | <b>35</b>    |
| - <b>Figura 6.3.</b> Cambios en las estereotipias de ratas adultas.  | <b>36</b>    |
| - <b>Figura 6.4.</b> Perfiles bioquímicos de DA y la relación DA / HVA en tejidos cerebrales de ratas adultas.   | <b>37</b>    |
| - <b>Figura 6.5.</b> Cambios en la relación Glu/GABA en tejidos cerebrales de ratas adultas.   | <b>38-39</b> |



## **Abreviaturas**

**3-HAA:** Ácido antranílico

**3-HK:** 3-hidroxykinurenina

**5-HT:** Serotonina

**3-NP:** Ácido 3-nitropropiónico

**AMPA:** Receptores  $\alpha$ -amino-3-hidroxi-5metil-isoxazol-4-propionato

**ARNm:** Ácido ribonucleico mensajero

**ATV:** Área tegmental ventral

**BHE:** Barrera hematoencefálica

**CPF:** Corteza prefrontal

**DA:** Dopamina

**DOPAC:** Ácido 3,4 dihidroxifenilacético

**FKF:** Formamidasa formil kinurenina

**GAD:** Glutamato descarboxilasa

**GB:** Ganglios basales

**GD:** Día gestacional

**GLYT:** Transportador de glicina

**HVA:** Ácido homovanílico

**IDO-1 y 2:** Indoleamina 2,3-dioxigenasa 1 y 2

**IFN $\gamma$ :** Interferón gamma

**IPP:** Inhibición prepulso

**KAT 1 y 2:** Kinurenina aminotransferasas 1 y 2

**KMO:** Kinurenina monooxigenasa

**KYN:** Kinurenina

**KYNA:** Ácido Kinurénico

**LCR:** Líquido cefalorraquídeo

**L-DOPA:** Levodopa descarboxilasa

**MK-801:** Dizolcipina

**NE:** Neoestriado

**NEMs:** Neuronas espinosas medianas

**NFK:** N-formilkinurenina  
**OAT 1 y 3:** Transportador de aniones orgánicos 1 y 3.  
**PCP:** Fenciclidina  
**PIC:** Ácido picolínico  
**PND:** Día postnatal  
**PROB:** Probenecid  
**QUIN:** Ácido quinolínico  
**rNMDA:** Receptores N-metil-D-aspartato  
 **$\alpha$ 7nACh:** Receptores nicotínicos de acetil colina  
**SNC:** Sistema Nervioso Central  
**TAN:** Transportador de aminoácidos neutros  
**TDO:** Triptófano 2,3-dioxigenasa  
**TRP:** Triptófano  
**VK:** Vía de la kinurenina

---

## ***I. INTRODUCCIÓN***

---

### **1.1 Psicosis y esquizofrenia**

La psicosis es un trastorno mental, caracterizado por una pérdida de contacto con la realidad. El paciente psicótico no puede pensar, percibir o juzgar con claridad, también sufre un gran deterioro de la personalidad y en sus relaciones afectivas (Freud, 1924a; Freud, 1924b). Los síntomas que se manifiestan principalmente son los delirios y las alucinaciones. En los delirios las personas tienen creencias de situaciones falsas que sostienen firmemente y que consideran ciertas, tales como sentirse engañado, perseguido o maltratado. Mientras que en las alucinaciones el individuo escucha, ve o siente cosas ficticias y que las vive como si fueran reales (Andreasen, 1995).

Las causas que desencadenan los trastornos psicóticos son de diversa naturaleza, pueden deberse a una lesión cerebral, tumores, infecciones en el cerebro, una enfermedad autoinmune o ser de origen social. Las psicosis se pueden clasificar en varios tipos atendiendo a los síntomas que presenta el paciente y al origen del problema, una de las psicosis más conocidas es la esquizofrenia (Tizon, 2013).

### **1.2 La esquizofrenia**

La esquizofrenia es un trastorno neuropsiquiátrico crónico que afecta aproximadamente al 1% de la población. Está caracterizada por un mal funcionamiento de los procesos mentales y por alteraciones del comportamiento (Msghina & Liberg, 2009). Sus síntomas se agrupan en tres categorías: positivos (como alucinaciones auditivas y visuales, delirios), negativos (falta de motivación, aislamiento social, apatía, anhedonia, abulia, empobrecimiento y disminución del pensamiento y lenguaje) y cognitivos (problemas de atención y aprendizaje en la realización de funciones ejecutivas y de memoria a corto plazo) (Andreasen, 1995).

Los pacientes pueden presentar combinaciones de síntomas muy heterogéneos, por lo que el diagnóstico y el tratamiento son complicados

El inicio de la enfermedad se manifiesta durante la adolescencia o al principio de la edad adulta (16-25 años). Los hombres muestran una mayor incidencia de síntomas psicóticos y las mujeres un inicio más tardío (40-60 años) (Andreasen, 2000).

Actualmente no existe ningún tratamiento capaz de curar la enfermedad, tan sólo consigue aliviar la sintomatología con una eficiencia relativa. Aunque históricamente los medicamentos más utilizados son los antipsicóticos clásicos encargados de tratar y prevenir las alucinaciones y delirios; recientemente se demostró que los síntomas cognitivos y negativos son los más incapacitantes, por lo que se ha desarrollado el uso de antipsicóticos atípicos (Lewis & Liberman, 2000; Van Os *et al.*, 2010).

La esquizofrenia es un trastorno del neurodesarrollo multifactorial influenciado por factores genéticos y ambientales (Lewis & Liberman, 2000). Al día de hoy existe una gran cantidad de genes candidatos como causantes de esta enfermedad; sin embargo, sigue sin localizarse uno en específico que haya mostrado su relación directa (Van Os *et al.*, 2010).

Dado que la herencia no puede explicar por sí sola este padecimiento, se ha observado una posible implicación de factores ambientales perjudiciales durante el periodo prenatal y/o perinatal como la exposición a infecciones, desnutrición, problemas autoinmunes o complicaciones en el nacimiento que provocan alteraciones sutiles durante el desarrollo embrionario y aumentan la susceptibilidad a desarrollar esquizofrenia (Andreasen, 1995; Andreasen, 2000).

Con base a lo anterior se ha propuesto que los factores genéticos y/o problemas durante el desarrollo embrionario (ya que durante ésta etapa estructuras importantes del cerebro acaban su maduración, como en el caso del cuerpo calloso o la corteza prefrontal (CPF) las cuáles alcanzan su nivel máximo de mielinización; por lo que fallos en estos procesos podrían provocar vulnerabilidad y la falta de

capacidad de adaptación) inducen un deterioro de la plasticidad neuronal, por lo que periodos de grandes cambios, como es el caso de la transición de adolescencia a la vida adulta, podría dejar en evidencia esa falta de recuperación funcional del cerebro para adaptarse a nuevas condiciones y desencadenar los primeros síntomas de la enfermedad (Lewis & Liberman, 2000; Khaitovich *et al.*, 2008).

El estudio de la esquizofrenia requiere un acercamiento multidisciplinario que se centra en 3 enfoques principales: análisis de neuroimagen y post-mortem e investigación en modelos animales. Los cuales sugieren que la esquizofrenia está relacionada con al menos tres mecanismos fisiopatológicos: la desregulación dopaminérgica, la alteración de la neurotransmisión glutamatérgica y la presencia de un estado proinflamatorio en el cerebro.

Tanto en estudios de neuroimagen como en post-mortem se ha demostrado que los pacientes presentan una disminución en el volumen intracraneal, en la materia blanca (por reducción de oligodendrocitos), en las áreas frontales y temporales; y también un aumento en el tamaño del sistema ventricular, acompañado por reducciones en el volumen de la materia gris en diferentes regiones como la corteza frontal, corteza medial, amígdala, hipocampo y tálamo (Gogtay *et al.*, 2008; Canuet *et al.*, 2010). Esta reducción en el volumen de la materia gris se debe principalmente a una reducción en el neuropilo (red compleja y ordenada de prolongaciones dendríticas, axónicas y gliales) más que a una disminución en el número de neuronas (Khaitovich *et al.*, 2008). También, se ha reportado una disminución en el flujo sanguíneo de la corteza frontal, del tálamo y del cerebelo; así como una disminución de la densidad de los transportadores de serotonina (5-HT) en la corteza prefrontal y un aumento en sus receptores 5-HT (Khaitovich *et al.*, 2008).

### **1.3 Hipótesis de la esquizofrenia**

Profundizar en el conocimiento de la neurobiología de la esquizofrenia es un elemento clave para perfeccionar la capacidad de diagnóstico e identificar estrategias terapéuticas y con ello, mejorar el pronóstico de los pacientes. Gran

parte de la investigación actual se centra en las fases iniciales de la enfermedad con el objetivo de encontrar biomarcadores que nos permitan identificar a aquellos sujetos en riesgo que se pudieran beneficiar de intervenciones tempranas que previniesen o mitigasen futuras complicaciones. A continuación se mencionan las teorías con más peso en la concepción actual de esta patología.

### **1.3.1 Hipótesis de transmisión dopaminérgica**

La hipótesis dopaminérgica de la esquizofrenia se origina de la observación de que un aumento en la liberación de dopamina (DA), producido por el consumo de cocaína y anfetaminas, induce síntomas psicóticos en sujetos sanos (Angrist & Gershon, 1970; Breier *et al.*, 1997; Abi-Dargham *et al.*, 1998; Laruelle, 1998; Morland, 2002). En estudios con animales, la administración de anfetamina y psicoestimulantes provocan alteraciones de comportamiento tales como hiperlocomoción y estereotipias (Kokkinidis & Anisman, 1980; Sharp *et al.*, 1987). La administración de estimulantes dopaminérgicos induce comportamientos repetidos (estereotipados), como locomoción, olfato y masticación, que pueden estar relacionados con los síntomas positivos de la psicosis, así como con la inhibición prepulso (IPP), un marcador de deterioro de la entrada sensorial que también se ha visto alterado en pacientes esquizofrénicos (Segal & Mandell, 1974). También se ha observado en modelos animales que el comportamiento estereotipado inducido por anfetaminas pueden ser atenuado por el tratamiento con antipsicóticos mediante el bloqueo de los receptores dopaminérgicos D2 (Pijnenburg, 1975).

Además, pacientes con esquizofrenia presentan hiperdopaminergia en la región mesolímbica (la cuál puede puede mantenerse mediante mecanismos pre o post-sinápticos y el aumento de los niveles de levodopa descarboxilasa (L-DOPA)) relacionada con la presencia de los síntomas positivos de la enfermedad (Seeman, 1987; Carlsson, 1995; Laruelle *et al.*, 2003) y una hipodopaminergia en la corteza prefrontal asociada con los síntomas negativos (Dworkin & Opler, 1992) y el daño cognitivo (Howes & Kapur, 2009).

### 1.3.2 Hipótesis glutamatérgica

La señalización de glutamato juega un papel importante en la plasticidad sináptica y el procesamiento cortical cerebral. Estudios genéticos han implicado anomalías en este sistema como posibles causas de la patogénesis en la esquizofrenia (Schwartz *et al.*, 2012). Aunado a ello un estudio de tomografía de emisión de fotón único, informó una reducción en la unión del receptor N-metil-D-aspartato (rNMDA) en pacientes no medicados (Pilowsky *et al.*, 2006). Del mismo modo se ha visto en estudios post-mortem, que el ARN mensajero (ARNm) de la subunidad NR1 de los rNMDA se encuentran reducidos (Law & Deakin, 2001). También se ha sugerido que la excitotoxicidad del glutamato produce la disminución de la materia gris, la cual ha sido observada en esta patología (Hertzmann *et al.*, 1990; Olney & Farber, 1995; Okugawa *et al.*, 2007).

De igual manera se ha informado que diversos antagonistas de los rNMDA como la ketamina, fenciclidina (PCP) y dizocilpina (MK-801) mimetizan numerosos síntomas de la esquizofrenia en individuos adultos sanos y recrudecen los síntomas en individuos con este trastorno tanto en lo que se refiere a los síntomas positivos, como a los negativos y cognitivos (Javitt & Zukin, 1991; Krystal *et al.*, 1994; Lahti *et al.*, 1995a; 1995b; Rung *et al.*, 2005; Zou *et al.*, 2008)

El uso de ketamina en pacientes exacerba los síntomas positivos y negativos preexistentes y se relaciona con el deterioro cognitivo, específicamente mediante la inducción de un mayor déficit en la memoria (Lahti *et al.*, 1995a; Lahti *et al.*, 1995b; Malhotra *et al.*, 1997; Morgan *et al.*, 2004; Krystal *et al.*, 2005; Deakin *et al.*, 2008; Stone *et al.*, 2012).

Se ha observado que la potenciación a largo plazo se ve interrumpida por antagonistas de rNMDA (Maren, 1999; Grunwald *et al.*, 1999). Del mismo modo, una disminución de la liberación de glutamato ha sido reportado en las corteza frontal y temporal de los pacientes con esquizofrenia (Sherman *et al.*, 1991).

Como en el caso de los agonistas del receptor DA, la administración de la PCP puede interrumpir la IPP y la habituación de sobresalto en ratas (Geyer *et al.*, 1984;

Swerdlow & Geyer, 1998;). Además, la PCP y medicamentos parecidos disminuyen la memoria, la cuál se ha visto alterada en el rendimiento de la rata en el laberinto acuático de Morris, la tarea de 2 niveles de alternancia y la tarea de discriminación de brillo (Snell & Johnson, 1986) así como modificaciones en las interacciones sociales (Steinpreis *et al.*, 1994; Sams-Dodd, 1995a). Por otra parte, la PCP produce efectos similares a las anfetaminas en los roedores, incluyendo un aumento de la actividad locomotora, movimientos estereotipados y ataxia (Snell & Johnson, 1986; Javitt & Zukin, 1991), los cuales son atenuados por antipsicóticos.

La administración sistémica de MK-801 en roedores, genera alteraciones conductuales como aumento de la actividad locomotora horizontal, incremento de estereotipias (movimientos repetitivos de balanceo de cabeza y de la parte superior del torso) y ataxia (un efecto caracterizado por la vacilación de los cuartos traseros, postura corporal plana y pérdida de equilibrio) (Clineschmidt *et al.*, 1982; Lehmann-Masten & Geyer 1991; Bubser *et al.*, 1992; Löscher & Hönack, 1992).

Cabe mencionar que esta hipótesis ni anula ni está en contraposición con la hiperfunción dopaminérgica. De hecho se sabe experimentalmente que una hipofunción en la actividad de rNMDA podría ser responsable de una situación hiperdopaminérgica, ya que el flujo de DA aumenta tras el tratamiento con agentes antagonistas de rNMDA (Lin *et al.*, 2012).

## **1.4 Modelos animales**

El desarrollo de modelos animales fiables y predictivos de trastornos psiquiátricos complejos, como la esquizofrenia, es esencial para aumentar la comprensión de las bases neurobiológicas con el objetivo de elaborar nuevos fármacos con una mejor eficacia terapéutica (Lipska & Weinberg, 2000). Gran parte de los modelos de roedores tienen modificaciones del comportamiento que se asemejan a los síntomas "positivos" de la esquizofrenia como la hiperactividad, lo que refleja probablemente una función alterada en la transmisión dopaminérgica mesolímbica;



sin embargo pocos son los que muestran alteraciones sociales, de aprendizaje y de memoria (síntomas negativos y cognitivos) (Young *et al.*, 2010).

El tratamiento de los síntomas negativos y cognitivos de la esquizofrenia es una necesidad clínica insatisfecha vital que podría tener un impacto importante en la recuperación del paciente y su reintegración en la sociedad. Sin embargo un problema desconcertante en la mayoría de los modelos, es la forma de evaluar los trastornos psiquiátricos (pensamientos, aprendizaje verbal y memoria), ya que son únicamente rasgos humanos. Por lo tanto, el desarrollo de modelos más completos que repliquen de forma más adecuada estos síntomas ayudaran a comprender sus factores causales (Young *et al.*, 2010).

Los modelos animales que se utilizan en la investigación de la esquizofrenia se clasifican en 4 categorías.

1) Modelos de desarrollo neurológico: La hipótesis del neurodesarrollo de la esquizofrenia postula que un evento temprano como complicaciones obstétricas, deterioro de la neurogénesis e infecciones virales interrumpen la maduración normal del cerebro y producen síntomas clínicos en la pubertad o en la adultez joven (Rapoport *et al.*, 2005). Insultos experimentales en el periodo fetal o neonatal generan cambios en la conducta, neuroquímicos y morfológicos que se asemejan a algunos, pero no todos, los aspectos clínicos de la esquizofrenia (Boksa, 2004). Algunas anomalías observadas en el comportamiento consisten en la alteración de la IPP, el aumento de la sensibilidad a los efectos locomotores estimulantes de los agonistas dopaminérgicos, el aislamiento social y el déficit cognitivo (Levin & Christopher, 2006). Dentro de los modelos del neurodesarrollo se subdividen en 2 subcategorías (lesión y activación inmune prenatal).

a) *Modelos de lesión*: Se han desarrollado varios modelos de lesión neonatal para probar la teoría del neurodesarrollo, los cuales tratan de reflejar la presencia de dilatación ventricular y cambios del hipocampo observados en el primer episodio de pacientes con esquizofrenia (Lipska & Weinberg, 2000; Lipska, 2004). La lesión neonatal del hipocampo ventral con ácido iboténico, una excitotoxina, provoca alteraciones de comportamiento en la pubertad, compromete la integridad

arquitectónica del desarrollo de CPF y genera un aumento en la sensibilidad a los agonistas de dopamina, como apomorfina y antagonistas de rNMDA, tales como MK-801 o PCP, así como déficits en IPP y recompensa (Lipska *et al.*, 2003; Lipska, 2004).

*b) Modelos de activación inmune prenatal:* Estudios epidemiológicos confirmaron que el virus de la influenza, el citomegalovirus, el virus del herpes simple 1, y el virus de la rubéola son agentes de predisposición para la esquizofrenia (Yolken *et al.*, 2000; Munk & Ewald, 2001). También se reportó una asociación entre las infecciones del Sistema Nervioso Central (SNC) en la infancia y el desarrollo de ésta patología en la edad adulta (Rantakallio *et al.*, 1997; Suvisaari *et al.*, 2003). Estudios en animales han indicado que la exposición temprana a infecciones virales puede producir a alteraciones relevantes para este trastorno (Shi *et al.*, 2003). Investigaciones realizadas por Zuckerman y sus colegas demostraron que las ratas preñadas inyectadas en el día gestacional 15-17 con ácido poliinosinico-policitidilico (un inmunoestimulante, utilizado para simular infecciones virales) dan a luz a crías que, aunque aparentemente se muestran normales en el nacimiento y hasta la adolescencia, desarrollan varias anomalías en el comportamiento al entrar a la adultez (Zuckerman *et al.*, 2003). Estos animales presentan déficit de IPP, una sensibilidad incrementada a los efectos estimulantes locomotores de la anfetamina y MK-801, y un déficit cognitivo específico caracterizado por la inhibición latente interrumpida (Zuckerman & Weiner, 2005). Además, muchos de estos comportamientos se revierten por el tratamiento con fármacos antipsicóticos, tales como haloperidol o clozapina, lo que es consistente con reportes clínicos de pacientes con esquizofrenia (Zuckerman *et al.*, 2003; Zuckerman & Weiner, 2005). La evidencia recolectada sugiere que procesos de infecciosos durante el periodo prenatal promueve la alteración de los niveles de citocinas pro-inflamatorias y neurotrofinas en el desarrollo del SNC aumentando el riesgo de desarrollar este trastorno, mediante la interrupción de la supervivencia neuronal y la conectividad (Nawa *et al.*, 2000; Sugai *et al.*, 2004).

2) Modelos farmacológicos: Los datos acumulados durante años de práctica clínica en el tratamiento de la esquizofrenia, junto con experimentos más recientes, llevaron al convencimiento de que la hipótesis de la hiperfunción dopaminérgica (mesolímbica) constituía sólo una parte de la etiología de la enfermedad. Los primeros modelos animales se desarrollaron mediante la manipulación farmacológica para tratar de imitar esta característica, como es el caso de la administración de anfetamina y cocaína que inducen cambios de tipo psicótico, pero no replican la demás sintomatología (Carlsson, 1988). Por el contrario, se descubrió que la administración de antagonistas de rNMDA como PCP, MK-801 o la ketamina, mimetiza síntomas negativos y cognitivos de la esquizofrenia, lo que apoya a la idea de que la disfunción del sistema glutamatérgico es un cambio fisiopatológico que se encuentra presente en esta enfermedad (Olney & Farber, 1995; Tsai & Coyle, 2002). La administración aguda con PCP causa hiperlocomoción, aislamiento social, y un deterioro tanto en PPI y la cognición, así como déficits en el lóbulo frontal y temporal. Estos datos, primariamente observados en animales, han sido repetidamente comprobados en grupos de humanos clínicamente controlados o en individuos consumidores de PCP como droga de abuso, los cuales presentan sintomatología indistinguibles de individuos esquizofrénicos (Olney & Farber, 1995; Tsai & Coyle, 2002).

3) Modelos genéticos: Como se mencionó anteriormente, se sabe que la esquizofrenia es un trastorno multifactorial y multigénico, relacionado con alteraciones génicas en los sistemas de neurotransmisión. Se ha propuesto que con la manipulación de estos genes (ya sea por delección o silenciamiento) se pueden obtener modelos animales que simulan esta patología (Mackay, 2001; Glazier *et al.*, 2002). Dentro de los genes candidatos más citados se pueden mencionar los siguientes: proteína Nogo-A, DISC 1, NRG1 y reelin.

Por ejemplo, se utilizaron ratones «*knockout*» deficientes de la proteína Nogo-A expresada en oligodendrocitos (proteína relacionada con esquizofrenia por su actividad en la mielinización y en el remodelamiento neuronal). La deficiencia de esta proteína provocó un fenotipo conductual alterado, ya que los animales no

respondían correctamente en la prueba de IPP, presentaban déficits de memoria y tenían una interacción social disminuida. Además, se observaron cambios en la expresión del receptor D2, semejantes a las que se observan en pacientes con esta enfermedad (Willi *et al.*, 2010).

Otros estudios han intentado vincular las proteínas y genes candidatos a anomalías de comportamiento y patología relevantes para este trastorno. Los estudios sobre el gen de susceptibilidad alterado en la esquizofrenia (DISC1) indican su implicación en la migración neuronal y el desarrollo cortical. Específicamente, la sobreexpresión de una mutante de DISC1 humano en el día embrionario 14,5 dio lugar a la migración neuronal retardada que se estudio en el día postnatal 2 y una reducción significativa en las neuronas piramidales orientadas verticalmente en el día postnatal 14 (Ozeki *et al.*, 2003; Kamiya *et al.*, 2005). Aunque estos estudios se limitaron al ámbito neuroanatómico en lugar de correlaciones de comportamiento, los resultados sugieren que la neuropatología cortical en la esquizofrenia podría estar vinculado a la DISC1 mutante.

Pappas en el 2003 utilizó ratones mutantes para el gen reelin (glicoproteína llamada relina implicada en el posicionamiento y migración de neuronas de hipocampo y corteza durante el neurodesarrollo, la cual es secretada por neuronas GABAérgicas), en reportes clínicos se ha visto que ésta mutación provoca un decremento de aproximadamente el 50% en la expresión del RNAm de la proteína en corteza e hipocampo, además de una baja expresión de la enzima glutamato descarboxilasa (GAD67) (que también está disminuida en personas con este trastorno y es utilizada como marcador neuronal). En estos animales se observó un incremento significativo en la locomoción y un deterioro cognitivo (Pappas *et al.*, 2003).

También se ha investigado al gen de la neuregulina 1 (NRG1, en el cromosoma 8), la cual regula la expresión de subunidades del rNMDA (Stefansson *et al.*, 2002; Petryshen *et al.*, 2005). Ratones mutantes heterocigotos para esta proteína muestran una mala adaptación al medio, alteraciones en la IPP e hiperlocomoción,

sugiriendo que afectaciones en estos receptores están relacionados con este trastorno (Stefansson *et al.*, 2002).

El uso de modelos animales para estudiar la esquizofrenia es muy reciente y aún estamos lejos de contar con el modelo ideal. Sin embargo, los modelos con los que se cuenta nos permiten evaluar algunos de los síntomas y características en la enfermedad, condición que nos permitirá estudiar la etiología, los elementos moleculares y genómicos que podrían estar alterados en los pacientes y buscar nuevas terapias o mejorar las ya existentes.

## 1.5 Receptores NMDA (rNMDA)

Los rNMDA son proteínas de membrana muy complejas tanto desde el punto de vista estructural como funcional. Los rNMDA son estructuras oligoméricas que forman un canal catiónico operado por ligando, el cual permite la permeación de  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  y  $\text{Ca}^{2+}$ . Los rNMDA presentan una serie de propiedades que los hacen únicos entre los canales iónicos dependientes de ligando, como son su bloqueo por  $\text{Mg}^{2+}$  dependiente de voltaje y su alta permeabilidad a  $\text{Ca}^{2+}$  (Mori & Mishina, 1995; Dingledine *et al.*, 1999). La complejidad funcional de los rNMDA, se manifiesta por el gran número de sitios de reconocimiento y unión a ligandos que poseen (Westergren *et al.*, 1994).

Además del sitio de unión a glutamato, estos receptores contienen un sitio de unión a substratos endógenos como glicina y D-serina, aunque ninguno de los dos tiene la capacidad de abrir el canal en ausencia de glutamato. El sitio de unión a glicina regula, en presencia del co-agonista principal, el tiempo de apertura del canal así como la velocidad de desensibilización del mismo. A pesar de que la glicina es necesaria, junto con el glutamato, para la activación de los rNMDA, durante mucho tiempo ha existido una polémica importante sobre el papel fisiológico de la misma en la sinapsis glutamatérgica. Esto se debe al hecho de que la afinidad del sitio de glicina es tan alta que podría estar saturando tónicamente a las concentraciones de glicina habituales en la hendidura sináptica ( $10 \mu\text{M}$ ) (Westergren *et al.*, 1994). Sin

embargo, cálculos teóricos basados en las propiedades electrofisiológicas de los transportadores de glicina (GLYT1) indican que estas proteínas pueden reducir la concentración de glicina local de los rNMDA hasta una concentración de 1  $\mu\text{M}$  o menos, es decir, hasta niveles no saturantes (Bergeron *et al.*, 1998). Esta posibilidad se ha visto reforzada por estudios funcionales recientes que muestran que el compuesto N-(3-4'-fluorofenil)-3-(4'-fenilfenoxi) propil-sarcosina (NFPS), un inhibidor específico de GLYT1, el cual potencia las respuestas mediadas por rNMDA tanto *in vitro* como *in vivo* (Berger *et al.*, 1998; Chen *et al.*, 2003). A esta función de «aclaramiento» de los niveles de glicina también pueden contribuir, otros transportadores de aminoácidos neutros (TAN) capaces de retirar glicina del espacio extracelular.

Los rNMDA contienen, además del sitio de unión a glicina, otros sitios reguladores que reconocen poliaminas, protones,  $\text{Zn}^{2+}$  y glutatión (entre otros agentes redox). El significado fisiológico, la interacción y coordinación de todos estos sitios reguladores no se conocen con detalle hasta el momento, pero da una idea de la complejidad de funcionamiento de estas proteínas, así como de su intervención en múltiples procesos. Otro aspecto muy interesante de estos receptores es que se bloquean por iones  $\text{Mg}^{2+}$  en un proceso dependiente de voltaje. Esta singularidad hace que puedan funcionar como un interruptor de «apagado» o «encendido» por simples cambios en el potencial de membrana. El  $\text{Mg}^{2+}$  se une a un sitio específico que se encuentra en el interior del poro iónico y cercano físicamente al sitio de unión de los antagonistas (bloqueantes) del canal (ketamina, fenilciclidina, dizocilpina). Los RNMDA son los únicos receptores que son sensibles a voltaje y a ligando, lo que les sitúa en una «posición privilegiada», integrando señales múltiples para actuar en procesos de potenciación a largo plazo (Mori & Mishina, 1995; Dingledine *et al.*, 1999).

### **1.5.1 Subunidades de los RNMDA**

Los rNMDA están compuesto por varias subunidades (generalmente cuatro) de las cuales al menos una es del tipo NR1 y una o varias subunidades reguladoras del tipo

NR2A-NR2D, lo que proporciona una gran diversidad de formas moleculares diferentes. Para que el receptor sea funcional, al menos debe estar formado por una subunidad del tipo NR1 y una del tipo NR2 ( la figura 1 muestra la estequiometría del rNMDA). Las subunidades del tipo NR1 son sintetizadas en exceso por las células nerviosas y son retenidas en el retículo endoplasmático hasta que puedan ser ensambladas con unidades del tipo NR2. La isoforma NR2D constituye una forma de aparición temprana durante los primeros estadios del desarrollo la cual va disminuyendo con la edad hasta alcanzar valores mínimos en el adulto. Las formas NR2A y NR2B son las predominantes en el cerebro mientras que la NR2C se encuentra principalmente en cerebelo. La diferente composición en subunidades proporciona características propias a cada forma del receptor, lo que se traduce en localizaciones regionales diferentes y en propiedades funcionales diferentes: tiempo de apertura del canal, variación en las propiedades de permeación, etc (Cull-Candy *et al.*, 2001).

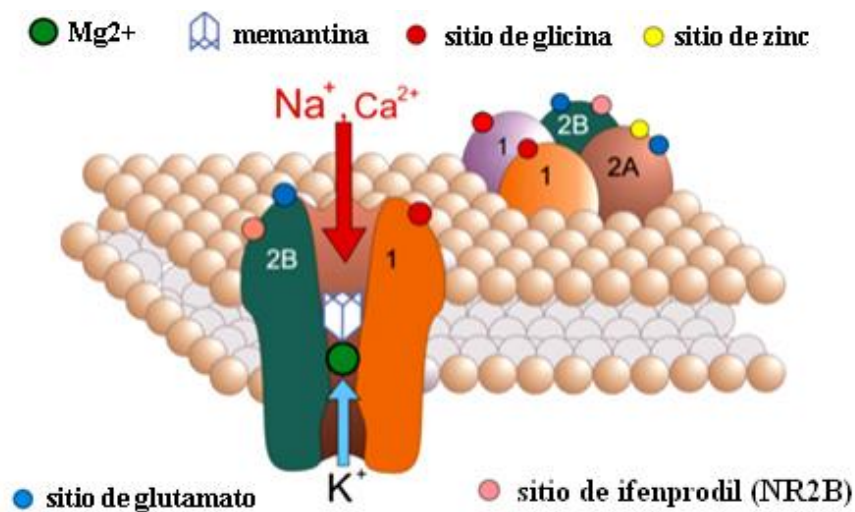


Figura 1. Estequiometría del receptor NMDA. Compreendida por cuatro subunidades. Dos subunidades de NR1 son necesarias para la funcionalidad del receptor. Las otras dos son combinaciones entre los subtipos NR2 y NR3. El sitio de unión para L-glutamato está en NR2, mientras que NR1 posee el sitio para unión a glicina (Tomada de Parsons, 2001).

## 1.6 Vía de la Kinurenina (VK)

El triptófano (TRP) es un aminoácido esencial, su catabolismo es controlada con precisión por un número de vías metabólicas. Dentro del SNC, la vía de la kinurenina (VK) (Figura 2) es responsable del 95% de la degradación de TRP (Colabroy & Begley, 2005).

Existen 3 hemo-enzimas diferentes, en los mamíferos, que catalizan el paso limitante de L-triptófano para producir N-formilkinurenina (NFK): triptófano 2,3-dioxigenasa (TDO), indoleamina 2,3- dioxigenasa 1 y 2 (IDO-1, IDO-2). El IFN- $\gamma$ , representa el inductor más potente de la IDO-1 (genera cambio en la expresión y la actividad). La TDO se expresa principalmente en el hígado y en menor cantidad en otros tejidos, incluyendo el cerebro (Schwarcz y Pellicciari, 2002). Esta enzima está inducida por la disponibilidad de triptófano de la dieta, así como tirosina, histidina y glucocorticoides (Hilmas *et al.*, 2001). La enzima formamidasa formilkinurenina (FKF) convierte rápidamente NFK a Kinurenina (KYN).

En el cerebro como en la periferia, el ácido kinurénico (KYNA) se sintetiza como un metabolito de un brazo lateral corto de KP y se produce por la transaminación irreversible de la L- KYN, una conversión que catalizada por distintas kinureninas aminotransferasas (KAT I y II). Estas enzimas en el cerebro se localizan preferentemente en las células astrogliales (Guidetti *et al.*, 2007 ; Han *et al.*, 2009). La síntesis de KYNA en astrocitos es impulsada por la disponibilidad de sustrato (L- KYN) y cosustrato (2-oxoácidos) (Hodgkins & Schwarcz, 1998). Recién formado KYNA se libera rápidamente en el medio extracelular, donde tiene acceso a receptores nicotínicos de acetilcolina ( $\alpha 7$ nACh) y rNMDA. Posteriormente, KYNA no se degrada enzimáticamente o es removido por la recaptación, pero se elimina lentamente del cerebro por un transportador de ácido inespecífico. (Schwarcz & Pellicciari, 2002).

El metabolismo VK también conduce a la producción de NAD<sup>+</sup>, y varios metabolitos que son sintetizados por el brazo largo de la VK, la 3-hidroxykinurenina (3-HK), el ácido antranílico (3-HAA), ácido picolínico (PIC) y el ácido quinolinico (QUIN) (Colabroy & Begley, 2005).



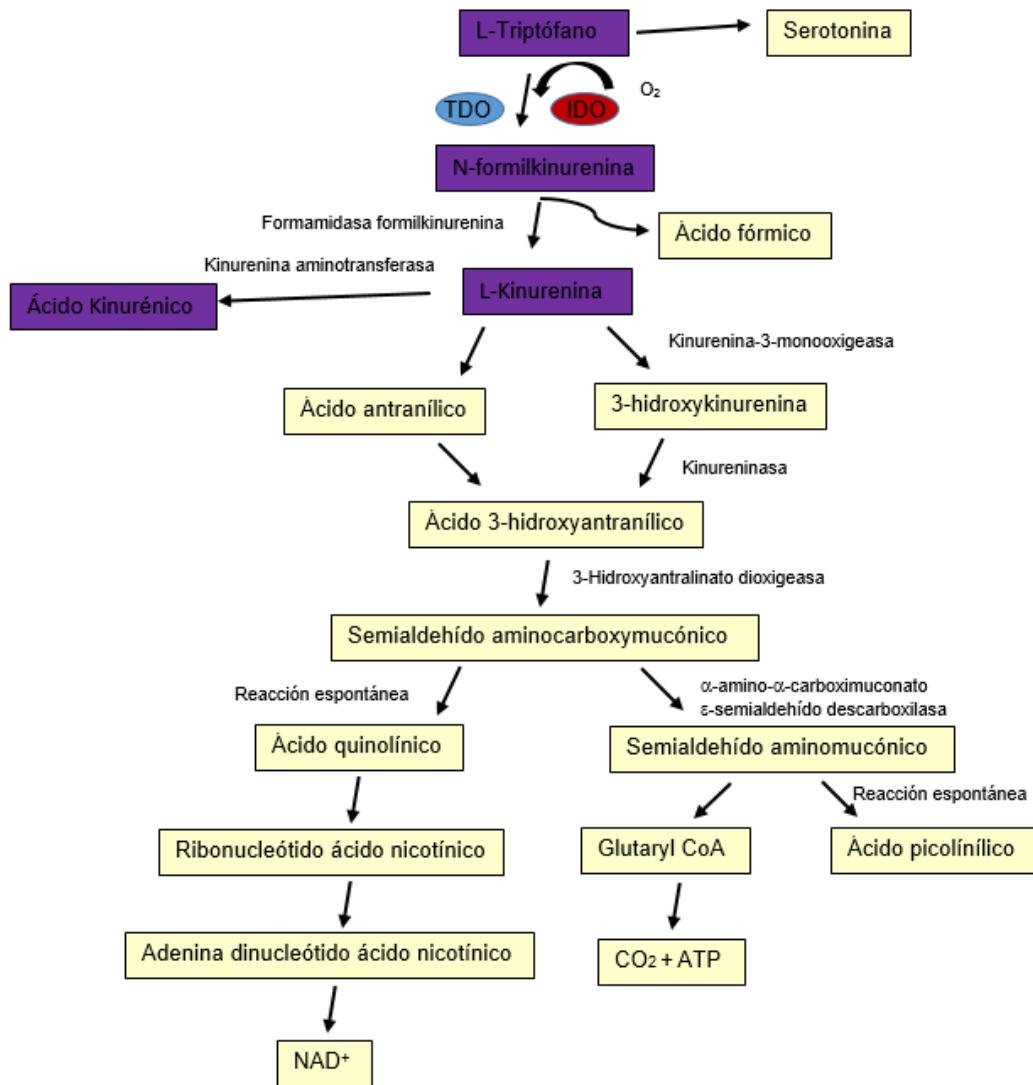


Figura 2. Vía de la Kinurenina. La VK es responsable del 95% de la degradación de triptófano, conduce a la producción de NAD<sup>+</sup>, y varios metabolitos, incluyendo la kinurenina (KYN), el ácido kinurénico (KYNA) “brazo lateral corto”, la 3-hidroxykinurenina (3-HK), el ácido antranílico (3-HAA), ácido picolínico (PIC) y el ácido quinolínico (QUIN) “brazo largo” (Tomada de Schwarcz *et al.*, 2012).

## 1.7 Actividad biológica del KYNA

La esquizofrenia representa el escenario opuesto al que presentan algunos trastornos neurodegenerativos para los niveles del KYNA: mientras que se ha demostrado disminuye en áreas discretas del cerebro de diferentes trastornos neuronales, en el caso de esta enfermedad, los niveles de este metabolito en las áreas corticales se incrementan drásticamente durante las primeras edades, lo que sugiere una falta de transmisión glutamatérgica como posible componente causal de esta patología (Muller & Schwarz, 2006).

Así mismo, es probable que las infecciones prenatales estén implicadas, dado que los astrocitos se activan en la esquizofrenia y los astrocitos activados se caracterizan por una mayor actividad de TDO, es factible que este proceso sea responsable de niveles incrementados del KYNA, ya que la VK se activa en áreas cerebrales críticas como el hipocampo y lóbulos temporales (Schwarcz *et al.*, 2001).

El KYNA es un metabolito endógeno del TRP sintetizado y liberado por los astrocitos en el cerebro. En concentraciones milimolares, bloquea los receptores  $\alpha$ -amino-3-hidroxi-5-metil-isoxazol-4-propionato (AMPA) y kainato, pero en concentraciones micromolares, bloquea el sitio de unión a glicina del rNMDA, y puede actuar como modulador de la función colinérgica a través del bloqueo no competitivo de  $\alpha 7$ nACh (Hilmas *et al.*, 2001). La concentración de KYNA que se encuentra en roedores o el cerebro humano y el LCR o líquido extracelular es inferior a la necesaria para afectar tanto el sitio de unión de la glicina en el rNMDA (concentración inhibitoria media máxima [IC 50 ] = 8-15 $\mu$ M o la  $\alpha 7$ nAChR (CI<sub>50</sub> = 7 $\mu$ M) (Hilmas *et al.*, 2001). La neurotransmisión mediada por rNMDA y  $\alpha 7$ nAChR son cruciales para muchos tipos de funciones cognitivas, así como para la memoria, aprendizaje y plasticidad sináptica (Hilmas *et al.*, 2001; Wu *et al.*, 2006) y ambos receptores han estado implicados en la fisiopatología de la esquizofrenia (Gollapudi *et al.*, 1997; Ballerini *et al.*, 2002).

Recientemente se ha observado que el KYNA está elevado en CPF y en el LCR de individuos esquizofrénicos (Erhardt *et al.*, 2001a; Schwarcz *et al.*, 2001; Nilsson

*et al.*, 2005). Esta observación ha llevado a la hipótesis de que el aumento de los niveles de KYNA en la esquizofrenia puede contribuir a los trastornos cognitivos (incluyen déficit en la memoria de trabajo verbal y espacial) mediados por alteraciones en la transmisión glutamatérgica y / o colinérgica que caracteriza a esta población (Keefe *et al.*, 1995; Hilmas *et al.*, 2001; Silver *et al.*, 2003; Shepard *et al.*, 2003; Erhardt *et al.*, 2004).

Estudios en animales que tienen niveles elevados de KYNA en cerebro, muestran alteraciones en el aprendizaje contextual y la memoria de trabajo espacial (Chess & Bucci, 2006; Chess *et al.*, 2007) e IPP (Erhardt *et al.*, 2001b), parámetros que se ven afectados en pacientes con esquizofrenia (Brebion *et al.*, 2007; Waters *et al.*, 2004). Curiosamente, ratones con una delección dirigida a KAT II disminuye los niveles de KYNA endógeno e incrementa el rendimiento en las pruebas cognitivas (Potter *et al.*, 2010).

También se han confirmado un papel modulador del KYNA en la transmisión dopaminérgica, en donde se ha observado que niveles elevados de KYNA aumentan el disparo de DA del cerebro medio, mientras que los niveles bajos atenúan la actividad de estas neuronas (Erhardt *et al.*, 2001; Olsson *et al.*, 2010).

Se ha demostrado que el KYNA está disminuido en áreas discretas del cerebro de diferentes trastornos neuronales, por lo que el incremento de éste metabolito resulta prometedor para disminuir el componente de excitotoxicidad presente en eventos de neurodegeneración. La primer evidencia sobre un papel antiexcitotóxico del KYNA vino de Lapin que informó de que su administración sistémica o intracerebral contrarrestó las convulsiones inducidas por el QUIN en ratas y ratones (Lapin, 1976; Lapin, 1980). De igual manera, se observó que el KYNA es un antagonista a los rNMDA y redujo el daño excitotóxico en el cerebro de rata (Perkins & Stone, 1982; Foster *et al.*, 1984). Poco después, varios grupos establecieron la naturaleza endógena del KYNA en el SNC de diferentes especies animales, así como sus concentraciones extracelulares y del LCR, que oscilaban entre 15 y 150 nM. Fatokun y colaboradores mostraron una resistencia de cultivos primarios de neuronas (de cerebelo de rata) a ser protegidos por el KYNA a partir de la

excitotoxicidad inducida por el ácido 3-nitropropiónico (3-NP), lo que indica una activación no clásica de los rNMDA por inhibidores mitocondriales que son independientes del sitio unión a glicina o que se produce lejos al sitio de acción de KYNA (Fatokun *et al.*, 2008), permitiendo así la interpretación de que este metabolito podría contribuir a una modulación inhibitoria glutamatérgica a través de su liberación de células gliales (principalmente astrocitos)(Moroni *et al.*, 1988; Swartz, *et al.*, 1990; Moroni *et al.*, 2012; Turski & Schwarcz, 1988)..

Aunque también se ha descrito propiedades antioxidantes a concentraciones relativamente altas del KYNA (100-300  $\mu\text{M}$ ) y sugieren atributos prometedores (Lugo-Huitrón *et al.*, 2011), Moroni y sus colegas han alegado que esto no se puede lograr en condiciones fisiológicas o patológicas (Moroni *et al.*, 2012). Sin embargo, en un estudio se demostró que el KYNA a concentraciones más bajas (20-80  $\mu\text{M}$ ) reduce la peroxidación de lípidos inducida por QUIN (Rios & Santamaria, 1991).

Si bien varios informes han intentado abordar un posible papel adicional del KYNA en los protocolos experimentales bajo diferentes condiciones, es necesario considerar las acciones del KYNA no sólo de manera aislada, ya que es más plausible aceptar una explicación que implique cambios generales en la VK y modificaciones de algunos metabolitos relacionados. Además, los cambios del KYNA en las condiciones fisiológicas y patológicas pueden a veces reflejar los efectos secundarios de las principales rutas, y no precisamente los cambios primarios.

## **1.8 Probenecid (PROB) y KYNA**

El probenecid (ácido 4-(dipropilsulfamoil) benzoico) es un fármaco que fue desarrollado en la década de los 50's para prolongar la duración de la acción de los antibióticos, mediante un mecanismo que describía originalmente la inhibición de la excreción biliar de diversos ácidos carboxílicos y sulfónicos (Stone, 1979; Kupferberg *et al.*, 1964; Hart & Schanker, 1966). Desde su introducción, este fármaco ha sido utilizado para inhibir la secreción tubular de otros

ácidos orgánicos débiles, tales como ácido p-aminohipúrico, ácido salicílico y ácido úrico, así como antibióticos (cefalosporinas), y antiretrovirales (oseltamavir y zidovudina). Esta característica permitió utilizar dosis disminuidas de medicamentos, limitando su toxicidad (especialmente de agentes nefrotóxicos) (Gutman *et al.*, 2012). Estudios posteriores revelaron que PROB tiene efectos metabólicos en la gota, mejorando la excreción renal de urato mediante la inhibición de su reabsorción tubular (Talbot, 1951).

Uno de los usos de PROB es como terapia concomitante para aumentar las concentraciones plasmáticas de varios fármacos, compitiendo por sistemas que los transportan activamente de la sangre peritubular hacia el túbulo renal proximal. De esta manera, su vida media se extiende, lo que conduce a mayores concentraciones plasmáticas, una mejor penetración en los tejidos y efectos más fuertes (Ilett *et al.*, 2006). Anteriormente, se creía que el PROB ejercía su mecanismo de acción sólo a través de la interferencia con el transportador de aniones orgánicos (OAT) de los riñones. Sin embargo, ahora se sabe que el PROB puede tener ventajas terapéuticas e incluso, su efecto puede alcanzar al SNC (Figura 3).

Los OAT pertenecen a la familia de transportadores expresados en la membrana basolateral del túbulo proximal renal, que se encargan de mediar la disposición de fármacos y de sustancias tóxicas (Sweet, 2005). Esta proteína es responsable de la absorción tubular de aniones orgánicos, compuestos neutros y cationes procedentes de la sangre (Kojima *et al.*, 2002; El-Sheikh *et al.*, 2008). El OAT1 se expresa en las neuronas corticales y del hipocampo, así como células ependimales del plexo coroideo, mientras que OAT3 se expresa en el plexo coroideo y en la barrera hematoencefálica (BHE) (Nagata *et al.*, 2004; Sykes *et al.*, 2004; Bahn *et al.*, 2005; Miyajima *et al.*, 2011).

La expresión extrarrenal de estas proteínas en el cerebro, especialmente en el plexo coroideo y la BHE, indica que los OAT pueden desempeñar un papel más amplio en los procesos fisiológicos. El plexo coroideo transporta compuestos endógenos y xenobióticos del LCR a la sangre para su eventual excreción en orina y bilis, limitando así su exposición al SNC (Sykes *et al.*, 2004); Por lo tanto, OAT3

elimina aniones del LCR a través del plexo coroideo (Nagata *et al.*, 2004; Sykes *et al.*, 2004) y del cerebro por la BHE (Miyajima *et al.*, 2011).

El PROB es un inhibidor clásico de OAT1 y OAT3, se ha demostrado que PROB regula los niveles de proteína y la expresión de ARNm de OAT3 (Perwitasari *et al.*, 2013), e inhibe sustratos de OAT1 (Chiba *et al.*, 2011). A través de estos mecanismos, el PROB podría ser responsable de la acumulación de compuestos en el cerebro para ejercer potencial sobre efectos protectores, reduciendo los eventos tóxicos y extendiendo las acciones farmacológicas de medicamentos en diferentes trastornos neurológicos (El-Sheikh *et al.*, 2008).

No se conocía nada sobre los mecanismos de transporte de los metabolitos del triptófano en el cuerpo hasta el 2005, cuando Bahn y colaboradores encontraron que el KYNA es transportado por los OAT1 y OAT3 (estimulando su captación), en el riñón y el cerebro (Bahn *et al.*, 2005).

En 1988 fue la primera vez en la que se utilizó PROB para modular las concentraciones KYNA. Una hora después de la administración de PROB (200 mg / kg, *ip*) se observó un aumento de KYNA (en el cerebro de rata) cuatro veces los valores basales. También PROB incrementó el contenido de KYNA en el hígado 55 veces y en el riñón 100 veces (Moroni *et al.*, 1988).

Además, se ha usado la combinación de KYN más PROB para maximizar las concentraciones del KYNA. En un estudio se observó que la administración de KYN (450 mg / kg) más PROB (200 mg / kg) aumentan 1300 veces las concentraciones de KYNA 3 horas después de la inyección de PROB y 20 min después de la administración de KYN (Miller *et al.*, 1992). En otro trabajo, inyecciones intraperitoneales de KYN (300 mg / Kg) combinada con PROB (200 mg / Kg) aumentó los niveles corticales del KYNA alrededor de 400 veces en hombres y 100 veces en las mujeres, lo que sugiere una influencia de las hormonas femeninas sobre las enzimas de la VK (Chauvel *et al.*, 2012).

La investigación farmacológica está explorando y probando modificaciones de la VK con la finalidad de aumentar la tasa de síntesis del KYNA endógeno (debido a

que por sus propiedades antiexcitotóxicas y antioxidantes, sugerían atributos prometedores para el tratamiento de enfermedades neurodegenerativas), que tiene una capacidad limitada para pasar al SNC desde la periferia; Sin embargo, su precursor inmediato, la KYN pasa rápidamente a través de la barrera hematoencefálica a un ritmo significativo mediante el sistema transportador de aminoácidos neutros y posteriormente se transamina a KYNA (Fukui *et al.*, 1991; Gál & Sherman, 1978). Estudios han demostrado un aumento de los niveles plasmáticos y extracelulares del KYNA en el estriado después de la administración periférica de pequeñas dosis de TRP o de KYN (Moroni *et al.*, 1988; Miller *et al.*, 1992).

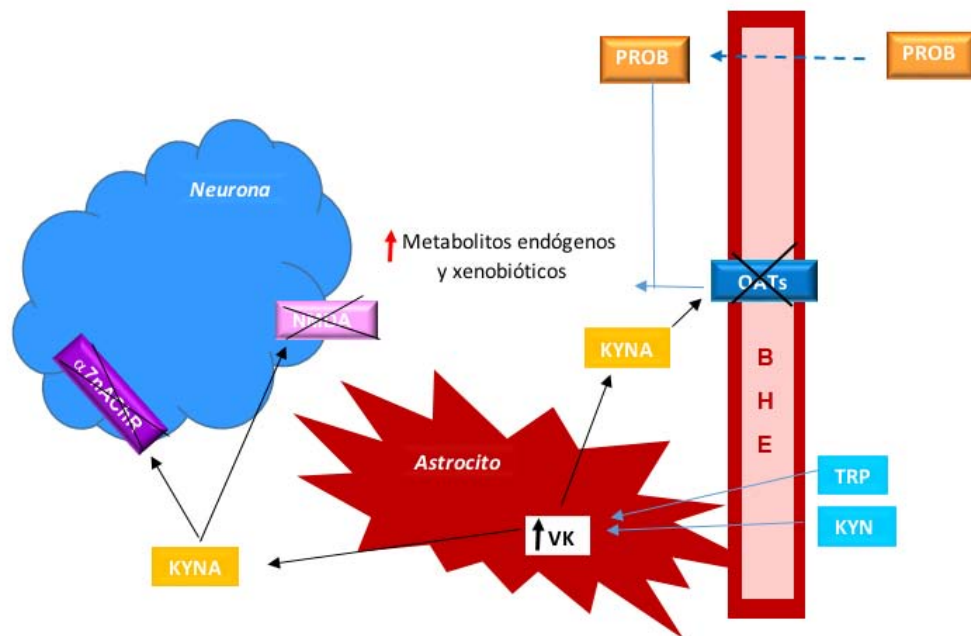


Figura 3. Diagrama que representa los objetivos farmacológicos de PROB en el SNC. El PROB inhibe directamente a los OAT 1 y 3, provocando así el aumento de metabolitos endógenos y xenobióticos, y prolongando su actividad. Además, la inhibición ejercida por PROB en OATs es responsable de la acumulación del KYNA (el cual puede ser incrementado después de la administración periférica de TRP o de KYN), que a su vez genera el bloqueo de los receptores  $\alpha 7nACh$  y NMDA.

Estos resultados muestran claramente que tanto la administración de TRP y KYN así como el uso de ambos fármacos (KYN+PROB) tiene un efecto sinérgico que incrementa notablemente las concentraciones del KYNA, lo que podría tener futuras aplicaciones para la neuroprotección. Con base a lo anterior se ha comprobado efectos protectores de PROB+L-KYN en un modelo hemiparkinsoniano ya que atenúo eventos de gliosis reactiva y neurodegeneración, lo que sugiere que un aumento en los niveles del KYNA puede ser útil para mitigar la toxicidad dopaminérgica (Silva *et al.*, 2011).

En un estudio experimental se evaluó la combinación de la administración sistémica de PROB y L-KYN en el comportamiento (actividad locomotora y memoria espacial) así como alteraciones morfológicas inducidas por una infusión intrahipocampal de beta-amiloide, en donde se observó que los niveles elevados del KYNA puede ayudar a contrarrestar los eventos neurodegenerativos y patrones excitotóxicos, ya que hubo una mejora significativa de la memoria espacial, reducción del daño celular y una disminución de gliosis reactiva en la zona CA1 del hipocampo (Carrillo-Mora *et al.*, 2010).

En un modelo isquémico inducido por la oclusión de cuatro vasos sanguíneos en el cerebro de una rata adulta, el pretratamiento con KYN (300 mg / kg) y PROB (200 mg/kg) administrado durante 5 días consecutivos, generó una disminución en el número de neuronas dañadas en CA1, en donde se asumió que el KYNA acumulado después de esta combinación podría ser responsable de la inhibición de la liberación de glutamato, lo que reduce la excitotoxicidad (Sas *et al.*, 2008). También en 2008, Robotka y colaboradores demostraron que la misma combinación fue capaz de reducir el número de neuronas dañadas en un modelo de isquemia global en la corteza cerebral (Robotka *et al.*, 2008).

Por otro lado, la esquizofrenia representa el escenario opuesto al que presentan algunos trastornos neurodegenerativos para los niveles del KYNA: mientras que se ha demostrado disminuye en áreas discretas del cerebro de diferentes trastornos neuronales, en el caso de esta enfermedad, los niveles de este metabolito en las áreas corticales se incrementan drásticamente durante las primeras edades, lo que



sugiere una falta de transmisión glutamatérgica como posible componente causal de esta patología (Muller & Schwarz, 2006). Aunado a ello, existe evidencia de que el KYNA actúa como un antagonista endógeno de los rNMDA (Hilmas *et al.*, 2001), los cuales están implicados críticamente en la función cognitiva (Gould & Higgins, 2003) y el retraimiento social (Sams-Dodd, 1997). Con base a lo anterior, un estudio realizado en el 2011 por Trecartin y David J. Bucci donde la administración de KYN (100 mg/kg) comenzando el día 27 postnatal y continuando hasta el día 53, mostró una disminución en la conducta social en ratas adultas (Trecartin & Bucci, 2011).

De igual manera se ha visto que pacientes con esquizofrenia tienen niveles cerebrales inferiores a los normales de kinurenina 3-monooxigenasa (KMO) (enzima que juega un papel crucial en el metabolismo de KYNA en el cerebro, de modo que a menor presencia de la enzima mayores son los niveles de este metabolito), lo que podría estar relacionado con unos con niveles bajos de glutamato. Lo que es concordante con un estudio en el que se emplearon ratones genéticamente modificados para presentar un déficit de KMO, de acuerdo con los resultados, y comparados frente a animales sin déficit de la enzima, los ratones con niveles más bajos de KMO mostraron alteraciones en la memoria contextual y tuvieron una menor capacidad de relacionarse con sus congéneres. En consecuencia, y dado que las actitudes observadas en los animales son similares a los rasgos de comportamiento en los seres humanos con esquizofrenia, los resultados sugieren que KMO y KYNA pueden desempeñar un papel clave en la enfermedad (Erhardt *et al.*, 2016).

En conjunto, estos estudios enfatizan el potencial terapéutico de la modulación del rNMDA a través del aumento del KYNA, que puede ejercer efectos neuroprotectores para el caso de enfermedades neurodegenerativas (donde niveles de este metabolito se encuentran disminuidos), sin embargo en trastornos como la esquizofrenia este incremento produce una modulación negativa (hipofunción de rNMDA) contribuyendo de este modo a los déficits cognitivos presentados en dicha patología.

---

## II. JUSTIFICACIÓN

---

Debido a que la esquizofrenia es un trastorno que afecta al 1% de la población mundial y su estudio a través de el uso de modelos animales no es suficiente para comprender la relación existente entre el aumento de KYNA con esta patología, ya que a pesar de que en los últimos años, en varios laboratorios han sido exploradas las manipulaciones de la VK en edades prenatales o adolescentes y se ha analizado sus efectos sobre el comportamiento en animales adultos, poca investigación se ha centrado en el aumento de la concentración de KYNA en períodos de tiempo postnatales prolongados y los efectos a largo plazo en el comportamiento social, así como las relaciones de neurotransmisores y sus metabolitos implicados. Por otro lado las aplicaciones del PROB solamente han sido utilizadas como terapia concomitante para la enfermedad de gota, pero no se ha usado para modelos animales de esquizofrenia; sin embargo existen reportes donde se ha visto que el PROB inhibe a los OATs aumentando los niveles plasmáticos de KYNA, lo que coincide con estudios clínicos de pacientes esquizofrénicos (Schwarcz *et al.*, 2001). El presente trabajo puso a prueba la hipótesis de que el aumento de la concentración de KYNA mediante la administración interrumpida de PROB y de KYN en ratas neonatas, contribuye al déficit en el comportamiento social en la adolescencia y causa alteraciones bioquímicas y funcionales. Lo anterior fue propuesto con base a que, el KYNA es sintetizado y liberado por los astrocitos y actúa como un antagonista endógeno de los rNMDA y  $\alpha 7$ nACh (Hilmas *et al.*, 2001), los cuales están implicados críticamente en la función cognitiva (Gould & Higgins, 2003) y el retraimiento social (Sams-Dodd, 1997).

---

### **III. HIPÓTESIS**

---

Dado que el PROB bloquea los OAT generando la acumulación del KYNA y que la administración de KYN incrementa la concentración de KYNA, la administración sistémica de PROB y KYN en la edad neonatal en ratas aumentará los niveles de KYNA, y contribuirá así al déficit conductual social en la adolescencia, así como a alteraciones bioquímicas en la síntesis de neurotransmisores, generando entonces un modelo de psicosis en ratas.

---

### **IV. OBJETIVOS**

---

#### **4.1 Objetivo general**

Evaluar los efectos de la administración sistémica interrumpida de PROB y KYN en ratas neonatas sobre marcadores conductuales y perfiles neuroquímicos.

#### **4.2 Objetivos particulares**

- Evaluar los efectos de la administración sistémica de PROB, KYN y KYN+PROB sobre dos aspectos de la conducta social (35 días postnatales): como la interacción y la preferencia a la novedad social.
- Medir a los 56 días postnatales estereotipias y conducta motora: movimientos verticales, horizontales y distancia total recorrida.
- Caracterizar los efectos de estos 3 tratamientos sobre los perfiles neuroquímicos mediante su cuantificación por HPLC de los niveles de DA y sus metabolitos (DOPAC y HVA) y glutamato en tejido cerebral de ratas a los 56 días de tratamiento.

---

## V. METODOLOGÍA

---

### 5.1 Animales en experimentación

Se utilizaron ratas albinas wistar recién nacidas, las cuales fueron administradas con vehículo ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ), PROB, KYN y KYN+PROB. Los animales fueron instalados en jaulas con sus respectivas camadas. Se mantuvieron en ciclos de 12 horas de luz-oscuridad (las luces se enciendieron a las 7:00 hrs) con una temperatura ambiente de 22°C, se proporcionó comida y agua *ad libitum*.

### 5.2 Fármacos utilizados y dosis administradas

Los fármacos utilizados se administraron vía intraperitoneal a partir del séptimo día de su nacimiento y durante los siguientes dos días (7-9), posteriormente se dejó descansar la administración por 3 días y nuevamente se volvía a realizar durante los subsecuentes 3 días (13-15), este procedimiento se repitió hasta el día 21 (Éste régimen de inyección se utilizó de acuerdo al protocolo de Akagbosu, 2012, para minimizar el potencial de adaptaciones metabólicas tras el tratamiento sistémico crónico con L-KYN) como se observa en la figura 4. A las ratas tratadas con vehículo se les administró  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  al 9%, las dosis de PROB (15 mg/kg) y KYN (10 mg/kg), se seleccionaron de acuerdo a un estudio realizado por Nilsson y sus colaboradores en el 2006 (donde se observó un incremento de KYNA tras su administración).

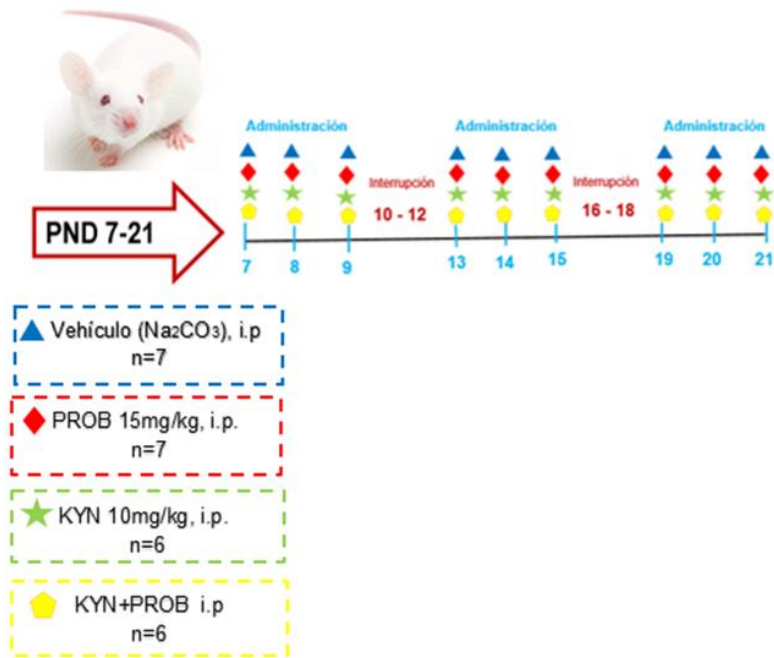


Figura 4. Diagrama que representa el régimen de administración de los 4 tratamientos.

### 5.3 Pruebas sociales

Los comportamientos sociales se refieren a conductas que ocurren cuando dos o más individuos de la misma especie interactúan. Los roedores son animales altamente sociales y cuando se colocan en un área en la que el territorio no se ha establecido, en donde socialmente se involucran entre sí, se presentan una serie de actos de comportamiento que se pueden medir cuantitativamente (Sams-Dodd, 1995 a). La reducción significativa en la interacción social de los sujetos de prueba se interpreta a menudo como aislamiento social (Sams-Dodd, 1995 b; Sams-Dodd, 1996). Una versión para medir este parámetro es, utilizando una arena dividida en varias cámaras y el tiempo que el roedor (típicamente ratas) pasa en la cámara con un conespecífico poco familiarizado y las cámaras vacías (Moy *et al.*, 2004). Esta medida de la conducta se ha denominado enfoque social y la preferencia por la cámara vacía está pensado para reflejar la evitación social.

La conducta social fue evaluada con el paradigma de tres cámaras de sociabilidad de Crawley, el aparato se compone de una caja rectangular de tres cámaras (cada una es de 19 x 45 cm), las paredes divisorias son de plexiglás transparente con una sección central abierta, que permite el acceso libre a cada cámara.

Este ensayo consta de 3 etapas: habituación, sesión I y sesión II

a) Habitación (adaptación): Se aislaron los compartimentos (derecho e izquierdo) utilizando las paredes divisorias de plexiglás y se colocó al roedor experimental en el centro de la cámara intermedia durante 5 minutos para adaptarlo.

b) Interacción social (Sesión I): Se colocó una rata control "Extraño 1" (diferente camada) dentro de una copa de contención de alambre que se encuentra en una de las cámaras laterales. Posteriormente se retiraron las paredes entre los compartimentos, para permitir el acceso libre para que la rata explore cada una de las tres cámaras. Para cuantificar las tendencias sociales, las tareas principales fueron medir la duración y número de contactos directos (activos) entre la rata experimental y el "extraño 1" (Cámara social) así como para la copa de contención vacía (Cámara no social). Se contó como contacto activo al contacto directo entre el rata experimental y la copa de contención, o al estiramiento del cuerpo en un área de 3 - 5 cm alrededor de la copa. Esta primer sesión tuvo una duración de 10 minutos.

c) Novedad social (Sesión II): Se colocó una segunda rata control ("Extraño 2") dentro de una copa de contención en la cámara lateral opuesta (que estaba vacía durante la sesión I). De igual forma se monitorearon los parámetros descritos anteriormente, diferenciando los comportamientos de la rata experimental en presencia del "Extraño 1" en comparación con el "Extraño 2". La duración de la segunda sesión fue de 10 minutos.

El principio fundamental de esta prueba se basa en la libre elección del animal a pasar tiempo en cualquier de los tres compartimentos de la caja, durante dos sesiones experimentales, incluyendo el contacto indirecto con una rata (Sesión I

“interacción social”) o dos ratas ( Sesión II “novedad social”), con las que no está familiarizado (diferente camada), como se muestra en la figura 5. Para cuantificar las tendencias sociales de la rata experimental, las tareas principales fueron medir el tiempo que pasa con un individuo de la misma especie y la preferencia por un nuevo sujeto (extraño 2) contra uno ya familiarizado (extraño 1). Por lo tanto, el diseño experimental permite evaluar dos aspectos críticos pero distinguibles de comportamiento social, como la interacción social, y la preferencia a la novedad social. Las pruebas de comportamiento se realizaron de las 10 am-2 pm, después de cada ensayo se limpiaron las cámaras con etanol al 70%, las observaciones se realizaron a 2 metros de distancia del aparato de acuerdo a lo establecido en el protocolo (Crawley, 2004; Moy *et al.*, 2004). Esta prueba se realizó a los 35 días postnatales, ya que es la edad que corresponde a la adolescencia en las ratas, etapa donde se ha observado (en humanos) se empiezan manifestar los primeros síntomas de este trastorno.

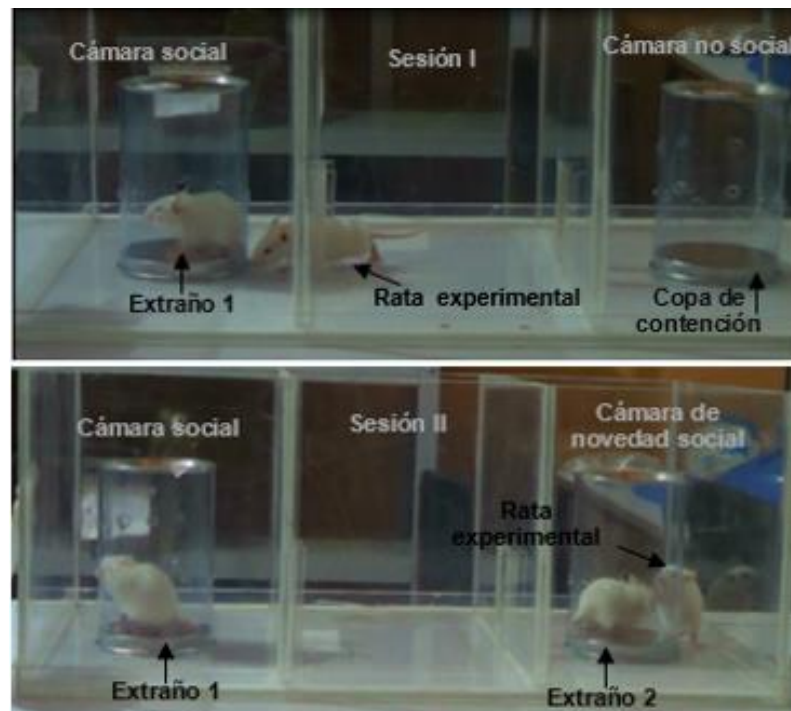


Figura 5. Esquema que representa las sesiones I y II, para evaluar la conducta social con el dispositivo de Crawley.

## 5.4 Actividad locomotora y estereotipias

Las pruebas locomotoras se realizaron a los 56 días (la etapa de adultez correspondiente en las ratas, periodo en que se acentúan los síntomas clínicos de esta patología) en todos los grupos, entre cada ensayo se limpió el aparato con etanol al 70%. El programa utilizado para registrar las actividades fue Versamax (VersaMax System from AccuScan Instruments, Inc. Columbus, Ohio, USA) este sistema utiliza sensores en ejes horizontales XY que el hardware detecta para que el software pueda determinar la ubicación del roedor dentro de la jaula, además tiene herramientas para almacenar y reproducir datos de actividad, los datos fueron procesados con Versadat. Se evaluaron durante 15 minutos parámetros tales como actividad locomotora vertical, horizontal, distancia total recorrida y estereotipias presentadas .

## 5.5 Obtención de muestras para HPLC

Una vez finalizadas las pruebas locomotoras (figura 5.1) los animales fueron sacrificados por decapitación, posteriormente se extrajeron el estriado, el hipocampo y la corteza cerebral. Para el análisis de dopamina, el tejido se homogenizó con 300 ml de buffer de ácido perclórico 0.4 N, y se centrifugó a 8000 rpm durante 15 minutos, el sobrenadante se utilizó para cuantificar proteínas mediante el método de Lowry (Lowry *et al.*, 1951). Se procesaron las muestras de todos los grupos por HPLC, para ello se utilizó un cromatógrafo líquido Perkin Elmer LC-250 con detector electroquímico Metrohm como describe Garcia y colaboradores en 2008, los picos se integraron poco con una estación de datos Perkin-Elmer Signa, y las curvas de calibración para DA, ácido 3,4 dihidroxifenilacético (DOPAC) y ácido homovanílico (HVA) se construyeron mediante la inyección de 20 µl de concentraciones de patrones preparados en solución metabisulfito perclórico (en el bucle del cromatógrafo). Se utilizó una columna Alltech C18 (100 x 4,8 mm) con 3 µm de tamaño de partícula. La fase móvil consistió en una solución acuosa de buffer de fosfato (0,1 M, pH 3,1) que contenía 0.9 mM de octil-sulfato sódico, 0.1 mM EDTA y 15% (v / v) de metanol. Las



concentraciones de las muestras de DA, DOPAC y HVA se obtuvieron por interpolación en su respectiva curva patrón (Garcia *et al.*, 2008).

Para el caso de la cuantificación de aminoácidos se administró vía intravenosa B-mercaptopropionico a una dosis (1.2 mM/Kg) dos minutos antes de ser sacrificados los animales para evitar falsos positivos, ya que éste inhibe a la glutamato descarboxilasa (GAD), la cual es una enzima limitante que cataliza la formación de GABA a partir de ácido glutámico. Una vez extraídos los cerebros se homogenizaron en 3 ml de una mezcla de metanol y agua al 80%, posteriormente se centrifugaron a 13000 rpm durante 15 min, el sobrenadante se utilizó para cuantificar proteínas mediante el método de Lowry. Posteriormente, las muestras se derivatizaron con o-ftalaldehído/Mercaptoetanol (OPA) y se inyectaron en una columna de Adsorbosfera HS (100 × 4.6 mm, tamaño de partícula de 5 mm, Alltech) con una bomba cuaternaria (serie 1100, AgilentTechnologies). La fase móvil consistió en un acetato (AcO, 50 mmol/L, pH 5.9) con tetrahidrofurano y metanol absoluto. El programa de disolventes consistía en una elución isocrática (0-5 minutos) y un gradiente lineal (5-27 minutos) de: tetrahidrofurano 1,0%, 0-27 minutos; AcO 89%, 0-5 minutos, y 89% -77%, 5 - 27 minutos; metanol absoluto al 10%, 0 - 5 minutos y 10% -22%, 5-27 minutos. Las señales se registraron a 232 nm y longitudes de onda de emisión de 455 nm, se analizaron con el software ChemStation 10.02 (Agilent Technologies) (Barges-Coll *et al.*, 2013)

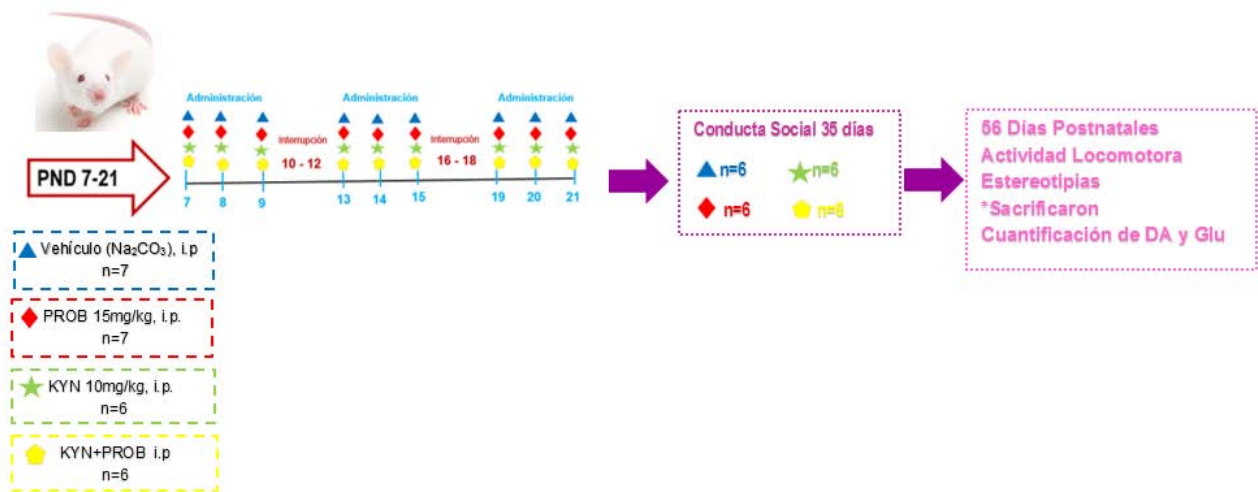


Figura 5.1. Diagrama que representa el régimen de administración de los 4 tratamientos y la cronología en que se llevaron a cabo pruebas conductuales, locomotoras y perfiles neuroquímicos.

## 5.6 Análisis estadístico

Los datos obtenidos fueron analizados con el programa estadístico GraphPad Prims 6. Para determinar las diferencias entre grupos, primero se realizó un análisis de varianza de una vía (ANOVA), seguido de una prueba de comparación múltiple de Dunnet. Se consideró como diferencia significativa a una  $p < 0.05$ ; los datos se graficaron con el error estándar para observar la distribución muestral.

---

## VI. RESULTADOS

---

### 6.1 Los tratamientos KYN y KYN + PROB disminuyeron la interacción social y la preferencia por la novedad social en ratas

La actividad conductual se evaluó con el paradigma de tres cámaras Crawley en ratas jóvenes (35 días). Los resultados se muestran en la Figura 7. Durante la sesión 1, en la que se valora la interacción social directa entre dos roedores (Figura 6.1 a), los animales control expresaron una interacción social normal (36 s en cámaras vacías frente a 60 s con el extraño 1). La administración de KYN disminuyó significativamente esta interacción (294% por encima del control en cámara vacía ( $p < 0.05$ ) y 52% por encima del control con el extraño 1). El tratamiento de KYN + PROB también disminuyeron la interacción social de manera significativa (305% por encima del control en cámara vacía ( $p < 0.05$ ) y 2% por debajo del control con el extraño 1). Durante la sesión 2, en la que se evaluó la preferencia por la novedad social (Figura 6.1b), sólo los animales tratados con KYN mostraron una reducción significativa en la preferencia temporal por el extraño 2 (84% por debajo del control ( $p < 0.05$ )), lo que denota una reducción de la novedad social. KYN + PROB mostró una tendencia a disminuir la novedad social, aunque este efecto no alcanzó diferencias significativas (53% por debajo del control). PROB por sí solo no alteró el tiempo de interacción social vs ratas control, aunque mostró una tendencia a disminuir la interacción social y la novedad social en las sesiones 1 y 2 (229% por encima y 56% por debajo del control, respectivamente).

## Interacción Social 35 días

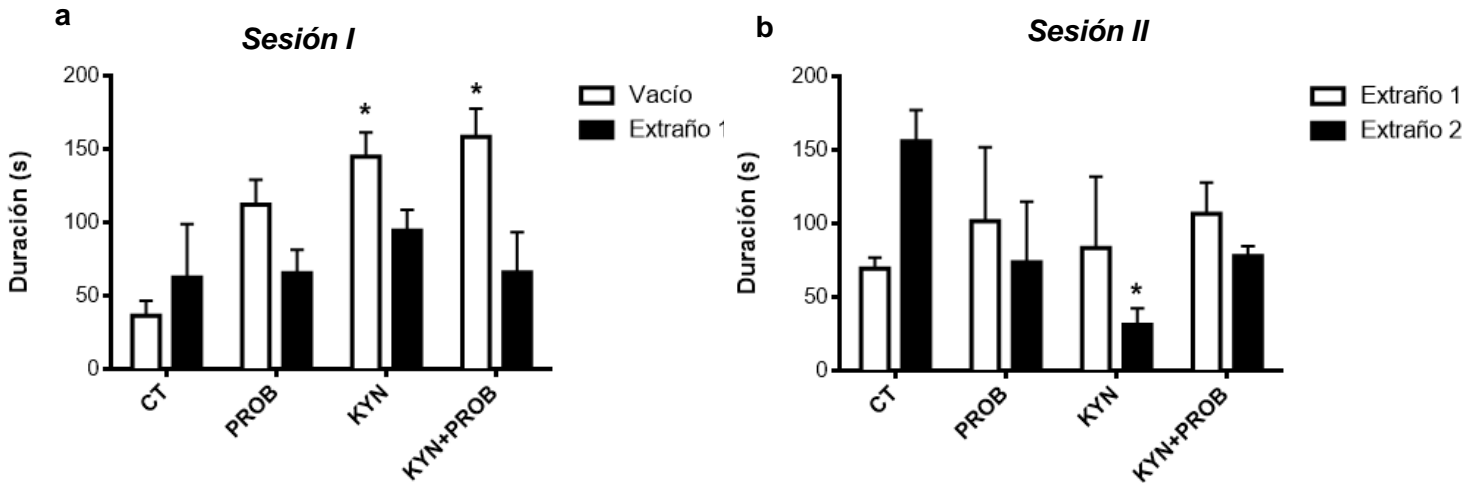


Figura 6.1. El tratamiento intermitente en ratas posnatales (PND 7-21) con KYN (10 mg/kg) y KYN + PROB (10mg/kg +15 mg/kg) produjo cambios en el comportamiento social. a) En la sesión 1 KYN y KYN + PROB disminuyeron el interés de las ratas jóvenes para interactuar. En b) Sólo KYN produjo un déficit en la preferencia por novedad social en la sesión 2. Cada barra representa el promedio de  $n = 5$  ratas por grupo. \*  $p < 0.05$ , difieren significativamente del control (1er sesión respecto a barra blanca y en la 2da sesión con barra negra). Se analizó mediante ANOVA de dos vías, seguido la prueba de Dunnett.

### **6.2 Los tratamientos de KYN y KYN+PROB aumentaron la actividad locomotora en ratas**

Los resultados obtenidos sobre la actividad motora de ratas adultas denota para los tratamientos KYN y KYN+PROB un aumento del 79% ( $p < 0.05$ ) y un 82% ( $p < 0.05$ ) por encima del control en la actividad vertical. El PROB por sí solo también aumentó este parámetro (26% por encima del control), pero no alcanzó diferencias significativas (figura 6.2). La actividad locomotora horizontal y distancial total recorrida no mostraron cambios significativos para los tratamientos con KYN y/o PROB.

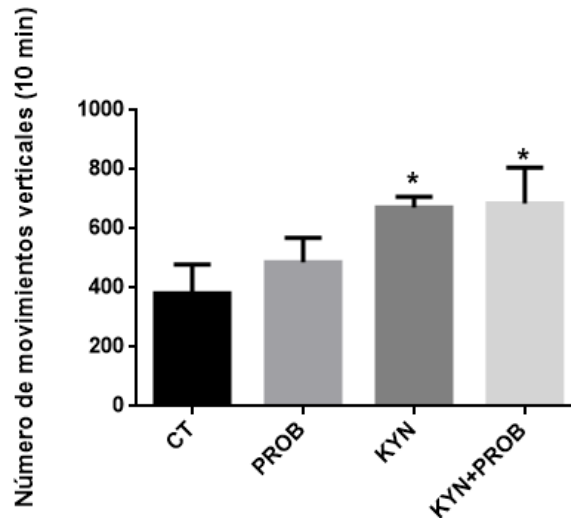


Figura 6.2. La administración intermitente en ratas posnatales (PND 7-21) con KYN (10mg/kg) y KYN + PROB (10mg/kg +15mg/kg) aumentaron el número de movimientos verticales en ratas adultas (56 días). Cada barra representa el promedio de n = 5 ratas por grupo. \*p <0.05, difieren significativamente del control; Se analizó mediante ANOVA de una vía, seguido de la prueba de Dunnett.

### **6.3 Los tratamientos de KYN y KYN+PROB incrementaron estereotipias en ratas**

La Figura 6.3 representa los efectos de KYN y / o PROB sobre los recuentos de estereotipias de ratas adultas. KYN y PROB + KYN aumentaron las estereotipias un 47% (p <0.05) y un 52% (p <0.05) por encima del control, respectivamente. El PROB por sí solo también aumentó este parámetro (3% por encima del control), pero no alcanzó diferencias significativas.

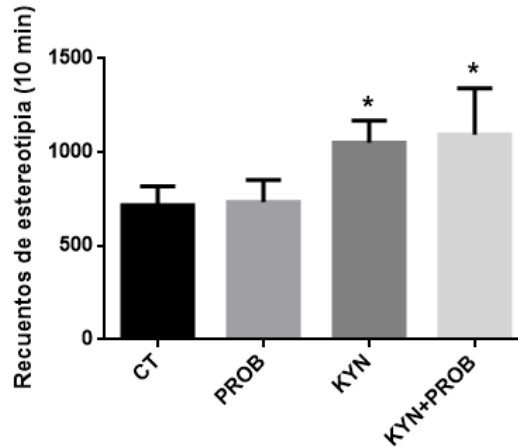


Figura 6.3. El tratamiento intermitente en ratas posnatales (PND 7-21) con KYN (10mg/kg) y KYN+ PROB (10mg/kg +15 mg/kg) produjo cambios en las estereotipias de ratas adultas. Cada barra representa el promedio de n = 5 ratas por grupo. \*p <0.05, difieren significativamente del control. Se analizó mediante ANOVA de una vía, seguido de la prueba de Dunnett.

#### 6.4 Los tratamientos KYN, PROB y KYN + PROB aumentaron los niveles de DA en el estriado y la corteza prefrontal

Los resultados obtenidos por análisis de HPLC que caracterizan el perfil neuroquímico de DA, HVA y DOPAC se muestran en la Figura 6.4. Los niveles basales de estas moléculas tanto en el cuerpo estriado como en la corteza fueron los siguientes: 2.9 y 1.5 µg / ng de DA (EE de 0.9 y 0.3 respectivamente); 11.4 y 5.1 µg /ng de HVA (EE 4.6 y 1 respectivamente); y 18,0 y 4,9 µg / ng de DOPAC (EE 4.8 y 0.9), respectivamente. El análisis cromatográfico reveló también un aumento de los niveles totales de DA en el estriado y la corteza de los animales que recibieron PROB (914 y 2074% p<0.05), KYN (520 y 2394% por encima del control, respectivamente, p <0.05), y KYN + PROB (1202 y 1667% por encima del control, respectivamente, p <0.05). En cuanto a la relación HVA / DA, sólo el tratamiento con KYN + PROB aumentó este parámetro en el estriado (141% por encima del control, p <0.05), mientras que el tratamiento con KYN aumentó la relación en la

corteza (874%, por encima del control,  $p < 0.05$ ). Para la región hipocampal no se denotaron cambios en los tratamientos para ninguno de los dos parámetros.

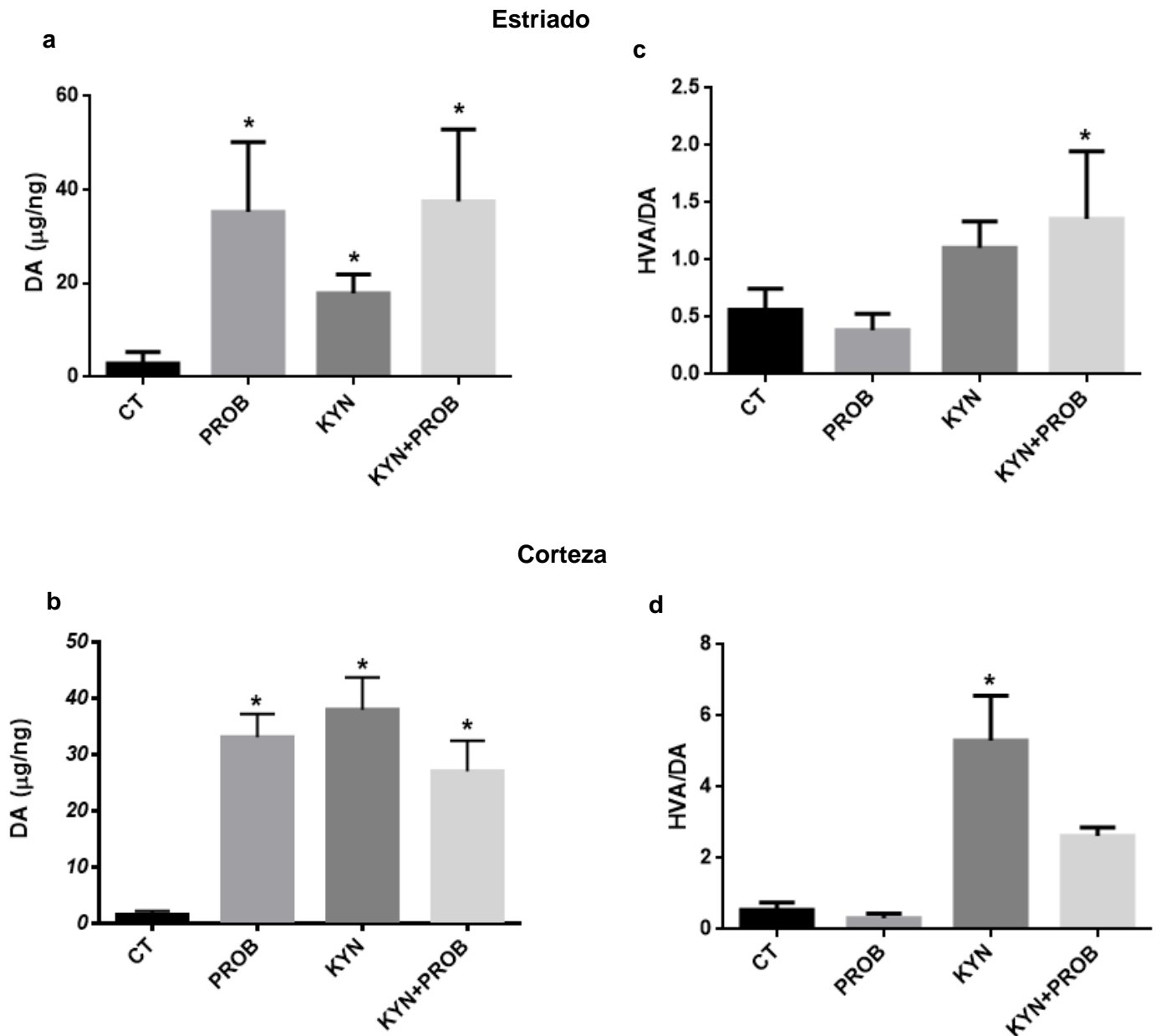
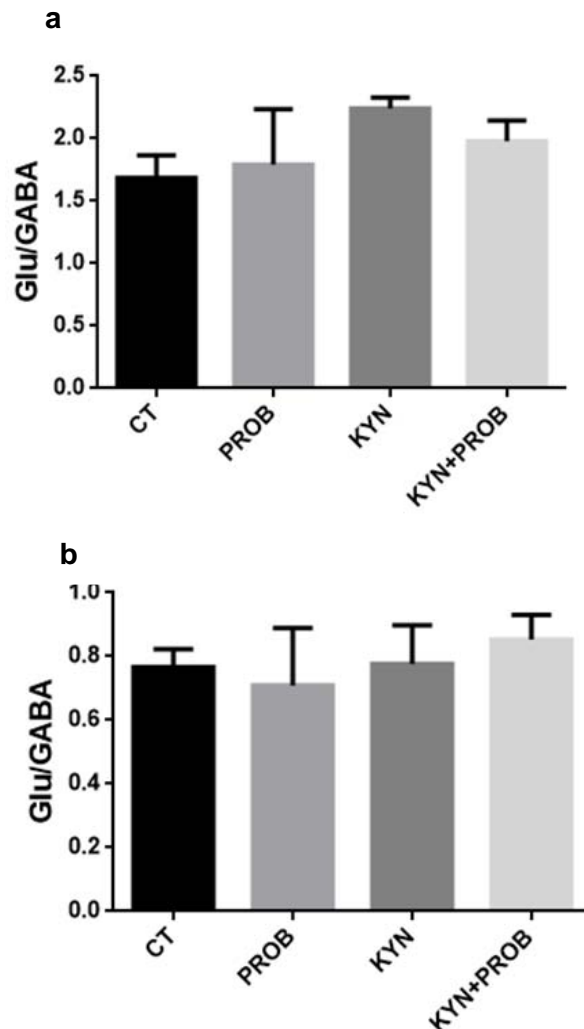


Figura 6.4. Efectos de la administración neonatal (PND 7-21) de KYN y / o PROB sobre DA y la relación DA / HVA en tejidos cerebrales de ratas adultas. Los perfiles bioquímicos se estimaron en el estriado (a-b) y corteza (c-d). Cada barra representa el promedio de  $n = 5$  ratas por grupo. \* $p < 0.05$ , difieren significativamente del control. Se analizó mediante ANOVA de una vía, seguido de la prueba de Dunnett.

### 6.5 La administración de KYN postnatal a ratas aumentó la relación Glu / GABA en el hipocampo

Debido a que la metodología usada no discriminaba al Glutamato y GABA activo del vesiculado (contabilizando el Glu y GABA total) se llegó a la determinación de evaluar los efectos de KYN y/o PROB sobre la relación directa Glu/GABA en el tejido cerebral de ratas adultas, donde se observó que sólo el tejido de los animales tratados postnatalmente con KYN mostraron cambios significativos en el Glu / GABA en el hipocampo (48% por encima del control,  $p < 0.05$ ). KYN también indujo un aumento del 32% en la relación Glu / GABA en el estriado. En la región de corteza prefrontal no se denotaron cambios en los tratamientos para esta relación (figura 6.5). Para el caso de los demás aminoácidos (glutamina, glicina y aspartato, no hubo cambios para ninguna de las tres regiones.





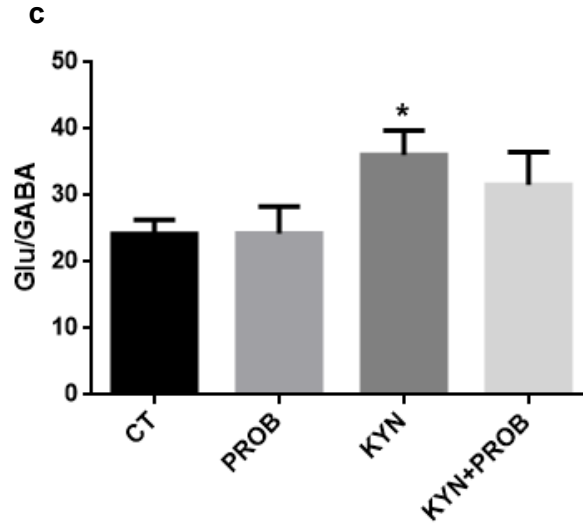


Fig 6.5. Efectos de la administración sistémica de KYN y / o PROB sobre la relación Glu/GABA en tejidos cerebrales adultos. Los perfiles bioquímicos se estimaron en el estriado (a), la corteza (b) y el hipocampo (c). Cada barra representa el promedio de  $n = 5$  ratas por grupo.  $p < 0,05$ , difieren significativamente del control. Se analizó mediante ANOVA de una vía, seguido de la prueba de Dunnett.

---

## VII. DISCUSIÓN

---

### **Conducta social**

Demostrar la validez de constructo en modelos animales de esquizofrenia es difícil, ya que los sustratos neurobiológicos subyacentes no se han establecido claramente (Wilson & Terry, 2010). Sin embargo, se ha sugerido que los déficits en los comportamientos de interacción social en roedores son similares a las características observadas en este trastorno. También se ha determinado que la corteza prefrontal y la amígdala tienen un papel específico en el procesamiento de las relaciones sociales (Amodio & Frith, 2006; Habel *et al.*, 2007).

En el ser humano, a la capacidad apropiada de interactuar socialmente se le llama cognición social, para la cual se requiere de la construcción de representaciones mentales acerca de otros, y uno mismo, así como de las relaciones entre los demás para consigo (Adolphs, 2001). Los pacientes con diagnóstico de esquizofrenia han mostrado déficits en varios dominios de la cognición social, incluyendo el conocimiento social, las percepciones sociales, la teoría de la mente (es decir, la capacidad de comprender el comportamiento y las intenciones de los demás en cuanto a su estado mental), y el procesamiento emocional (Corrigan & Green, 1993; Archer *et al.*, 1994; Corrigan & Addis, 1995; Greig *et al.*, 2004). Por lo tanto, los paradigmas animales son capaces de medir diferentes componentes de los comportamientos sociales (por ejemplo, la memoria social y motivación social) pueden ser útiles en la comprensión aún más los déficits sociales que están asociados con la esquizofrenia (Sams-Dodd, 1995).

De acuerdo a numerosos estudios, varios agentes farmacológicos inducen déficits en la interacción social y por lo tanto pueden proporcionar modelos válidos con posible relevancia para la esquizofrenia. En este estudio, la actividad conductual evaluada mediante el paradigma de tres cámaras de Crawley en las ratas juveniles durante la sesión 1 denota inclinación de parte de los grupos tratados con KYN y

KYN + PROB por pasar mayor tiempo en la cámara vacía, a diferencia de los controles que expresaron interés en las interacciones sociales. Aunado a esto, durante la siguiente sesión en la que se valora la preferencia por la novedad social, es evidente que aunque existe una marcada inclinación por interactuar con los conoespecíficos familiarizados por parte de las ratas tratadas con KYN, del mismo modo se observa esta tendencia en los grupos administrados con PROB y KYN+PROB aunque no es estadísticamente significativa, en contraste con los tratados con vehículo que manifiestan una predilección determinante por interactuar con los roedores no familiarizados, es decir, pasan mayor tiempo en la cámara que contiene al extraño 2. Lo anterior indica que al no discriminar entre animales novedosos y familiarizados muestran una falta de interés por interactuar con sus conoespecíficos, un evento que se presenta en pacientes con esquizofrenia cuando manifiestan apatía (Sams-Dodd, 1995).

Los resultados previamente descritos coinciden con los encontrados en la literatura, ya que en el 2011 un estudio realizado por Trecartin y David J. Bucci donde la administración de KYN (100 mg / kg) comenzando el día 27 postnatal y continuando hasta el día 53, usando un régimen de tratamiento de 3 días de duración / 3 días de descanso, generó una disminución en la conducta social en ratas adultas (Trecartin & Bucci, 2011). De igual forma al inyectar intraperitonealmente a ratas neonatas con 100 mg/kg de KYN durante los postnatales 7-10 para imitar los efectos de la exposición a la gripe en los niveles de KYNA (Iaccarino *et al.*, 2013) redujo el número de interacciones sociales en la edad adulta. Con base a ello, existe evidencia de que los cambios observados en la conducta social, pueden ser consecuencia de que el KYNA actúa como un antagonista endógeno de los rNMDA (Hilmas *et al.*, 2001), los cuales están implicados críticamente en la función cognitiva (Gould & Higgins, 2003) y el retraimiento social (Sams-Dodd, 1997).

Por otro lado la inferencia de que el antagonismo no competitivo del rNMDA provoca déficits en la interacción social en roedores, se ve apoyada por estudios que utilizan agentes similares como el MK-801, la ketamina y la PCP, los cuáles

también producen en personas sanas psicosis y síntomas negativos (Luby\_ *et al.*, 1959; Krystal *et al.*, 1994; Lahti *et al.*, 1995a; Lahti *et al.*, 1995b). Por ejemplo, el tratamiento agudo y subcrónico de MK-801 (0.1-0.3 mg / kg) reduce la interacción social en ratas macho adultas y ratones (Rung *et al.*, 2005; de Moura Linck *et al.*, 2008; Matsuoka *et al.*, 2008). Además, tras la administración aguda y subcrónica de ketamina (7-30 mg / kg) se ha visto afectada la interacción social en ratas macho adultas (Silvestre *et al.*, 1997; Becker *et al.*, 2003; Uribe *et al.*, 2013). De igual manera, diversos estudios han encontrado una reducción de los comportamientos sociales dependiente de la dosis PCP (0.5 a 30 mg / kg) en ratas macho adultas después de la exposición aguda, subcrónica y crónica así como en ratas hembra tras la exposición subcrónica, durante una tarea de interacción social (Sams-Dodd, 1995a; Sams-Dodd, 1996; Slot Bruins *et al.*, 2005; Lee *et al.*, 2005; Snigdha & Neill, 2008; Seillier *et al.*, 2013). Debido a que los déficits en la interacción social observados en roedores administrados con antagonistas de rNMDA parecen relacionarse con el aislamiento social inducido por PCP y ketamina visto en seres humanos, es necesario el apoyo a una mayor investigación referente a estos parámetros, ya que son de utilidad para la evaluación de los síntomas negativos asociados con la esquizofrenia, como la asocialidad ( Sams-Dodd, 1995).

El reconocimiento social también denominado discriminación novedad social o la memoria social, se basa en la capacidad del roedor experimental para reconocer un conspecifico familiarizado, lo que es indicado por una reducción en la interacción social con el ratón familiarizado o la preferencia por interactuar socialmente con un conspecifico no familiar (Engelmann *et al.*, 1995; Kaidanovich-Beilin *et al.*, 2011). Aunque no ha sido tan estudiada como la interacción social, se han realizado varias investigaciones que analizan el reconocimiento social alterado en modelos animales de esquizofrenia. Por ejemplo, el tratamiento agudo con MK-801 (0.1 mg / kg) produjo una disminución de las capacidades discriminativos para la novedad social frente a la misma especie en ambas ratas macho y ratones (Zou *et al.*, 2008). En un estudio realizado por Harich y sus colegas, el tratamiento con PCP (10 mg / kg) en el PND 7, 9 y 11 redujo significativamente la exploración a la preferencia social en ratas macho adultas (Harich *et al.*, 2007). Por lo tanto, los resultados sugieren la

validez de los paradigmas de reconocimiento social, para el estudio de los déficits sociales asociados con la esquizofrenia. Además, es posible que los paradigmas de reconocimiento social pueden mejorar nuestra comprensión de los diferentes mecanismos subyacentes implicados en la interacción y la memoria social.

## **Actividad locomotora**

El comportamiento supone una respuesta integrada y extraordinariamente compleja que implica el intercambio regulatorio entre diversas áreas del SNC, cada una a cargo del control de diferentes aspectos de la conducta. Por tanto, una valoración adecuada de los efectos de cualquier tipo de tratamiento experimental sólo se conseguirá mediante la medición de varios parámetros indicativos de esos diversos aspectos del comportamiento. Existen varios tipos de pruebas que permiten registrar una serie de variables indicativas de actividad motora general, exploración y emotividad, como pueden ser el campo abierto o el tablero de agujeros, frecuentemente utilizados en trabajos de comportamiento.

La actividad locomotora fue evaluada en ratas adultas mediante el programa Versamax, el cual denotó un incremento en la actividad de los movimientos verticales durante los primeros 5-10 minutos del ensayo en animales tratados con KYN y KYN + PROB. Los resultados obtenidos son contrastantes con un estudio realizado por Akagbosu y colaboradores en el 2012, el cuál mostró que ratas tratadas con L-KYN (100 mg kg) durante la adolescencia (días postnatales del 27-53, con un régimen de administración interrumpida) presentaron una disminución de la actividad locomora (Akagbosu *et al.*, 2012), esta diferencia se puede atribuir a la metodología utilizada para evaluar éste parámetro, ya que midieron el número de veces que los animales cruzaron (de un extremo a otro) en una cámara de reconocimiento de objetos novedosos, por lo que al disminuir el interés por reconocer el objeto novedoso también se veía implicada la disminución de la actividad locomotora.

Por otro lado el incremento de la locomoción observado en este estudio, es comparable con la literatura, ya que anteriormente se ha informado que el tratamiento con antagonistas de los rNMDA durante las etapas tempranas del desarrollo conduce a un aumento en la actividad locomotora y los comportamientos exploratorios (Martínez *et al.*, 2002; Jacobs *et al.*, 2000). Como es el caso de MK-801 que al administrarse post-natalmente del día 7-10, a una dosis de 0,25 mg / kg dos veces al día durante 4 días a través de inyección intraperitoneal generó hiperactividad locomotora horizontal (Akillioglu *et al.*, 2012), de igual manera en otro estudio se observó que ratas prepúberes eran más sensibles a la elevación de los efectos locomotores con PCP a dosis de 1.5 mg / kg y 3.0 mg / kg (Jacobs *et al.*, 2000). Aunado a ello también se ha señalado que la ketamina en dosis de 15 y 25 mg / kg acrecentó la actividad locomotora en ratas postpúberes (Comim *et al.*, 2015). Lo que se puede atribuir a que la red de ganglios basales (GB) están implicados en el control y velocidad del movimiento, y en condiciones patológicas se presentan movimientos no deseados, como los manifestados en los trastornos hiperkinéticos.

Lo anterior se ha asociado en la esquizofrenia a la desregulación (exceso de DA) de la vía dopaminérgica nigroestriada (la cual desempeña un papel clave en el control de los movimientos motores), que proyecta desde la sustancia negra del troncoencéfalo a los ganglios basales o estriado (Beninger & Olmstead, 2000; Bonsi *et al.*, 2011; Yin, 2014).

## **Incremento de estereotipias**

Las estereotipias son patrones de comportamiento repetitivos e invariables que no tienen un objetivo o una función obvias, las cuáles están restringidas a animales en cautividad y a humanos con enfermedades o disminuciones mentales, así como a individuos a los que se les han suministrado drogas estimulantes. En estos casos las estereotipias se consideran anormales, a pesar de que posiblemente son un producto de procesos de comportamiento normales. Las estereotipias a menudo se asocian con aspectos subóptimos del ambiente pasado o presente del individuo, y se han utilizado como indicadores de bienestar. Ciertas pruebas empíricas

relacionan las estereotipias con una baja conciencia de los sucesos externos y con un estado de excitación reducido y angustia (Gainetdinov *et al.*, 2001).

Además, las estereotipias son heterogéneas en cuanto a varios aspectos: su fuente de origen; su causa próxima; y sus características físicas, y van cambiando a lo largo del tiempo en varios aspectos importantes, de modo que cada vez se generan más fácilmente y debido a un rango más amplio de circunstancias. Teniendo en cuenta estas características, el campo cerrado constituye para la rata un medio adverso (nivel medio o moderado de estrés) que inducirá en el animal un aumento de emotividad, un aumento que suele traducirse como una pérdida de su capacidad exploratoria (Gainetdinov *et al.*, 2001).

Debido a que algunos pacientes esquizofrénicos presentan "agitación psicomotora", que incluye movimientos estereotípicos aumentados, la hiperactividad, se ha demostrado en diversos modelos animales de la esquizofrenia (Lipska y Weinberger, 2000 ). Con base a lo anterior estudios en roedores, han informado que la administración de fármacos como MK801, PCP, ketamina y estimulantes dopaminérgicos como, anfetamina y cocaína induce comportamientos repetidos ("estereotipados"), como locomoción, olfato y masticación, que pueden estar relacionados con los síntomas positivos de psicosis (Gainetdinov *et al.*, 2001).

Las estereotipias fueron evaluadas en ratas adultas mediante el programa Versamax, el cual demostró un incremento durante los primeros 5-10 minutos del ensayo, en animales tratados con KYN y KYN+PROB. Lo anteriormente mencionado es comparable con lo encontrado en la literatura resultados obtenidos ya que en un estudio realizado por Sams-Dodd se observó que la administración continua en ratas adultas de PCP (18 a 107  $\mu\text{mol} / \text{kg} / \text{día}$ , 5,0 a 30  $\text{mg} / \text{kg} / \text{día}$ ) indujeron un comportamiento estereotipado y una hiperactividad locomotora dependientes de la dosis (Sams-Dodd 1997). De igual manera se ha informado que las estereotipias y locomoción incrementada están mediadas por la DA liberada en el estriado y núcleo accumbens, respectivamente (Sharp *et al.*, 1987).

## Relación DA y HVA

La DA es un neurotransmisor que se produce en la sustancia nigra y las regiones ventral tegmental del cerebro, las proyecciones dopaminérgicas se dividen en la región nigroestriatal, mesolímbica y mesocortical (Olney & Farber, 1995; Wu et al., 2006). En los últimos años se ha sugerido que este neurotransmisor podría estar implicado en la génesis de la esquizofrenia, la hipótesis dopaminérgica establece que existen anomalías de DA en las regiones cerebrales mesolímbica y prefrontal en este trastorno (Olney & Farber, 1995; Wu *et al.*, 2006).

La manifestación de síntomas psicóticos en pacientes esquizofrénicos, llevaron a la inferencia de que los niveles incrementados de metabolitos de DA son resultado de una hiperdopaminergia estriatal generada por la estimulación de los receptores dopaminérgicos del neostriado (NE) (modulan la liberación de DA estriatal), la cual es producida por la activación de receptores dopaminérgicos postsinápticos localizados en las neuronas espinosas de tamaño mediano (NEMs)), así como una hiperdopaminergia subcortical principalmente en los ganglios basales (Davis *et al.*, 1991; Pérez Costas *et al.*, 2010; Yoon *et al.*, 2013). En relación a lo anterior se observaron que los niveles de DA, así como el recambio HVA/DA, fueron elevados en los grupos de KYN y KYN+PROB tanto para la región estriatal como cortical, lo cual concuerda con un estudio realizado en el 2006, por Nilsson y sus colaboradores donde se mostró que la elevación de KYNA (exposición subcrónica de KYN y PROB en ratas a una dosis de 20 mg/kg y 10 mg/kg, respectivamente, durante 14 días) se asocia con una mayor actividad de las neuronas dopaminérgicas en el área tegmental ventral (ATV) (Nilsson *et al.*, 2006). También se han visto que la inyección de una dosis subanestésica de ketamina (30 mg/kg, *ip*) aumentó los niveles extracelulares de DA en cuerpo estriado (Moghaddam *et al.*, 1997), de igual manera existen reportes donde el recambio DOPAC/DA estaba incrementado en animales tratados con PCP (Hatip-Al-Khatib *et al.*, 2001), se ha estipulado que tanto HVA/DA como DOPAC/DA (aunque es más utilizado el HVA ya que refleja la actividad dopaminérgica central) pueden utilizarse como indicador de la actividad funcional de las vías dopaminérgicas (Feldman *et al.*, 1997). Por otro lado se ha inferido que



los rNMDA están implicados en la liberación de DA en la corteza frontal y el cuerpo estriado en pacientes con esquizofrenia (Castner & Williams, 2007 ; Javitt, 2007 ; Balla *et al.*, 2012; Laruelle, 2014).

## **Relación de glutamato/GABA**

La esquizofrenia es una enfermedad psiquiátrica crónica grave, caracterizada por alucinaciones y delirios. Las evidencias experimentales, han llevado al convencimiento de que la neurotransmisión glutamatérgica está implicada en la enfermedad, lo que se conoce como «hipótesis de la hipofunción de los rNMDA». Esta teoría, propuesta inicialmente por Onley y Farber en 1995, postula que la alteración de los rNMDA conduciría a una disminución en la liberación de glutamato, lo cual ha sido reportado en la corteza frontal y temporal de los pacientes con esquizofrenia (Sherman *et al.*, 1991). Sin embargo, la magnitud y la extensión de los cambios glutamatérgicos en la esquizofrenia no son claros ya que en la literatura hay discrepancias referentes a los valores de glutamato obtenidos. En un estudio donde el KYNA, fue producido localmente por perfusión mediante concentraciones fisiológicas de KYN, disminuyó los niveles de glutamato en la CPF (Hui-Qiu *et al.*, 2014), de igual manera Pocivavsek en el 2012, mostró que ratas alimentadas con KYN (100 mg/kg), desde el día gestacional 15 al día postnatal 21, redujeron los niveles de glutamato extracelular en hipocampo en la edad adulta. Sin embargo, otro estudio indicó que la administración de 3,4-dimetoxi-N-[4-(3-nitrofenil) tiazol] bencenosulfonamida (Ro61-8048) (el cual aumenta la concentración de KYNA dentro del SNC mediante la inhibición de la KMO) a una dosis de 100mg/kg en ratas durante la última semana de gestación a una dosis de 100 mg/kg, incrementó la densidad de las terminales de liberación de glutamato en la región hipocampal (Khalil *et al.*, 2014). También se ha reportado que dosis bajas de ketamina (10, 20 y 30 mg/kg) aumentan el flujo de salida de glutamato en el CPF (Moghaddam *et al.*, 1997). Debido a que la metodología usada en este trabajo no discriminaba al glutamato y GABA activo del vesiculado (contabilizando el glutamato y GABA total) se llegó a la determinación de evaluar los efectos de KYN y / o PROB sobre la

relación directa Glutamato/ GABA en el tejido cerebral de ratas adultas, en donde se pudo notar que solamente el grupo tratado con KYN mostró diferencias en la región hipocampal, este incremento podría deberse a un mecanismo de compensación.

En este estudio, se exploró a largo plazo las consecuencias neuroquímicas y conductuales del tratamiento interrumpido de KYN durante el desarrollo postnatal en ratas. Los resultados presentes están en consonancia con un gran número de informes sobre los deterioros cognitivos manifestados a largo plazo, después de intervenciones experimentales postnatales tempranas. Estudios recientes han demostrado que el tratamiento prolongado de KYN en la adolescencia (PND 27-53 y PND 42-49) aumenta los niveles de KYNA durante el periodo de tratamiento, y produce déficits de memoria y la disminución de la conducta social cuando las ratas son adultas, a pesar de tener niveles normales KYNA en el momento de las pruebas de comportamiento (Akagbosu *et al.*, 2012; Trecartin & Bucci, 2011, Pocivavsek *et al.*, 2014). Del mismo modo, el tratamiento con comida enriquecida de KYN desde el día gestacional 15 al día postnatal 21 en crías de rata, aumentó la concentración de KYNA en la descendencia, la cual en la adultez presentó un deterioro en la atención y la memoria (Pocivavsek *et al.*, 2012; Alexander *et al.*, 2013). Así mismo se ha observado que la cognición y el comportamiento social en la edad adulta no se ven afectados de manera uniforme en ratas recién nacidas tratadas con inyecciones repetidas de KYN (100 mg/kg) durante el PND 7-10 (Iaccarino *et al.*, 2013), también se sugirió que la disminución en el comportamiento locomotor contribuyó a la reducción en las interacciones sociales exhibidos por ratas tratadas previamente con L-KYN. Para el caso de modelos genéticos se ha demostrado que ratones genéticamente modificados con una disminución de la expresión de rNMDA (cepa neo NR1<sup>-/-</sup>) que sólo expresa del 5-10% de la proteína de la subunidad NR1, se ha visto alterada tanto la actividad locomotora (Duncan *et al.*, 2004) como la conducta social (Mohn *et al.*, 1999 ; Mohn *et al.*, 1999; Duncan *et al.*, 2004 ; Moy *et al.*, 2008).

Aunque en los últimos años, en varios laboratorios han sido exploradas las manipulaciones de la VK en edades prenatales o adolescentes y se ha estudiado sus efectos sobre el comportamiento en animales adultos, poca investigación se ha centrado en el aumento de la concentración de KYNA en períodos de tiempo postnatales prolongados y los efectos a largo plazo en el comportamiento social, así como las relaciones de neurotransmisores y sus metabolitos implicados. Cabe destacar que en el presente estudio se utilizó éste régimen de administración (ciclo de 3 días de inyección seguido de 3 días sin inyección) de acuerdo al protocolo de Akagbosu (2012), para minimizar el potencial de adaptaciones metabólicas tras el tratamiento sistémico crónico con KYN. Las posibles explicaciones para los resultados contrastantes con Schwarcz (2012) en cuanto a la valoración de glutamato, y Akagbosu (2012) e Iaccarino (2013) referente a la actividad locomotora, pueden estar relacionados con los respectivos regímenes de tratamiento (aplicación continua de KYN vs administración interrumpida), el modo y la dosis de administración de KYN (100 mg/kg administrados intraperitonealmente y en la comida vs 15 mg/kg vía intraperitoneal), las pruebas neuroquímicas seleccionadas (HPLC de microdializado vs HPLC de tejido total) y la edad de los animales cuando se inició el tratamiento (GD 15-PD 21 y PD 7-10 vs PD 7-21).

Debido a que tanto receptores  $\alpha 7nACh$  como RNMDA están implicados críticamente en el aprendizaje y la memoria (Levin *et al.*, 2006; Robbins & Murphy, 2006), parece razonable especular que un incremento en los niveles de KYNA prenatal y postnatal, aumentará la inhibición de estos receptores, lo que puede tener un impacto adverso en los procesos de desarrollo. Sin embargo, hay evidencia que los RNMDA en el cerebro se desarrollan hasta el día embrionario 19, en los cuales se establece la cantidad que mantendrá hasta la edad adulta (Sánchez *et al.*, 2010), mientras que el desarrollo de receptores  $\alpha 7nACh$  es más prolongado y los niveles máximos no se observan hasta la tercera semana posnatal (Adams, 2003). Por lo tanto, los efectos después del tratamiento con L-KYN y KYN+PROB del PND 7-21, es más probable que sea mediada por los  $\alpha 7nACh$ , que por los rNMDA.

---

## **VIII. CONCLUSIÓN**

---

Aunque los tres tratamientos postnatales generaron cambios significativas en la conducta social, actividad locomotora y perfiles bioquímicos de DA, solamente el grupo de KYN mostró cambios en la relación Glutamato-GABA, lo que parece indicar que el PROB y su combinación con el KYNA no interactúa de manera sinérgica (bajo este régimen de tratamiento y la dosis utilizadas) y no evidencia sus efectos en todos los parámetros evaluados. Sin embargo, sería adecuado volver a reconsiderar estos tratamientos (PROB y KYN+PROB) durante un tiempo más prolongado, es decir tanto prenatal como postnatalmente, para evaluar si durante ese periodo donde los rNMDA se encuentra más susceptibles, se genera una hipofunción más notoria y por ende tanto las pruebas conductuales como los perfiles bioquímicos muestran diferencias contundentes. Así mismo sería interesante en estudios futuros valorar tanto la expresión tanto de rNMDA como  $\alpha 7nACh$  para dilucidar que receptores se encuentran más estrechamente ligados a esta patología.

---

## **IX. BIBLIOGRAFÍA**

---

- Abi-Dargham A., Gil R., Krystal J., Baldwin R. M., Seibyl J.P., Bowers M., van Dyck C.H., Charney D.S., Innis R.B., Laruelle M., 1998. Increased striatal dopamine transmission in schizophrenia: confirmation in a second cohort. *Am J Psychiatry*, 155: 761-767.
- Adams C.E., 2003. Comparison of alpha7 nicotinic acetylcholine receptor development in the hippocampal formation of C3H and DBA/2 mice. *Brain Res Dev Brain Res*, 143: 137-149.
- Adolphs R., 2001. The neurobiology of social cognition. *Curr. Opin. Neurobiol*, 2: 231–239.
- Akagbosu C.O., Evans G.C., Gulick D., Suckow R.F., Bucci D.J., 2012. Exposure to kynurenic acid during adolescence produces memory deficits in adulthood. *Schizophrenia Bull*, 38: 769-778.
- Akillioglu K., Binokay S., Kocahan S., 2012. The effect of neonatal N-methyl-D-aspartate receptor blockade on exploratory and anxiety-like behaviors in adult BALB/c and C57BL/6 mice. *Behav Brain Res*, 233: 157-161.
- Alexander K.S., Pocivavsek A., Wu H.Q., Pershing M.L., Schwarcz R., Bruno J.P., 2013. Early developmental elevations of brain kynurenic acid impair cognitive flexibility in adults: reversal with galantamine. *Neuroscience*, 238: 19-28.
- Amodio D.M., Frith C.D., 2006. Meeting of minds: the medial frontal cortex and social cognition. *Nat Rev Neurosci*, 7: 268-277.
- Andreasen, N.C., 2000. Schizophrenia: fundamental questions. *Brain. Res. Rev*, 31: 106-112.
- Andreasen N.C., 1995. Symptoms, signs, and diagnosis of schizophrenia. *Lancet*, 346: 477–481.
- Angrist B.M., Gershon S., 1970. The phenomenology of experimentally induced amphetamine psychosis — preliminary observations. *Biol Psychiatry*, 2: 95-107.
- Archer J., Hay D.C., Young A.W., 1994. Movement, face processing and schizophrenia: evidence of a differential deficit in expression analysis. *Br. J. Clin. Psychol*, 33: 45–61.
- Bahn A., Ljubojevic M., Lorenz H., Schultz C., Ghebremedhin E., Ugele B., Sabolic I., Burckhardt G., Hagos Y., 2005. Murine renal organic anion transporters mOAT1

and mOAT3 facilitate the transport of neuroactive tryptophan metabolites. *Am J Physiol Cell Physiol*, 289: 1075-1084.

Balla A., Schneider S., Sershen H., Javitt D.C., 2012. Effects of novel, high affinity glycine transport inhibitors on frontostriatal dopamine release in a rodent model of schizophrenia. *Eur Neuropsychopharmacol*, 22: 902–1010.

Ballerini P., Di Iorio P., Ciccarelli R., Nargi E., D'Alimonte I., Traversa U., Rathbone M. P., Caciagli F., 2002. Glial cells express multiple ATP binding cassette proteins which are involved in ATP release. *Neuroreport*, 13: 1789-1792.

Barges-Coll J., Pérez-Neri I., Avendaño J., Mendez-Rosito D., Gomez-Amador J.L., Ríos C., 2013. Plasma taurine as a predictor of poor outcome in patients with mild neurological deficits after aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *J Neurosurg*, 119:1021–1027.

Becker A., Peters B., Schroeder H., Mann T., Huether G., Grecksch G., 2003. Ketamine-induced changes in rat behaviour: a possible animal model of schizophrenia. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 27: 687-700.

Beninger R., Olmstead M., 2000. The role of dopamine in the control of locomotor activity and reward-related incentive learning; in: *Brain Dynamics and the Striatal Complex*, eds. Miller R, Wickens J. Amsterdam, NL: Harwood Academic Press, 29-50.

Berger A.J., Dieudonne S., Ascher P., 1998. Glycine uptake governs glycine site occupancy at NMDA receptors of excitatory synapses. *J. Neurophysiol*, 80: 3336-33340.

Bergeron R., Meyer T.M., Coyle J.T., Green R.W., 1998. Modulation of the N-methyl-D-aspartate receptor function by glycine transport. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 95: 15730-15734.

Boksa P., 2004. Animal models of obstetric complications in relation to schizophrenia. *Brain Res Brain Res Rev*, 45:1-17.

Bonsi P., Cuomo D., Martella G., Madeo G., Schirinzi T, Puglisi F., 2011. Centrality of striatal cholinergic transmission in Basal Ganglia function. *Front Neuroanat*, 5: 6-10.

Brebion G., David A.S., Jones H.M., Ohlsen R., Pilowsky L.S. 2007. Temporal context discrimination in patients with schizophrenia: associations with auditory hallucinations and negative symptoms. *Neuropsychologia*, 45:817-823.

Breier A., Saunders R., Carson R.E., Kolachana B.S., Weinberger D.R., Weisenfeld N., Malhotra A.K., Eckelman W.C., Pickar D., 1997. Schizophrenia is associated with

elevated amphetamine-induced synaptic dopamine concentrations: evidence from a novel positron emission tomography method. *Proc Natl Acad Sci USA*, 94: 2569-2574.

Bubser M., Keseberg U., Notz P. K., Schmidt W. J., 1992. Differential behavioural and neurochemical effects of competitive and non-competitive NMDA receptor antagonists in rats. *Eur. J. Pharmacol*, 229:75–82.

Canuet L., Ishii R., Iwase M., Ikezawa K., Kurimoto R., Takahashi H., Currais A., Azechi M., Nakahachi T., Hashimoto R., Takeda M., 2010. Working memory abnormalities in chronic interictal epileptic psychosis and schizophrenia revealed by magnetoencephalography. *Epilepsy Behav*, 1:109-119.

Carlsson A., 1988. The current status of the dopamine hypothesis of schizophrenia. *Neuropsychopharmacology*, 1: 179-186.

Carlsson A., 1995. The dopamine theory revisited. In: Hirsch SR, Weinberger DR, editors. *Schizophrenia*. Oxford: Blackwell Science, 379-400.

Carrillo-Mora P., Méndez-Cuesta L.A., Pérez-De La Cruz V., Fortoul-van Der Goes T.I., Santamaría A., 2010. Protective effect of systemic L-kynurenine and probenecid administration on behavioural and morphological alterations induced by toxic soluble amyloid beta (25-35) in rat hippocampus. *Behav. Brain Res*, 210: 240-250.

Castner S.A, Williams G.V., 2007. Tuning the engine of cognition: a focus on NMDA/D1 receptor interactions in prefrontal cortex. *Brain Cogn*, 63: 94–122.

Chauvel V., Pardutz A., Vecsei L., Schoenen J., Multon S., 2012. Effect of systemic kynurenine on cortical spreading depression and its modulation by sex hormones in rat. *Exp Neurol*, 236: 207-214.

Chen L., Muhulhauser M., Yang C.R., 2003. Glycine transporter 1 blockade potentiates NMDA-mediated responses in rat prefrontal cortical neurons in vitro and in vivo. *J. Neurophysio*, 89: 691-703.

Chess A.C., Bucci D.J., 2006. Increased concentration of cerebral kynurenic acid alters stimulus processing and conditioned responding. *Behav Brain Res*, 170:326-332.

Chess A.C., Simoni M.K., Alling T.E., Bucci D.J., 2007. Elevations of endogenous kynurenic acid produce spatial working memory deficits. *Schizophr Bull*, 33: 797-804.

Chiba S., Ikawa T., Takeshita H., Ichiba K., Sagi M., Mukai T., Anzai N., 2011. Interactions of human organic anion transporter 1 (hOAT1) with substances associated with forensic toxicology. *Leg. Med. (Tokyo)*, 13: 180-185.

Clineschmidt B.V., Martin, G.E., Bunting, P.R., 1982. Anticonvulsant activity of (+)-5-methyl-10,11-dihydro-5H-dibenzo[a,d]cyclohepten-5,10-imine (MK-801), a substance with potent anticonvulsant, central sympathomimetic, and apparent anxiolytic properties. *Drug Dev. Res*, 2: 123-134.

Colabroy K.L., Begley T.P., 2005. Tryptophan catabolism: identification and characterization of a new degradative pathway. *J Bacteriol*, 187: 7866–7869.

Comim C.M., Silva N.C., Patrício J., Palmas D., Mendonça B.P., Bittencourt M.O., Cassol-Jr O.J., Barichello T., Zugno A.I., Quevedo J., Dal-Pizzol F., 2015. Effect of sepsis on behavioral changes on the ketamine-induced animal model of schizophrenia. *J Neuroimmunol*, 281: 78-82.

Corrigan P.W., Addis I.B., 1995. The effect of cognitive complexity on a social sequencing task in schizophrenia. *Schizophr. Res*, 16: 137–144.

Corrigan P.W., Green M.F. 1993., Schizophrenic patients' sensitivity to social cues: the role of abstraction. *Am. J. Psychiatry*, 150: 589–594.

Crawley J.N. 2004., Designing mouse behavioral tasks relevant to autistic-like behaviors. *Mental retardation and developmental disabilities research reviews*, 10: 248–258.

Cull-Candy S., Briley S., Farrant M., 2001. NMDA receptor subunits: diversity, development and disease. *Curr. Opin. Neurobiol*, 11: 327-333.

Davis K.L., Kahn R.S., Ko G.N., Davidson M., 1991. Dopamine in schizophrenia: a review and reconceptualization. *American Journal of Psychiatry*, 148: 1474-1486.

De Moura Linck V., Herrmann A.P., Goerck G.C., Iwu M.M., Okunji C.O., Leal M.B., Elisabetsky E., 2008. The putative antipsychotic alstonine reverses social interaction withdrawal in mice. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 32: 1449-1452.

Deakin J., Lees J., McKie S., Hallak J., Williams S., Dursun S., 2008. Glutamate and the neural basis of the subjective effects of ketamine: a pharmaco-magnetic resonance imaging study. *Arch Gen Psychiatry*, 65: 154–164.

Dingledine, R.; Borges, K.; Bowie, D. and Traynelis, S.F. 1999. The glutamate receptors ion channels. *Pharmacol. Rev.* 51: 7-61.

Dworkin R.H., Opler L.A., 1992. Simple schizophrenia, negative symptoms, and prefrontal hypodopaminergia. *Am J Psychiatry*, 149: 1284-1285.

Duncan G.E., Moy S.S., Perez A., Eddy D.M., Zinzow W.M., Lieberman J.A., Snouwaert J.N., Koller B.H., 2004. Deficits in sensorimotor gating and tests of social behavior in a genetic model of reduced NMDA receptor function. *Behav Brain Res*, 153: 507-519.



- El-Sheikh A.A., Masereeuw R., Russel F.G., 2008. Mechanisms of renal anionic drug transport. *Eur J Pharmacol*, 585: 245-255.
- Engelmann M., Wotjak C.T., Landgraf R., 1995. Social discrimination procedure: an alternative method to investigate juvenile recognition abilities in rats. *Physiol Behav*, 58: 315-321.
- Erhardt S., Blennow K., Nordin C., Skogh E., Lindstrom L.H., Engberg G., 2001a. Kynurenic acid levels are elevated in the cerebrospinal fluid of patients with schizophrenia. *Neurosci Lett*, 313: 96-98.
- Erhardt S., Oberg H., Mathe J.M., Engberg G., 2001b. Pharmacological elevation of endogenous kynurenic acid levels activates nigral dopamine neurons. *Amino Acids*, 20: 353-362.
- Erhardt S., Schwieler L., Emanuelsson C., Geyer M., 2004. Endogenous kynurenic acid disrupts prepulse inhibition. *Biol Psychiatry*, 56: 255–260.
- Erhardt S., Pocivavsek A., Repici M., Liu X., Imbeault S., Maddison D., Thomas M.A.R., Smalley J.L., Larsson M.K., Muchowski P.J., 2016. Adaptive and Behavioral Changes in Kynurenine 3-Monooxygenase Knockout Mice: Relevance to Psychotic Disorders. *Biological Psychiatry*, 10: 10-16.
- Fatokun A. A., Smith R. A., Stone T. W., 2008. Resistance to kynurenic acid of the NMDA receptor-dependent toxicity of 3-nitropropionic acid and cyanide in cerebellar granule neurons. *Brain Res*, 1215: 200-207.
- Feldman R.S., Meyer J.S., Quenzer L.F., 1997. Principles of neuropsychopharmacology. Sunderland MA: Sinauer Associates, Inc., 277-344.
- Forrest C.M., Khalil O.S., Pizar M., Darlington L.G., Stone TW., 2013. Prenatal inhibition of the tryptophan-kynurenine pathway alters synaptic plasticity and protein expression in the rat hippocampus. *Brain Res*, 1504: 1-15.
- Freud, S., 1924a. "Neurosis, and psychosis," in *The Standard Edition of the Complete Psychological Works of Sigmund Freud* trans. J. Strachey ed. Strachey J., editor. (New York: W.W. Norton & Company).
- Freud S., 1924b. "The loss of reality in neurosis, and psychosis," *The Standard Edition of the Complete Psychological Works of Sigmund Freud* trans. J. Strachey ed. Strachey J., editor. (New York: W.W. Norton & Company).
- Foster A., Vezzani A., French E.D., Schwarcz R., 1984. Kynurenic acid blocks neurotoxicity and seizures induced in rats by the related brain metabolite quinolinic acid. *Neurosci. Lett*, 48: 273-278.

- Fukui S., Schwarcz R., Rapoport S.I., Takada Y., Smith Q.R., 1991. Blood-brain barrier transport of kynurenines: implications for brain synthesis and metabolism. *J Neurochem*, 56: 2007-2017.
- Gainetdinov R.R., Mohn A.R., Caron M.G., 2001. Genetic animal models: Focus on schizophrenia. *Trends Neurosci*, 24: 527–533.
- Gál E.M., Sherman A.D., 1978. Synthesis and metabolism of L-kynurenine in rat brain. *J Neurochem*, 30: 607-613.
- Garcia E., Limon D., Perez-De La Cruz V., Giordano M., Diaz-Muñoz M., Maldonado P.D., Herrera-Mundo M.N., Pedraza-Chaverri J., Santamaria A., 2008. Lipid peroxidation, mitochondrial dysfunction and neurochemical and behavioural deficits in different neurotoxic models: protective role of S –allylcysteine. *Free Radic.Res*, 42: 892–902.
- Geyer M.A., Segal D.S., Greenberg B.D., 1984. Increased startle responding in rats treated with phencyclidine. *Neurobehav Toxicol Teratol*, 6: 161-164.
- Glazier A.M., Nadeau J.H., Aitman T.J., 2002. Finding genes that underlie complex traits. *Science*, 298: 2345–2349.
- Gogtay N., Lu A., Leow A.D., Klunder A.D., Lee A.D., Chavez A., Gied J.N., Toga A.W., Rapoport J.L., Thompson P.M., 2008. Three-dimensional brain growth abnormalities in childhood-onset schizophrenia visualized by using tensor-based morphometry. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 41: 15979–15984.
- Gollapudi S., Kim C.H., Tran B. N., Sangha S., Gupta S., 1997. Probenecid reverses multidrug resistance in multidrug resistance-associated protein-overexpressing HL60/AR and H69/AR cells but not in P-glycoprotein-overexpressing HL60/Tax and P388/ADR cells. *Cancer Chemother. Pharmacol*, 40: 150-158.
- Gould T.J., Higgins J.S., 2003. Nicotine enhances contextual fear conditioning in C57BL/6J mice at 1 and 7 days post-training. *Neurobiol Learn Mem*, 80:147–157.
- Greig T.C., Bryson G.J., Bell M.D., 2004. Theory of mind performance in schizophrenia: diagnostic, symptom, and neuropsychological correlates. *J. Nerv. Ment. Dis*, 192: 12–18.
- Grunwald T., Beck H., Lehnertz K., Blumcke I., Pezer N., Kurthen M., 1999. Evidence relating human verbal memory to hippocampal N-methyl-D-aspartate receptors. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 96: 12085-12089.
- Guidetti P., Amori L., Sapko M.T., Okuno E., Schwarcz R., 2007. Mitochondrial aspartate aminotransferase: a third kynurenate-producing enzyme in the mammalian brain. *J Neurochem*, 102:103–111.

- Gutman J., Kachur S. P., Slutsker L., Nzila A., Mutabingwa T., 2012. Combination of probenecid-sulphadoxine-pyrimethamine for intermittent preventive treatment in pregnancy. *Malar. J*, 1: 11-39.
- Habel U., Windischberger C., Derntl B., Robinson S., Kryspin-Exner I., Gur R.C., Moser E., 2007. Amygdala activation and facial expressions: explicit emotion discrimination versus implicit emotion processing. *Neuropsychologia*, 45: 2369-2377.
- Han Q., Robinson H., Cai T., Tagle D.A., Li J., 2009. Biochemical and structural properties of mouse kynurenine aminotransferase III. *Mol Cell Biol*, 29: 784–793.
- Harich S., Gross G., Bernalov A., 2007. Stimulation of the metabotropic glutamate 2/3 receptor attenuates social novelty discrimination deficits induced by neonatal phencyclidine treatment. *Psychopharmacology*, 192: 511-519.
- Hart L.G., Schanker L.S., 1966. Active transport of chlorothiazide into brain. *AJP-Legacy*, 211: 643-646
- Hatip-Al-Khatib I., Mishima K., Iwasaki K., Fujiwara M., 2001. Microdialysates of amines and metabolites from core nucleus accumbens of freely moving rats are altered by dizocilpine. *Brain Res*, 902: 108-118.
- Hertzmann M., Reba R., Kotlyarov E., 1990. Single photon emission computed tomography in phencyclidine and related drug abuse. *Am J Psychiatry*, 147: 255–256.
- Hilmas C., Pereira E.F., Alkondon M., Rassoulpour A., Schwarcz R., Albuquerque E.X., 2001. The brain metabolite kynurenic acid inhibits  $\alpha 7$  nicotinic receptor activity and increases non- $\alpha 7$  nicotinic receptor expression: physiopathological implications. *J Neurosci*, 21: 7463-7473.
- Hodgkins P.S., Schwarcz R., 1998. Metabolic control of kynurenic acid formation in the rat brain. *Dev Neurosci*, 20: 408–416.
- Howes O.D., Kapur S., 2009. The dopamine hypothesis of schizophrenia: version III-the final common pathway. *Schizophrenia Bull*, 3: 549-562.
- Hui-Qiu W., Edna F.R., Pereira J.P. Bruno R. P., Albuquerque E.X., Schwarcz R., 2010. The Astrocyte-Derived  $\alpha 7$  Nicotinic Receptor Antagonist Kynurenic Acid Controls Extracellular Glutamate Levels in the Prefrontal Cortex. *J Mol Neurosci*, 40: 204–210.
- Iaccarino H.F., Suckow R.F., Xie S., Bucci D.J., 2013. The effect of transient increases in kynurenic acid and quinolinic acid levels early in life on behavior in adulthood: Implications for schizophrenia. *Schizophr Res*, 150: 392-397.

Ilett K.F., Hackett L.P., Ingle B., Bretz P.J., 2006. Transfer of probenecid and cephalexin into breast milk. *Ann. Pharmacother*, 40: 986-989.

Jacobs P.S., Taylor B.M., Bardgett M.E., 2000. Maturation of locomotor and Fos responses to the NMDA antagonists, PCP and MK-801. *Brain Res Dev Brain Res*, 122: 91-95.

Javit, D.C., 2007. Glutamate and schizophrenia: phencyclidine, N-methyl-D-aspartate receptors, and dopamine-glutamate interactions. *Int. Rev. Neurobiol*, 78: 69-108.

Javitt D.C., Zukin S.R., 1991. Recent advances in the phencyclidine model of schizophrenia. *Am J Psychiatry*, 148: 1301-1318.

Kaidanovich-Beilin O., Lipina T., Vukobradovic I., Roder J., Woodgett J.R., 2011. Assessment of social interaction behaviors. *J Vis Exp*, 48: 2473.

Kamiya A., Kubo K.I., Tomoda T., Takaki M., Youn R., Ozeki Y., 2005. A schizophrenia-associated mutation of DISC1 perturbs cerebral cortex development. *Nat Cell Biol*, 7: 1067–1078.

Keefe R.S., Roitman S.E., Harvey P.D., A pen-and-paper human analogue of a monkey prefrontal cortex activation task: spatial working memory in patients with schizophrenia. *Schizophr Res*, 17: 25–33.

Khaitovich P., Lockstone H.E., Wayland M.T., Tsang T.M., Jayatilaka S.D., Guo A.J., Zhou J., Somel M., Harris L.W., Holmes E., 2008. Metabolic changes in schizophrenia and human brain evolution. *Genome Biol*, 9: 124.

Kojima R., Sekine T., Kawachi M., Cha S.H., Suzuki Y., Endou H., 2002. Immunolocalization of multispecific organic anion transporters, OAT1, OAT2, and OAT3, in rat kidney. *J. Am. Soc. Nephrol*, 13: 8548-8563.

Kokkinidis L., Anisman H., 1980. Amphetamine models of paranoid schizophrenia: an overview and elaboration of animal experimentation. *Psychol Bull*, 88: 551-579.

Krystal J.H., Karper L.P., Seibyl J.P., 1994. Subanaesthetic effects of the noncompetitive NMDA antagonist, ketamine, in humans. Psychotomimetic, perceptual, cognitive, and neuroendocrine responses. *Arch. Gen. Psychiatry*, 51: 199–214.

Krystal J.H., Perry E.B., Gueorguieva R., Belger A., Madonick S.H., Abi-Dargham A., Cooper T.B., Macdougall L., Abi-Saab W., D'Souza D.C., 2005. Comparative and interactive human psychopharmacologic effects of ketamine and amphetamine: implications for glutamatergic and dopaminergic model psychoses and cognitive function. *Arch. Gen. Psychiatry*, 62: 985-994.

- Kupferberg H.J., Burkhalter A., Way E.L., 1964. Fluorometric identification of sub-microgram amounts of morphine and related compounds on thin-layer chromatographs. *J Chromatogr*, 16: 558-559.
- Lahti A.C., Holcomb H.H., Medoff D.R., Tamminga C.A., 1995a. Ketamine activates psychosis and alters limbic blood flow in schizophrenia. *Neuroreport*, 6: 869-872.
- Lahti A.C., Koffel B., LaPorte D., Tamminga C.A., 1995b. Subanesthetic doses of ketamine stimulate psychosis in schizophrenia. *Neuropsychopharmacol*, 13: 9-19.
- Lapin I.P., 1976. Depressor effect of kynurenine and its metabolites in rats. *Life Sci*, 19: 1479-1484.
- Lapin I.P., 1980. Experimental studies on kynurenine as neuroactive tryptophan metabolites: past, present and future. *Trends Pharmacol. Sci*, 1: 410-413.
- Laruelle M., 1988. Imaging dopamine transmission in schizophrenia. A review and meta-analysis. *Q J Nucl Med*, 42: 211-221.
- Laruelle M., Kegeles L.S., Abi-Dargham A., 2003. Glutamate, dopamine, and schizophrenia: From pathophysiology to treatment. *Ann N Y Acad Sci*, 1003: 138–158.
- Laruelle M., 2014. Schizophrenia: from dopaminergic to glutamatergic interventions. *Curr Opin Pharmacol*, 14: 97–102.
- Law A., Deakin J., 2001. Asymmetrical reductions of hippocampal NMDAR1 glutamate receptor mRNA in the psychoses. *Neuroreport*, 12: 2971–2974.
- Lee P.R., Brady D.L., Shapiro R.A., Dorsa D.M., Koenig J.I., 2005. Social interaction deficits caused by chronic phencyclidine administration are reversed by oxytocin. *Neuropsychopharmacol*, 30: 1883-1894.
- Lehmann-Masten V.D., Geyer M.A., 1991. Spatial and temporal patterning distinguishes the locomotor activating effects of dizocilpine and phencyclidine in rats. *Neuropharmacology*, 30: 629–636.
- Levin E.D., Christopher N.C., 2006. Effects of clozapine on memory function in the rat neonatal hippocampal lesion model of schizophrenia. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*, 30: 223-229.
- Levin E.D., McClernon F.J., Rezvani A.H., 2006. Nicotinic effects on cognitive function: behavioral characterization, pharmacological specification, and anatomic localization. *Psychopharmacology Berl*, 84: 523-539.
- Lewis D.A., Liberman J.A., 2000. Catching up on schizophrenia: natural history and neurobiology. *Neuron*, 28: 325-334.

Lin C.H., Lane H.Y., Tsai G.E., 2012 Glutamate signaling in the pathophysiology and therapy of schizophrenia. *Pharmacol Biochem Behav*, 4: 665-677.

Lipska B.K., 2004. Using animal models to test a neurodevelopmental hypothesis of schizophrenia. *Rev Psychiatry Neurosci*, 29: 282–286.

Lipska B.K.; Lerman N.D.; Khaing Z.Z., Weinberg D.R., 2003. The neonatal ventral hippocampal lesion model of schizophrenia: effects of the dopamine and GABA mRNA markers in the rat midbrain. *Eur.J.Neurosci*, 18: 3097-3104.

Lipska B.K., Weinberg D.R., 2000. To model a psychiatric disorder in animals: schizophrenia as a reality test. *Neuropsychopharmacology*, 23: 223-239.

Löscher W., Hönack D., 1992. The behavioural effects of MK-801 in rats: involvement of dopaminergic, serotonergic and noradrenergic systems. *Eur J Pharmacol*, 215: 199–208.

Lowry O.H., Rosebrough N.J., Farr A.L., Randall R.J., 1951. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem*, 193: 265-275.

Luby E.D., Cohen B.D., Rosenbaum G., Gottlieb J.S., Kelley R., 1959. Study of a new schizophrenomimetic drug; sernyl. *AMA Arch. Neurol. Psychiatry*, 81: 363-369.

Lugo-Huitrón R., Blanco-Ayala T., Ugalde-Muñiz P., Carrillo-Mora P., Pedraza-Chaverrí J., Silva-Adaya D., Maldonado P.D., Torres I., Pinzón E., Ortiz-Islas E., López T., García E., Pineda B., Torres-Ramos M., Santamaría A., La Cruz V.P., 2011. On the antioxidant properties of kynurenic acid: free radical scavenging activity and inhibition of oxidative stress. *Neurotoxicol. Teratol*, 33: 538-547.

Mackay T.F., 2001. The genetic architecture of quantitative traits. *Annu Rev Genet*, 35: 303–339.

Malhotra A., Pinals D., Adler C., Elman I., Clifton A., Pickar D., 1997. Ketamine-induced exacerbation of psychotic symptoms and cognitive impairment in neuroleptic-free schizophrenics. *Neuropsychopharmacology*, 17: 141–150.

Maren S., 1999. Long-term potentiation in the amygdala: a mechanism for emotional learning and memory. *Trends Neurosci*, 22: 561-567.

Martinez G., Ropero C., Funes A., Flores E., Blotta C., Landa A.I., 2002. Effects of selective NMDA and non-NMDA blockade in the nucleus accumbens on the plus-maze test. *Physiol Behav*, 76: 219-924.

Matsuoka T., Tsunoda M., Sumiyoshi T., Takasaki I., Tabuchi Y., Seo T., Tanaka K., Uehara T., Itoh H., Suzuki M., Kurachi M., 2008. Effect of MK-801 on gene expressions in the amygdala of rats. *Synapse*, 62: 1–7.

Miller J.M., MacGarvey U., Beal M.F., 1992. The effect of peripheral loading with kynurenine and probenecid on extracellular striatal kynurenic acid concentrations. *Neurosci Lett*, 146: 115-118.

Miyajima M., Kusahara H., Fujishima M., Adachi Y., Sugiyama Y., 2011. Organic anion transporter 3 mediates the efflux transport of an amphipathic organic anion, dehydroepiandrosterone sulfate, across the blood-brain barrier in mice. *Drug Metab. Dispos*, 39: 814-819.

Moghaddam B., Adams B., Verma A., Daly D., 1997. Activation of glutamatergic neurotransmission by ketamine: a novel step in the pathway from NMDA receptor blockade to dopaminergic and cognitive disruptions associated with the prefrontal cortex. *J Neurosci*, 17: 2921–2927.

Mohn A.R., Gainetdinov R.R., Caron M.G., Koller B.H., 1999. Mice with reduced NMDA receptor expression display behaviors related to schizophrenia. *Cell*, 98: 427-436.

Morgan C., Mofeez A., Brandner B., Bromley L., Curran H., 2004. Acute effects of ketamine on memory systems and psychotic symptoms in healthy volunteers. *Neuropsychopharmacology*, 29: 208–218.

Mori H., Misigna M., 1995. Structure and function of the NMDA receptor channel. *Neuropharmacology*, 34: 1219-1237.

Morland J., 2000. Toxicity of drug abuse — amphetamine designer drugs (ecstasy): mental effects and consequences of single dose use. *Toxicol Lett*, 113: 147-152.

Moroni F., Cozzi A., Sili M., Mannaioni G., 2012. Kynurenic acid: a metabolite with multiple actions and multiple targets in brain and periphery. *J Neural Transm*, 119: 133-139.

Moroni F., Russi P., Lombardi G., Beni M., Carla V., 1988. Presence of kynurenic acid in the mammalian brain. *J Neurochem*, 51: 177-178.

Moy S.S., Nadler J.J., Perez A., Barbaro R.P., Johns J.M., Magnuson T.R., Piven J., Crawley J.N., 2004. Sociability and preference for social novelty in five inbred strains: an approach to assess autistic-like behavior in mice. *Genes Brain Behav*, 3: 287–302.

Moy S.S., Nadler J.J., Poe M.D., Nonneman R.J., Young N.B., Koller B.H., Crawley J.N., Duncan G.E., Bodfish J.W., 2008. Development of a mouse test for repetitive, restricted behaviors: relevance to autism. *Behav Brain Res*, 188: 178-194.

Msghina M., Liberg B., 2009. Schizophrenia, neurodegeneration and antipsychotic agents. *Lakartidningen*, 47: 3183.

Muller N., Schwarz M., 2006. Schizophrenia as an inflammation-mediated dysbalance of glutamatergic neurotransmission. *Neurotox. Res*, 10: 131-148.

Nagata Y., Kusuvara H., Imaoka T., Endou H., Sugiyama Y., 2004. Involvement of rat organic anion transporter 3 in the uptake of an organic herbicide, 2, 4-dichlorophenoxyacetate, by the isolated rat choroid plexus. *J. Pharm. Sci*, 93: 2724-2732.

Nawa H., Takahashi M., Patterson P.H., 2000. Cytokine and growth factor involvement in schizophrenia—support for the developmental model. *Mol Psychiatry*, 5: 594-603.

Nilsson L.K., Linderholm K.R., Engberg G., 2005. Elevated levels of kynurenic acid in the cerebrospinal fluid of male patients with schizophrenia. *Schizophr Res*, 80: 315-322.

Nilsson L.K., Linderholm K.R., Erhardt S., 2006. Subchronic treatment with kynurenine and probenecid: effects on prepulse inhibition and firing of midbrain dopamine neurons. *Journal of Neural Transmission*, 113: 557–571.

Okgawa G., Tamagaki C., Agartz I., 2007. Frontal and temporal volume size of grey and white matter in patients with schizophrenia: an MRI parcellation study. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci*, 257: 304–307.

Olney J.W., Farber N.B., 1995. Glutamate receptor dysfunction and schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry*, 52: 998–1007.

Olsson S., Samuelsson M., Saetre P., 2010. Elevated levels of kynurenic acid in the cerebrospinal fluid of patients with bipolar disorder. *J Psychiatry Neurosci*, 35: 195-199.

Ozeki Y., Tomoda T., Kleiderlein J., Kamiya A., Bord L., Fujii K., 2003. Disrupted-in-Schizophrenia-1 (DISC-1): Mutant truncation prevents binding to NudE-like (NUDEL) and inhibits neurite outgrowth. *Proc Natl Acad Sci USA*, 100: 289–294.

Pappas P.G., Rex J.H., Lee J., Hamill R.J., Larsen R.A., Powderly W., Kauffman C. A., Hyslop N., Mangino J.E., 2003. A prospective observational study of candidemia: epidemiology, therapy, and influences on mortality in hospitalized adult and pediatric patients. *Clin Infect Dis*, 37: 634–643.

Parsons C.G., 2001. NMDA receptors as targets for drug action in neuropathic pain. *Eur J Pharmacol*, 429: 71–78

Perez-Costas E., Melendez-Ferro M., Roberts R.C., 2010. Basal ganglia pathology in schizophrenia: dopamine connections and anomalies. *J Neurochem*, 113: 287-302.



Perkins M.N., Stone T.W., 1982. Specificity of kynurenic acid as an antagonist of synaptic transmission in rat hippocampal slices. *Neurosci. Lett*, 18: 432.

Perwitasari O., Yan X., Johnson S., White C., Brooks P., Tompkins S.M., Tripp R.A., 2013. Targeting organic anion transporter 3 with probenecid as a novel anti-influenza a virus strategy. *Antimicrob. Agents Chemother*, 57: 475-483.

Petryshen T.L., Kirby A., Hammer R.P., Jr Purcell S., Singer J.B., Hill A.E., Nadeau J.H., Daly M.J., Sklar P., 2005. Two Quantitative Trait Loci for Prepulse Inhibition of Startle Identified on Mouse Chromosome 16 Using Chromosome Substitution Strains. *Genetics*, 171: 1895-1890.

Pijnenburg A.J., Honig W.M., Van Rossum J.M., 1975. Inhibition of d-amphetamine-induced locomotor activity by injection of haloperidol into the nucleus accumbens of the rat. *Psychopharmacologia*, 41: 87-95.

Pilowsky L., Bressan R., Stone J., Erlandsson K., Mulligan R., Krystal J., 2006. First in vivo evidence of an NMDA receptor deficit in medication-free schizophrenic patients. *Mol Psychiatry*, 11: 118–119.

Pocivavsek A., Thomas A.R.M., Elmer G.I., Bruno J.P., Schwarcz R., 2014. Continuous kynurenine administration during the prenatal period, but not during adolescence, causes learning and memory deficits in adult rats. *Psychopharmacology*, 231: 2799-2809.

Pocivavsek A., Wu H.Q., Elmer G.I., Bruno J.P., Schwarcz R., 2012. Pre-and postnatal exposure to kynurenine causes cognitive deficits in adulthood. *Eur J Neurosci*, 35: 1605-1612.

Potter M.C., Elmer G.I., Bergeron R., 2010. Reduction of endogenous kynurenic acid formation enhances extracellular glutamate, hippocampal plasticity, and cognitive behavior. *Neuropsychopharmacology*, 35: 1734-1742.

Rantakallio P., Jones P., Moring J., Von Wendt L., 1997. Association between central nervous system infections during childhood and adult onset schizophrenia and other psychoses: a 28-year follow-up. *Int J Epidemiol*, 26: 837-843.

Rapoport J.L., Addington A.M., Frangou S., 2005. The neurodevelopmental model of schizophrenia: update 2005. *Mol Psychiatry*, 10: 434-449.

Rios C., Santamaria A., 1991. Quinolinic acid is a potent lipid peroxidant in rat brain homogenates. *Neurochem. Res*, 16: 1139-1143.

Robbins T.W., Murphy E.R., 2006. Behavioural pharmacology: 40+ years of progress, with a focus on glutamate receptors and cognition. *Trends Pharmacol Sci*, 27: 141-148.

- Robotka H., Sas K., Agoston M., Rózsa E., Szénási G., Gigler G., Vécsei L., Toldi J., 2008. Neuroprotection achieved in the ischaemic rat cortex with L-kynurenine sulphate. *Life Sci*, 82: 915-919.
- Rung J.P., Carlsson A., Rydén M.K., Carlsson M.L., 2005. (+)-MK-801 induced social withdrawal in rats; a model for negative symptoms of schizophrenia. *Prog Neuro-Psychopharmacol Biol Psychiatry*, 29: 827-832.
- Sams-Dodd F., 1995a. Automation of the social interaction test by a video-tracking system: behavioural effects of repeated phencyclidine treatment. *J Neurosci Methods*, 59: 157-167.
- Sams-Dodd F., 1995b. Distinct effects of d-amphetamine and phencyclidine on the social behaviour of rats. *Behav Pharmacol*, 6: 55-65.
- Sams-Dodd F., 1996. Phencyclidine-induced stereotyped behaviour and social isolation in rats: a possible animal model of schizophrenia. *Behav Pharmacol*, 7: 3-23.
- Sams-Dodd F., 1997. Effect of novel antipsychotic drugs on phencyclidine-induced stereotyped behaviour and social isolation in the rat social interaction test. *Behav. Pharmacol*, 8: 196–215.
- Sams-Dodd F., 1997. Phencyclidine in the social interaction test: an animal model of schizophrenia with face and predictive validity. *Rev Neurosci*, 10: 59-90.
- Sanchez J.T., Wang Y., Rubel E.W., Barria A., 2010. Development of glutamatergic synaptic transmission in binaural auditory neurons. *J Neurophysiol*, 104: 1774-1789.
- Santamaría A., Ríos C., Solís-Hernández F., Ordaz-Moreno J., González-Reynoso L., Altagracia M., Kravzov J., 1996. Systemic DLkynurenine and probenecid pretreatment attenuates quinolinic acid-induced neurotoxicity in rats. *Neuropharmacology*, 35: 23-28.
- Sas K., Robotka H., Rózsa E., Agoston M., Szénási G., Gigler G., Marosi M., Kis Z., Farkas T., Vécsei L., Toldi J., 2008. Kynurenine diminishes the ischemia-induced histological and electrophysiological deficits in the rat hippocampus. *Neurobiol. Dis*, 32: 302-308.
- Schwartz T., Sachdeva S., Stahl S., 2012. Glutamate neurocircuitry: theoretical underpinnings in schizophrenia. *Front Pharmacol*, 3: 195.
- Schwarcz R., Bruno P.R., 2002. Manipulation of brain kynurenines: glial targets, neuronal effects, and clinical opportunities. *J Pharmacol Exp Ther*, 303: 1-10.

- Schwarcz R., Rassoulpour A., Wu H.Q., Medoff D., Tamminga C.A., Roberts R.C., 2001. Increased cortical kynurenate content in schizophrenia. *Biol Psychiatry*, 50: 521-530.
- Schwarcz R., Bruno J.P., Muchowski P.J., Hui Q.W., 2012. Kynurenines in the mammalian brain: when physiology meets pathology. *Nature Reviews Neuroscience*, 13: 465-477.
- Sharp T., Zetterstrom T., Ljungberg T., Ungerstedt U., 1987. A direct comparison of amphetamine-induced behaviours and regional brain dopamine release in the rat using intracerebral dialysis. *Brain Res*, 401: 322-330.
- Shepard P.D., Joy B., Clerkin L., Schwarcz R., 2003. Micromolar brain levels of kynurenic acid are associated with a disruption of auditory sensory gating in the rat. *Neuropsychopharmacology*, 28: 1454–1462.
- Sherman A.D., Davidson A.T., Baruah S., Hegwood T.S., Waziri R., 1991. Evidence of glutamatergic deficiency in schizophrenia. *Neurosci Lett*, 121: 77-80.
- Shi L., Fatemi S.H., Sidwell R.W., 2003. Maternal influenza infection causes marked behavioral and pharmacological changes in the offspring. *J Neurosci*, 23: 297-302.
- Segal D., Mandell A., 1974. Long-term administration of d-amphetamine: progressive augmentation of motor activity and stereotypy. *Pharmacol Biochem Behav*, 2: 249–255.
- Seeman P., 1987. Dopamine receptors and the dopamine hypothesis of schizophrenia. *Synapse*, 1: 133-152.
- Seillier A., Martinez A.A., Giuffrida A., 2013. Phencyclidine-induced social withdrawal results from deficient stimulation of cannabinoid CB1 receptors: implications for schizophrenia. *Neuropsychopharmacology*, 38: 1816-1824.
- Silva-Adaya D., Pérez-De La Cruz V., Villeda-Hernández J., Carrillo-Mora P., González-Herrera I.G., García E., Colín-Barenque L., Pedraza-Chaverrí J., Santamaría A., 2011. Protective effect of L-kynurenine and probenecid on 6-hydroxydopamine-induced striatal toxicity in rats: implications of modulating kynurenate as a protective strategy. *Neurotoxicol. Teratol*, 33: 303-312.
- Silver H., Feldman P., Bilker W., Gur R.C., 2003. Working memory deficit as a core neuropsychological dysfunction in schizophrenia. *Am J Psychiatry*, 160: 1809–1816.
- Silvestre J.S., Nadal R., Pallarés M., Ferré N., 1997. Acute effects of ketamine in the holeboard, the elevated-plus maze, and the social interaction test in Wistar rats. *Depress Anxiety*, 5: 9-33.

- Slot L.B., Kleven M.S., Newman-Tancredi A., 2005. Effects of novel antipsychotics with mixed D2 antagonist/5-HT1A agonist properties on PCP induced social interaction deficits in the rat. *Neuropharmacology*, 49: 996-1006.
- Snell L.D., Johnson K.M., 1986. Characterization of the inhibition of excitatory amino acid-induced neurotransmitter release in the rat striatum by phencyclidine-like drugs. *J Pharmacol Exp Ther.*, 238: 938-946.
- Snigdha S., Neill J.C., 2008. Efficacy of antipsychotics to reverse phencyclidine induced social interaction deficits in female rats - a preliminary investigation. *Behav Brain Res*, 187: 489-494.
- Stefansson H., Sigurdsson E., Steinthorsdottir V., Bjornsdottir S., Sigmundsson T., Ghosh S., 2002. Neuregulin 1 and susceptibility to schizophrenia. *Am J Hum Genet*, 71: 877-892.
- Steinpreis R.E., Sokolowski J.D., Papanikolaou A., Salamone J.D., 1994. The effects of haloperidol and clozapine on PCP- and amphetamine-induced suppression of social behavior in the rat. *Pharmacol Biochem Behav*, 47: 579-585.
- Stone R.A., 1979. The Transport of Para-Aminohippuric Acid by the Ciliary Body and by the Iris of the Primate Eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 18: 807-818.
- Stone J., Dietrich C., Edden R., Mehta M., De Simoni S., Reed L., 2012. Ketamine effects on brain GABA and glutamate levels with 1H-MRS: relationship to ketamine-induced psychopathology. *Mol Psychiatry*, 17: 664-665.
- Sugai T., Kawamura M., Iritani S., 2004. Prefrontal abnormality of schizophrenia revealed by DNA microarray: impact on glial and neurotrophic gene expression. *Ann NY Acad Sci*, 1025: 84-91.
- Suvisaari J., Mautemps N., Haukka J., Hovi T., Lönnqvist J., 2003. Childhood central nervous system viral infections and adult schizophrenia. *Am J Psychiatry*, 160:1183-1185.
- Swartz K.J., During M.J., Freese A., Beal M.F., 1990. Cerebral synthesis and release of kynurenic acid: an endogenous antagonist of excitatory amino acid receptors. *J. Neurosci*, 10: 2965-2973.
- Sweet D. H., 2005. Organic anion transporter (Slc22a) family members as mediators of toxicity. *Toxicol. Appl. Pharmacol*, 204: 198-215.
- Swerdlow N.R., Geyer M.A. 1998. Using an animal model of deficient sensorimotor gating to study the pathophysiology and new treatments of schizophrenia. *Schizophr Bull*, 24: 285-301.

- Sykes D., Sweet D.H., Lowes S., Nigam S.K., Pritchard J.B., Miller D.S., 2004. Organic anion transport in choroid plexus from wildtype and organic anion transporter 3 (Slc22a8)-null mice. *Am. J. Physiol. Renal Physiol*, 286: 972-978.
- Talbott, J.H., 1951. Clinical and metabolic effects of benemid in gout. *Bull. Rheum. Dis*, 2: 1-2.
- Tizon L.J., 2013. Entender las psicosis hacia un enfoque integrador. Herder, 440pp.
- Trecartin K.V., Bucci D.J., 2011. Administration of kynurenine during adolescence, but not during adulthood, impairs social behavior in rats. *Schizophr Res*. 133: 156-158.
- Tsai G., Coyle J.T., 2002. Glutamatergic mechanisms in schizophrenia. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 42: 165–179.
- Turski W.A., Schwarcz R., 1988. On the disposition of intrahippocampally injected kynurenic acid in the rat. *Exp. Brain Res*, 71: 563-567.
- Uribe E., Landaeta J., Wix R., Eblen A., 2013. Memantine reverses social withdrawal induced by ketamine in rats. *Exp. Neurobiol*, 22: 18–22.
- Van Os J., Kenis G., Rutten B.P.F., 2010. The environment and schizophrenia. *Nature*, 468: 203–212.
- Waters F.A., Maybery M.T., Badcock J.C., Michie P.T., 2004. Context memory and binding in schizophrenia. *Schizophr Res*, 68: 119-125.
- Westergren I., Nystrom B., Hamberger A., Nordborg C., Johansson B.B., 1994. Concentrations of amino acids in extracellular fluid after opening of the bloodbrain barrier by intracarotid infusion of protamine sulfate. *J. Neurochem*, 62: 159-165.
- Willi R., Weinmann O., Winter C., Klein J., Sohr R., Schnell L., Yee B.K., Feldon J., Schwab M.E., 2010. Constitutive genetic deletion of the growth regulator Nogo-A induces schizophrenia-related endophenotypes. *J Neurosci*, 30: 556-567.
- Wilson C-, Terry A.V., 2010. Neurodevelopmental animal models of schizophrenia: role in novel drug discovery and development. *Clin Schizophr Relat Psychos*, 4: 124-137.
- Wu H.Q., Pellicciari R., Schwarcz R., 2006. Bidirectional regulation of extracellular dopamine by endogenous kynurenic acid in the rat medial prefrontal cortex. *Abstr Soc Neurosci*, 32: 624-623.
- Yin H.H., 2014. Action, time and the basal ganglia. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, 369: 201-204.

Yolken R.H., Karlsson H., Yee F., 2000. Endogenous retroviruses and schizophrenia. *Brain Res Brain Res Rev.*, 31: 193-199.

Yoon J.H., Minzenberg M.J., Raouf S., D'Esposito M., Carter C.S., 2013. Impaired prefrontal-basal ganglia functional connectivity and substantia nigra hyperactivity in schizophrenia. *Biol Psychiatry*, 74: 122-129.

Young J.W., Zhou X., Geyer M.A., 2010 Animal models of schizophrenia. *Curr Top Behav Neurosci*, 4: 391-433.

Zou H., Zhang C., Xie Q., Zhang M., Shi J., Jin M., Yu L., 2008. Low dose MK-801 reduces social investigation in mice. *Pharmacol Biochem Behav*, 90: 753-757.

Zuckerman L., Rehavi M., Nachman R., 2003. Immune activation during pregnancy in rats leads to a postpubertal emergence of disrupted latent inhibition, dopaminergic hyperfunction, and altered limbic morphology in the offspring: a novel neurodevelopmental model of schizophrenia. *Neuropsychopharmacology*, 28: 1778-1789.

Zuckerman L., Weiner I., 2005. Maternal immune activation leads to behavioral and pharmacological changes in the adult offspring. *J Psychiatr Res*, 39: 311-323.