



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
FACULDADE DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE FISIOLOGIA E FARMACOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FARMACOLOGIA

GIULIANA IGNÁCIO TEIXEIRA CAVALCANTE

ESTUDO COMPORTAMENTAL E NEUROQUÍMICO EM RATOS
PERIADOLESCENTES SUBMETIDOS AO TRATAMENTO AGUDO E
SUBCRÔNICO COM EFAVIRENZ

FORTALEZA-CE

2011

GIULIANA IGNÁCIO TEIXEIRA CAVALCANTE

**ESTUDO COMPORTAMENTAL E NEUROQUÍMICO EM RATOS
PERIADOLESCENTES SUBMETIDOS AO TRATAMENTO AGUDO E
SUBCRÔNICO COM EFAVIRENZ**

Dissertação apresentada como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre, pelo Programa de Pós-Graduação em Farmacologia da Universidade Federal do Ceará.

Orientador (a):
Profa. Dra. Marta Maria de França Fonteles

FORTALEZA

2011

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca de Ciências da Saúde

C364e

Cavalcante, Giuliana Ignácio Teixeira

Estudo comportamental e neuroquímico em ratos periadolescentes submetidos ao tratamento agudo e subcrônico com efavirenz/ Giuliana Ignácio Teixeira Cavalcante. – 2011.

119 f. : il.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, Fortaleza, 2011.

Orientação: Profa. Dra. Marta Maria de França Fonteles

1. Anti-Retrovirais - efeitos adversos 2. Sistema Nervoso Central 3. Transtornos Mentais 4. Neuroquímica 5. Neurotransmissores 6. Estresse Oxidativo I. Título.

CDD 615.1

GIULIANA IGNÁCIO TEIXEIRA CAVALCANTE

ESTUDO COMPORTAMENTAL E NEUROQUÍMICO EM RATOS
PERIADOLESCENTES SUBMETIDOS AO TRATAMENTO AGUDO E
SUBCRÔNICO COM EFAVIRENZ

Dissertação submetida à Coordenação do
Curso de Pós-Graduação em Farmacologia,
como requisito parcial para a obtenção do
Título de Mestre.

Aprovada em: ____ / ____ / ____

BANCA EXAMINADORA

Prof.^a Dr.^a Marta Maria de França Fonteles (Orientadora)
Universidade Federal do Ceará - UFC

Prof.^a Dr.^a Danielle Silveira Macêdo
Universidade Federal do Ceará - UFC

Prof.^a Dr.^a Aline de Albuquerque Oliveira
Faculdade Metropolitana da Grande Fortaleza – FAMETRO

*À minha mãe, ao meu pai, ao meu marido e aos
meus irmãos, por todo o apoio e amor.*

AGRADECIMENTOS

A Deus, por fornecer esta oportunidade, por ser o meu confidente e protetor de todas as horas e por me permitir uma vida repleta de vitórias.

À minha mãe, por suas orações, torcida e por me amar tanto, a ponto de sentir angústia junto comigo, quando eu senti. Hoje, quero que essa vitória também seja sua.

Ao meu pai, por possibilitar, sempre com muito apoio, os meus estudos e por ficar feliz com o meu sucesso, mesmo sem saber que promover a sua felicidade é uma das minhas grandes motivações.

Ao meu irmão Lucas, pelo carinho e por ser aquele a quem quero passar os melhores exemplos.

À minha irmã Aline, pelo apoio incondicional, pelas palavras de ânimo e por mostrar sempre o seu amor. Sei que a minha felicidade também será a sua felicidade.

Ao meu marido Silas, por estar sempre ao meu lado e por ser aquele que me faz acreditar todos os dias que posso voar cada vez mais alto.

À minha professora Marta Fonteles, por ser tão humana e permitir oportunidades àqueles que lhe pedem.

À professora Danielle Silveira Macêdo, por ter me ajudado tanto e por ter aceitado participar da banca examinadora deste trabalho.

À professora Aline de Albuquerque Oliveira, por ter aceitado participar da banca examinadora deste trabalho.

Ao professor Hemerson Iury Ferreira Magalhães, por ter aceitado participar da banca examinadora deste trabalho.

À minha colega de laboratório Isabel Linhares, por estar presente em muitos dos experimentos deste estudo, assumindo a responsabilidade como se os experimentos fossem seus.

Aos colegas de grupo Camila Nayane, Edith Teles, Emiliano Ricardo, pela força.

Às colegas, que também tanto contribuíram Maria do Carmo, Patrícia Xavier, Luciana Ximenes, Rafaelly Siqueira.

À colega Charliane Carlos por me trazer a este laboratório e por estar presente em tantos outros momentos.

Ao meu colega Nayrton Flávio, por auxiliar tanto em minhas inúmeras dúvidas.

Aos demais colegas da pós-graduação Alyne Mara, Mariana, Leonardo, Helvira, Márcia Calheiros, Eduardo, Gersilene Valente, Kelly Rose, Fernanda Yvelize, por terem me ajudado, cada um a seu modo, nesta pesquisa.

Às professoras Silvânia Vasconcelos e Cléa Florenço pela disponibilidade do laboratório e transferência de conhecimentos.

Aos demais professores da Pós-graduação em Fisiologia e Farmacologia da Universidade Federal do Ceará que tive a oportunidade de conhecer e absorver o conhecimento repassado.

Aos técnicos do Laboratório de Neurofarmacologia: Vilani, Arnaldo e Lena, pela ajuda dada nos experimentos.

Às secretárias da Pós-graduação: Áurea e Márcia por agirem sempre com tanta paciência e dedicação com os alunos desta instituição.

A Capes pelo apoio financeiro para a execução deste trabalho.

Àqueles que contribuíram de forma direta ou indireta para a realização deste trabalho, encerrando mais um ciclo em minha vida.

Obrigada!

“Vossa potência se mostrará em simplesmente
ficardes sossegados e confiantes”

Isaías, 30:15

RESUMO

ESTUDO COMPORTAMENTAL E NEUROQUÍMICO EM RATOS PERIADOLESCENTES SUBMETIDOS AO TRATAMENTO AGUDO E SUBCRÔNICO COM EFAVIRENZ. Giuliana Ignácio Teixeira Cavalcante. Orientador (a): Profa. Marta Maria de França Fonteles. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-Graduação em Farmacologia. Departamento de Fisiologia e Farmacologia, UFC, 2011.

A terapia antirretroviral revolucionou o tratamento dos pacientes portadores do vírus da imunodeficiência humana (HIV) porque melhorou o estado clínico destes pacientes. É essencial que no mínimo uma das drogas utilizadas nesta terapia atravesse bem a barreira hemato-encefálica, já que o HIV alcança o sistema nervoso central (SNC), causando danos. O Efavirenz é um antirretroviral capaz de atravessar bem a barreira hemato-encefálica, sendo bastante utilizado no tratamento para HIV. Entretanto, pacientes tratados com Efavirenz vêm apresentando alterações neuropsiquiátricas como depressão, ansiedade, mania, pensamentos suicidas, psicoses e alucinações. Baseado nestes fatos, o presente estudo objetivou avaliar se as alterações comportamentais ansiedade, depressão e convulsão ocorrem em animais tratados com Efavirenz com uma única dose e por um período de 15 dias, através de modelos padronizados de comportamento animal, bem como verificar se o tratamento com o fármaco é capaz de causar alterações de monoaminas e de aminoácidos. Foram utilizados ratos Wistar machos (35 dias, n=6-8). Os animais foram tratados uma única vez com efavirenz, no caso do tratamento agudo, ou por 15 dias, para o tratamento subcrônico. Os animais tratados e controles foram submetidos aos testes comportamentais de Labirinto em Cruz Elevado (Plus Maze), Nado Forçado, Campo Aberto e Convulsão induzida por pilocarpina. Para a avaliação neuroquímica, as cobaias foram sacrificadas e o cérebro foi removido para análise das seguintes áreas de interesse: corpo estriado, córtex pré-frontal e hipocampo. Foram dosadas as monoaminas e seus metabólitos, os aminoácidos e os níveis de malonildialdeído (MDA). Os resultados mostraram que o Efavirenz ocasionou, nos testes comportamentais, ansiedade após administração aguda, causou depressão no teste comportamental após tratamento subcrônico, não interferiu na latência de convulsão e alterou monoaminas e metabólitos, além de elevar os níveis de MDA. Desse modo, conclui-se que o efavirenz, de acordo com este estudo, promove alterações neuroquímicas no sistema nervoso central causando distúrbios neuropsiquiátricos.

Palavras-chave: efavirenz. transtornos psiquiátricos. sistema nervoso central. efeitos adversos. neuroquímica. neurotransmissores. estresse oxidativo.

ABSTRACT

BEHAVIORAL AND NEUROCHEMICAL STUDY IN PERIADOLESCENT RATS SUBMITTED TO ACUTE AND SUBCHRONIC TREATMENT WITH EFAVIRENZ. *Giuliana Ignácio Teixeira Cavalcante*. Orientador (a): Prof. Marta Maria de França Fonteles. Dissertation. Graduate Program in Pharmacology. Department of Physiology and Pharmacology, UFC.

Antiretroviral therapy has revolutionized the treatment of patients infected with human immunodeficiency virus (HIV) because it improved the clinical status of these patients. It is essential that at least one of the drugs used and in this therapy cross the blood-brain barrier, since HIV reaches the central nervous system (CNS), causing damage. Efavirenz is an antiretroviral widely used in HIV and able to cross the blood-brain barrier. However, patients treated with efavirenz are presenting neuropsychiatric disorders such as depression, anxiety, mania, suicidal thoughts, psychosis and hallucinations. Based on these facts, this study aimed to assess whether the behavioral changes anxiety, depression and seizures induced by pilocarpine occur in animals treated with efavirenz with a single dose and for a period of 15 days, using standard models of animal behavior as well as check if the treatment with drug can cause changes in monoamines and amino acids. We used male Wistar rats (35 days, n = 6-8). The animals were treated once with efavirenz in the case of an acute treatment, or 15 days for a subchronic treatment. The treated animals and controls were tested for behavioral elevated plus maze (Plus Maze), Forced Swim, Open Field and seizure induced by pilocarpine. To assess neurochemistry, mice were sacrificed and the brain was removed for the analysis of the following areas of interest: striatum, prefrontal cortex and hippocampus. Were measured monoamines and their metabolites, amino acids and the levels of malondialdehyde (MDA). The results showed that efavirenz caused anxiety and motor abnormalities similar to psychogenic drugs in behavioral tests after acute administration, caused depression in the behavioral test after subchronic treatment, had no effect on the latency of convulsion, altered monoamine metabolites and increased levels MDA. Thus, it is conclude that efavirenz, according to this study, promotes neurochemical changes in the central nervous system, causing neuropsychiatric disorders.

Keywords: efavirenz. psychiatric disorders. central nervous system. adverse effects. Neurochemistry. Neurotransmitters. oxidative stress.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Fórmula Estrutural do Efavirenz	27
Figura 2	Síntese da Dopamina e da Noradrenalina a partir do aminoácido Tirosina ...	35
Figura 3	Principais Vias Dopaminérgicas	37
Figura 4	Biossíntese da Serotonina a partir do Triptofano	39
Figura 5	Ilustração do Instrumento utilizado no Teste Labirinto em Cruz Elevado.....	50
Figura 6	Teste do Campo Aberto	51
Figura 7	Teste do Nado Forçado	52
Figura 8	Efeito agudo do Efavirenz (25 e 50 mg/kg) e Diazepam (1 mg/kg) sobre o tempo de permanência nos braços abertos (TPBA) no Teste Labirinto em Cruz Elevado em ratos	60
Figura 9	Efeito agudo do Efavirenz (25 e 50 mg/kg) e Diazepam (1 mg/kg) sobre o tempo de permanência nos braços fechados (TPBF) no Teste Labirinto em Cruz Elevado em ratos	61
Figura 10	Efeito agudo do Efavirenz (25 e 50 mg/kg) e Diazepam (1 mg/kg) sobre o número de entradas nos braços abertos (NEBA) no Teste Labirinto em Cruz Elevado em ratos	62
Figura 11	Efeito agudo do Efavirenz (25 e 50 mg/kg) e Diazepam (1 mg/kg) sobre o número de entradas nos braços fechados (NEBF) no Teste Labirinto em Cruz Elevado em ratos	63
Figura 12	Efeito agudo do Efavirenz (25 e 50 mg/kg) e Imipramina (10 mg/kg) sobre o tempo de imobilidade no Teste Nado Forçado em ratos	65
Figura 13	Efeito agudo do Efavirenz (25 e 50 mg/kg) e Diazepam (1 mg/kg) sobre o grooming e o rearing no Teste Campo Aberto em ratos	67
Figura 14	Efeito agudo do Efavirenz (25 e 50 mg/kg) e Diazepam (1 mg/kg) sobre o número de cruzamentos no Teste Campo Aberto em ratos	68
Figura 15	Efeito agudo do Efavirenz (25 e 50 mg/kg) com Pilocarpina (400 m.g/kg) e Pilocarpina (400 mg/kg) sobre a latência de convulsão em ratos	70
Figura 16	Efeito subcrônico do Efavirenz (25 e 50 mg/kg) e Diazepam (1 mg/kg) sobre o tempo de permanência nos braços abertos (TPBA) no Teste Labirinto em Cruz Elevado em ratos	72

Figura 17	Efeito subcrônico do Efavirenz (25 e 50 mg/kg) e Diazepam (1 mg/kg) sobre o tempo de permanência nos braços fechados (TPBF) no Teste Labirinto em Cruz Elevado em ratos	73
Figura 18	Efeito subcrônico do Efavirenz (25 e 50 mg/kg) e Diazepam (1 mg/kg) sobre o número de entradas nos braços abertos (NEBA) no Teste Labirinto em Cruz Elevado em ratos	74
Figura 19	Efeito subcrônico do Efavirenz (25 e 50 mg/kg) e Diazepam (1 mg/kg) sobre o número de entradas nos braços fechados (NEBF) no Teste Labirinto em Cruz Elevado em ratos	75
Figura 20	Efeito subcrônico do Efavirenz (25 e 50 mg/kg) e Imipramina (10 mg/kg) sobre o tempo de imobilidade no Teste Nado Forçado em ratos	77
Figura 21	Efeito subcrônico do Efavirenz (25 e 50 mg/kg) e Diazepam (1 mg/kg) sobre o grooming e o rearing no Teste Campo Aberto em ratos	79
Figura 22	Efeito subcrônico do Efavirenz (25 e 50 mg/kg) e Diazepam (1 mg/kg) sobre o número de cruzamentos no Teste Campo Aberto em ratos	80
Figura 23	Efeito subcrônico do Efavirenz (25 e 50 mg/kg) com Pilocarpina (400 mg/kg) e Pilocarpina (400 mg/kg) sobre a latência de convulsão em ratos ...	82
Figura 24	Concentração de monoaminas no corpo estriado de ratos submetidos ao tratamento agudo com Efavirenz nas doses 25 ou 50 mg/kg e controle	84
Figura 25	Concentração de DOPAC, HVA e 5-HIAA no corpo estriado de ratos submetidos ao tratamento agudo com Efavirenz nas doses 25 ou 50 mg/kg e controle	85
Figura 26	Concentração de monoaminas no corpo estriado de ratos submetidos ao tratamento subcrônico com Efavirenz nas doses 25 ou 50 mg/kg e controle	87
Figura 27	Concentração de DOPAC, HVA e 5-HIAA no corpo estriado de ratos submetidos ao tratamento subcrônico com Efavirenz nas doses 25 ou 50 mg/kg e controle	88
Figura 28	Concentração de malonildialdeído (MDA) no hipocampo de ratos que receberam Pilocarpina na dose de 400 mg/kg e que foram submetidos ao tratamento agudo com Efavirenz nas doses 25 ou 50 mg/kg e controle	90

Figura 29	Concentração de malonildialdeído (MDA) no hipocampo de ratos que receberam Pilocarpina na dose de 400 mg/kg e que foram submetidos ao tratamento subcrônico com Efavirenz nas doses 25 ou 50 mg/kg e controle.	92
Figura 30	Concentração de aminoácidos no córtex pré-frontal de ratos submetidos ao tratamento agudo com Efavirenz nas doses 25 ou 50 mg/kg e controle	94
Figura 31	Concentração de aminoácidos no córtex pré-frontal de ratos submetidos ao tratamento subcrônico com Efavirenz nas doses 25 ou 50 mg/kg e controle.	96
Figura 32	Concentração de aminoácidos no corpo estriado de ratos submetidos ao tratamento agudo com Efavirenz nas doses 25 ou 50 mg/kg e controle	98
Figura 33	Concentração de aminoácidos no corpo estriado de ratos submetidos ao tratamento subcrônico com Efavirenz nas doses 25 ou 50 mg/kg e controle	100

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Concentração final, via de administração e abreviatura das drogas utilizadas	48
Tabela 2	Grupos Experimentais	49

LISTA DE QUADROS

Quadro 1	Drogas e Reagentes utilizados e suas origens	46
Quadro 2	Materiais Utilizados	47

LISTA DE ABREVIATURAS

µl – microlitro

µM – micromolar

°C – grau Celsius

5-HIAA – ácido 5-hidroxiindolacético

5-HT – 5-hidroxitriptamina; serotonina

AIDS – síndrome da imunodeficiência adquirida

ALE – atividade locomotora espontânea

AMPA – ácido α-amino-3-hydroxy-5-methyl-4- isoxazole-propionico

ARV – antirretrovirais

ATV – área tegmental ventral

AZT – Zidovudina

CA – cainato

CE – corpo estriado

CEPA – Comitê de Ética em Pesquisa Animal

COMT – catecol o-metil transferase

CPF – córtex pré-frontal

CYP – citocromo

DA – dopamina

DNA – ácido desoxirribonucléico

DOPAC – ácido dihidroxifenilacético

DZP – Diazepam

EFV – Efavirenz

ERMO – Espécies Reativas do Metabolismo do Oxigênio

g – grama

GAD – enzima glutâmico descarboxilase

GABA – ácido γ-aminobutírico

GSH – Glutathiona Reduzida

GPx – Glutathiona Peroxidase

GSH-Rd – Glutathiona Redutase

h – hora

HAART – *Highly Active Antiretroviral Therapy*

HC – hipocampo

HIV – Vírus da Imunodeficiência Humana

HPLC – Cromatografia líquida de alta performance

HVA – ácido homovalínico

IMP – Imipramina

I.P - intraperitoneal

IPs – Inibidores da Protease

ITRNs – Inibidores da Transcriptase Reversa análogos de Nucleosídeos

ITRNNs – Inibidores Transcriptase Reversa não análogos de Nucleosídeos

Kg – quilograma

L-DOPA – L-3,4-dihidroxifenilalanina

MAO – monoamina oxidase

MDA – malonildialdeído

mg – miligrama

min – minuto

mL – mililitro

mM – milimolar

n° – número

NA – noradrenalina

nm – nanômetro

nM – nanomolar

NMDA – N-metil-D-aspartato

O₂ – oxigênio

OMS – Organização Mundial de Saúde

ONU – Organização das Nações Unidas

P400 – pilocarpina

pH – potencial hidrogeniônico

RNA – ácido ribonucléico

rpm – rotação por minuto

SARA – síndrome da angústia respiratória aguda

SNC – Sistema Nervoso Central

SOD – Superóxido Dismutase

TARV – Terapia Antirretroviral

TBA – ácido tiobarbitúrico

TBARS – Espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico

TDO – triptofano -2,3- dioxigenase

TH – tirosina hidroxilase

TO – tubérculo olfatório

TRP – triptofano

UNAIDS – Joint United Nations Program on HIV/AIDS

V.O. – via oral

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	23
1.1	Considerações Iniciais	23
1.2	A terapia antirretroviral	25
1.3	Efavirenz	26
1.4	Alterações neuropsiquiátricas desencadeadas pelo efavirenz	29
1.5	Adolescência e efavirenz	30
1.6	Respostas comportamentais relacionadas ao efavirenz	31
1.6.1	<i>Ansiedade</i>	31
1.6.2	<i>Depressão</i>	32
1.6.3	<i>Alucinações e Psicoses</i>	33
1.6.4	<i>Convulsões</i>	34
1.7	Envolvimento neuroquímico nas alterações comportamentais	34
1.7.1	<i>Monoaminas e Transtornos Psiquiátricos</i>	34
1.7.1.1	<i>Dopamina</i>	36
1.7.1.2	<i>Noradrenalina</i>	38
1.7.1.3	<i>Serotonina</i>	38
1.7.2	<i>Aminoácidos e Transtornos Psiquiátricos</i>	40
1.7.3	<i>Estresse Oxidativo</i>	40
2	JUSTIFICATIVA E RELEVÂNCIA	43
3	OBJETIVOS	45
3.1	Objetivo Geral	45
3.2	Objetivos Específicos	45
4	MATERIAIS E MÉTODOS	46
4.1	Animais	46
4.2	Drogas	46
4.3	Preparo das Drogas	48
4.4	Tratamento do grupo experimental	48
4.5	Protocolo Experimental	49
4.6	Avaliação da Atividade sobre a Ansiedade	50
4.6.1	<i>Teste do Labirinto em Cruz Elevado</i>	50

4.7	Avaliação da Atividade sobre a Área Locomotora	51
4.7.1	<i>Teste do Campo Aberto</i>	51
4.8	Avaliação da Atividade sobre a Depressão	51
4.8.1	<i>Teste do Nado Forçado</i>	51
4.9	Teste da Convulsão Induzida por Pilocarpina	52
4.10	Dissecção das Áreas Cerebrais (Córtex pré-frontal, Hipocampo e Corpo Estriado)	53
4.11	Determinação das concentrações de Monoaminas e seus metabólitos com HPLC	53
4.11.1	<i>Método</i>	53
4.11.2	<i>Procedimento Experimental</i>	54
4.11.3	<i>Soluções Reagentes</i>	55
4.12	Determinação da Concentração de Aminoácidos	55
4.12.1	<i>Método</i>	55
4.12.2	<i>Procedimento Experimental</i>	56
4.12.3	<i>Preparo dos padrões dos aminoácidos</i>	56
4.12.4	<i>Preparo das amostras</i>	56
4.12.5	<i>Solução de derivatização</i>	56
4.12.6	<i>Determinação fluorimétrica de aminoácidos (aa) por gradiente</i>	56
4.13	Avaliação da Peroxidação Lipídica	57
4.13.1	<i>Método</i>	57
4.13.2	<i>Procedimento Experimental</i>	57
4.14	Análise Estatística	58
5	RESULTADOS	59
5.1	Avaliação Comportamental	59
5.1.1	<i>Tratamento agudo</i>	59
5.1.1.1	<i>Teste do Labirinto em Cruz Elevado (PlusMaze)</i>	59
5.1.1.2	<i>Teste do Nado Forçado</i>	64
5.1.1.3	<i>Teste do Campo Aberto</i>	66
5.1.1.4	<i>Teste da Convulsão Induzida por Pilocarpina (Latência)</i>	69
5.1.2	Tratamento Subcrônico	71
5.1.2.1	<i>Teste do Labirinto em Cruz Elevado (Plus Maze)</i>	71

5.1.2.2	<i>Teste do Nado Forçado</i>	76
5.1.2.3	<i>Teste do Campo Aberto</i>	78
5.1.2.4	<i>Teste da Convulsão Induzida por Pilocarpina (Latência)</i>	81
5.2	Avaliação Neuroquímica	83
5.2.1	<i>Determinação da Concentração de Monoaminas no Corpo Estriado</i>	83
5.2.1.1	<i>Agudo</i>	83
5.2.1.2	<i>Subcrônico</i>	86
5.2.2	<i>Determinação da Concentração de Malonildialdeído (MDA) no Homogenato de Hipocampo</i>	89
5.2.2.1	<i>Agudo</i>	89
5.2.2.2	<i>Subcrônico</i>	91
5.2.3	<i>Determinação da Concentração de Aminoácidos no Córtex Pré-Frontal</i>	93
5.2.3.1	<i>Agudo</i>	93
5.2.3.2	<i>Subcrônico</i>	95
5.2.4	<i>Determinação da Concentração de Aminoácidos no Corpo Estriado</i>	97
5.2.4.1	<i>Agudo</i>	97
5.2.4.2	<i>Subcrônico</i>	99
6	DISCUSSÃO	101
7	CONCLUSÃO	109
	REFERÊNCIAS	111

1 INTRODUÇÃO

1.1 Considerações Iniciais

Desde o primeiro relato em 1980 (RAMOS NETO, 2004), a síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS) acomete um número cada vez mais elevado de indivíduos no mundo inteiro. Segundo o relatório da Organização das Nações Unidas (ONU), aproximadamente de 33,3 milhões de pessoas eram portadoras do vírus causador da doença, o vírus da imunodeficiência humana (HIV), até o ano de 2009 (UNAIDS, 2010). No Brasil, as estimativas mostram que o total de infectados corresponde, em média, a um terço das pessoas portadoras de HIV da América Latina (UNAIDS, 2010).

De acordo com os dados mais atuais, a infecção ainda cresce cerca de 7.000 novos casos por dia no mundo, mas os índices mostram que a disseminação da doença segue em declínio quando comparada aos anos anteriores (BRASIL, 2011).

As perspectivas apontam que, apesar do ainda crescente número de casos, a AIDS será controlável para a maior parte dos infectados até um futuro bem próximo (UNAIDS, 2011). As autoridades em saúde vêm mostrando entusiasmo no controle da doença (BRASIL, 2011; UNAIDS, 2010) já que o acesso ao tratamento está se expandindo no mundo e isso tem gerado progressos significativos na redução da transmissão do HIV. Acredita-se que o controle da doença esteja, dentre outros aspectos, na disponibilização de medicamentos contra o vírus da AIDS para toda a população infectada.

O tratamento da doença consiste na utilização de drogas, denominadas antirretrovirais, que combatem o HIV por inibirem diferentes estágios da reprodução do vírus. Atualmente, são disponíveis alguns antirretrovirais, divididos em cinco classes: inibidores da transcriptase reversa análogos de nucleosídeos (ITRNs), inibidores da transcriptase reversa não análogos de nucleosídeos (ITRNNs), inibidores da protease (IPs), inibidores da integrase, antagonistas de CCR5 e inibidores de fusão (IsF) (HUGHES et al., 2008).

A terapia antirretroviral foi iniciada em 1980 com o medicamento AZT. Em seguida, novos fármacos foram descobertos serem eficazes no combate ao HIV. A partir de 1997, pesquisadores observaram que a combinação de antirretrovirais de classes distintas melhorava a evolução dos pacientes infectados. Posteriormente, essa combinação, denominada HAART (*Highly Active Antiretroviral Therapy*), foi implementada para o tratamento de pessoas portadoras do vírus da AIDS.

A terapêutica combinada de antirretrovirais com mecanismos de ação distintos, definida como HAART e comumente designada por “coquetel anti-HIV”, é comprovadamente eficaz porque reduz os níveis de HIV plasmático a valores indetectáveis (ARAÚJO; ALVES, 2002; BRASIL, 2004; PATERSON et al., 2000), sendo reconhecida por tornar mais lento o curso da doença, prolongando a vida dos indivíduos infectados (SACKTOR et al., 2001). Na HAART são utilizados inibidores da protease associados a inibidores da transcriptase reversa.

Hoje, sabe-se que dentre os antirretrovirais componentes da HAART é imprescindível que, no mínimo um, seja capaz de atravessar bem a barreira hemato-encefálica, já que o HIV penetra no sistema nervoso central (SNC), causando danos de ordem motora, comportamental e cognitiva (KALIL, 2006). Pesquisas sugerem que essas desordens podem ser reflexo da supressão viral ineficiente no SNC devido à limitada penetração de muitos antirretrovirais através da barreira hemato-encefálica (ANCES et al., 2007).

A terapêutica atual, que inclui antirretrovirais com boa penetração no SNC, reduziu a demência provocada pelo HIV. Dentre estes medicamentos, o efavirenz (EFV), um inibidor da transcriptase reversa não análogo de nucleosídeo, mostra bons resultados porque atravessa bem a barreira hemato-encefálica e reduz os efeitos deletérios do HIV no SNC (VON GIESEN et al., 2002).

O efavirenz é amplamente utilizado no mundo inteiro, entretanto, diversos estudos têm sido publicados sobre a possibilidade de o EFV promover alterações de ordem psiquiátrica. Estes estudos apontam que pacientes que utilizam EFV têm apresentado distúrbios como mania, depressão, idéias suicidas, psicose, alucinação e ansiedade (LOCHET et al., 2003; PEYRIERE et al., 2001; PUZANTIAN, 2002). Contudo, não há dados concretos que comprovem a atividade direta da droga na precipitação destas manifestações, já que o próprio HIV é capaz de causar alterações desta natureza.

Atualmente, alguns estudos vêm pesquisando a ação do efavirenz sobre o sistema nervoso central (O'MAHONY, et al., 2005; STRECK et al., 2008; ROMÃO et al., 2009; QUEREDA, 2008), mas a relação do EFV com os transtornos psiquiátricos ainda necessita de maiores investigações.

1.2 A terapia antirretroviral

Após a identificação do HIV, em 1984 (FAUCI; LANE, 2002), iniciou-se a busca desenfreada por agentes capazes de agir sobre a transcriptase reversa, enzima responsável pela transcrição do RNA viral em DNA (SEPKOWITZ, 2001). De fato, a AIDS vinha infectando cada vez mais pessoas, que estavam sanadas ao óbito devido a doenças oportunistas, portanto, o controle da síndrome tornava-se uma questão de saúde pública.

Em 1987, o primeiro medicamento antirretroviral para o tratamento de pessoas com HIV/AIDS foi desenvolvido, denominado zidovudina (AZT) (SEPKOWITZ, 2001). Em 1996, é iniciada a terapia antirretroviral altamente ativa (HAART) (MARINS et al., 2003), também conhecida por “coquetel anti HIV”, composta pela combinação de medicamentos com diferentes ações contra o HIV e desenvolvida para suprimir a replicação viral, resultando em aumento do número de linfócitos T CD4, melhora da função imune do organismo, atraso da progressão da doença e prolongamento da sobrevivência (GALLANT, 2000).

A terapia antirretroviral (TARV) é comprovadamente eficaz em reduzir a mortalidade relacionada ao HIV, prolongar a sobrevivência, melhorar a qualidade de vida, restaurar e preservar as funções imunológicas, tornar a supressão da carga viral máxima e durável e prevenir a transmissão vertical do vírus (UNITED STATES OF AMERICA, 2008).

A terapêutica combinada de antirretrovirais (ARV) ou HAART aumentou a sobrevida e a esperança de vida dos indivíduos infectados (MARINS, 2003). A terapia tem sido associada a benefícios clínicos duráveis e a uma grande diminuição na incidência de novas doenças oportunistas, indicando que as defesas do hospedeiro, mais especificamente as respostas imunes mediadas por células, aumentam depois dos primeiros meses de terapia (POWDERLY; LANDAY; LEDERMAN, 1998). Segundo alguns estudos de coorte, atualmente, a esperança de vida de pessoas infectadas sob tratamento da HAART, é praticamente igual à de pessoas não infectadas (LEWDEN et al., 2008; VAN SIGHEN et al., 2010).

A HAART, atualmente, combina três ARV's de classes distintas, especialmente os inibidores da protease (IP's) (MARINS et al., 2003). Também é fundamental que no mínimo um dos antirretrovirais atravesse bem a barreira hemato-encefálica, visto que o HIV também se instala no sistema nervoso central, causando danos (ANCES et al., 2007; KALIL, 2006).

Hoje, são disponíveis alguns antirretrovirais, divididos em cinco classes: inibidores da transcriptase reversa análogos de nucleosídeos (ITRNs), inibidores da transcriptase reversa não análogos de nucleosídeos (ITRNNs), inibidores da protease (IPs), inibidores da integrase, antagonistas de CCR5 e inibidores de fusão (IsF) (HUGHES et al., 2008).

De fato, a qualidade de vida e a sobrevivência de pessoas portadoras do HIV após a era HAART apresentaram resultados empolgantes sob o ponto de vista científico. Mas, infelizmente, a adesão à terapia ARV ainda é preocupante. Segundo Gir e Oliveira (2005) a TARV trouxe imensos benefícios ao seu usuário, entretanto, surge agora o desafio da perfeita adesão.

Os efeitos colaterais, a falta de esclarecimento sobre os medicamentos e o grande número de comprimidos a serem ingeridos por dia são dificuldades à utilização adequada das medicações (ACURCIO; GUIMARÃES, 1999; STONE et al., 2004). Para Buchalla (2006), o esquema terapêutico e a formulação medicamentosa refletem diretamente na adesão à terapia.

Os principais efeitos adversos relacionados à TARV são toxicidade mitocondrial, pancreatite, dislipidemia, hepatotoxicidade, nefrotoxicidade, síndrome metabólica, tontura, cefaléia, dentre outros (BRASIL, 2008).

Em um estudo recente desenvolvido por nosso grupo de pesquisa, foram identificados os eventos adversos em usuários de ARV. Dentre esses eventos, convém destacar aqueles relacionados ao sistema nervoso central. Vale salientar, ainda, que o estudo identificou que a ocorrência de reações adversas representou a principal causa de mudança do esquema terapêutico pelos usuários. A pesquisa também identificou que o efavirenz estava entre os ARV mais envolvidos na ocorrência dos efeitos adversos, predominantemente aqueles referentes ao sistema nervoso central, destacam-se alucinações, insônia, pesadelos e tontura (MAGALHÃES, 2011).

1.3 Efavirenz

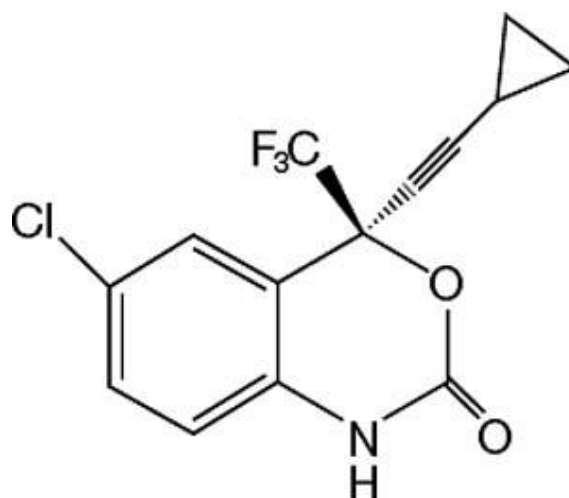
O efavirenz (EFV) é um inibidor da transcriptase reversa não nucleosídeo do vírus HIV (ITRNN do HIV). Ele ataca diretamente a enzima da transcriptase reversa e bloqueia a atividade da DNA-RNA polimerase causando a destruição do sítio catalítico da enzima (CLERCQ, 2001).

Quimicamente, é descrito como (S)-6-cloro-4-(ciclopropil-etinil)-1,4-dihidro-4-(trifluorometil)-2H-3,1-benzoxazin-2-ona. A fórmula empírica é expressa como C₁₄H₉ClF₃NO₂ e sua fórmula estrutural é apresentada na **figura 1** (EFAVIRENZ, 2000).

O medicamento pode ser ingerido com ou sem alimentos, contudo, na presença de alimentos gordurosos a biodisponibilidade e a toxicidade podem ser aumentadas. A solução oral possui menor biodisponibilidade quando comparada aos comprimidos ou cápsulas (WANDE, 1994; DATE; FISHER, 2009).

O efavirenz tem alta afinidade de ligação às proteínas plasmáticas humanas (aproximadamente 99,7%), predominantemente a albumina (WANDE, 1994). É metabolizado, principalmente, pelo sistema do citocromo P-450 em metabólitos hidroxilados com subsequente glucuronidação. Estes metabólitos são essencialmente inativos contra o HIV.

Figura 1 - Fórmula Estrutural do Efavirenz



Fonte: Efavirenz (2000).

Análises experimentais atestaram a capacidade de o efavirenz induzir as enzimas do CYP (citocromo P-450), resultando na indução do seu próprio metabolismo. Doses múltiplas de 200-400 mg por dia, durante 10 dias resultou em uma extensão de acumulação menor do que o previsto (22-42 %) e um menor tempo de meia-vida de 40 a 55 horas, enquanto a dose única de meia-vida é de 52 a 76 horas (WANDE, 1994; DATE; FISHER, 2009).

Estudos de interação medicamentosa, através de análises *in vivo* e *in vitro*, demonstraram que o efavirenz é capaz de induzir ou inibir enzimas do citocromo P-450. Foi

demonstrado *in vivo* que a droga causa indução de enzimas hepáticas, aumentando assim a biotransformação de alguns fármacos metabolizados, principalmente, pelo CYP3A do sistema P-450. Em contrapartida, *in vitro*, foi demonstrado que o efavirenz inibe as isoenzimas 2C9, 2C19 e 3A4. A administração concomitante do efavirenz com drogas metabolizadas principalmente por essas isoenzimas pode ocasionar concentrações plasmáticas alteradas destas (WANDE, 1994; LIU et al., 2005; ALMOND, et al., 2005; EFAVIRENZ, 2000).

Devido à sua alta capacidade de interferir no sistema de citocromos P-450, a administração do efavirenz em associação a outras drogas deve ser cautelosa, já que podem ocorrer interações medicamentosas clinicamente significativas (EFAVIRENZ, 2000; AARNOUTSE, 2002). É o caso da terapia combinada aos antirretrovirais indinavir e ritonavir, que provoca uma alta incidência de efeitos adversos, especialmente no sistema nervoso central (AARNOUTSE, 2002).

A ocorrência de eventos adversos centrais em indivíduos que utilizam o EFV associado a drogas que afetam o sistema nervoso central pode ser devido a um aumento na biodisponibilidade destas drogas, já que o efavirenz é um inibidor (ou indutor) enzimático das enzimas de metabolização (EFAVIRENZ, 2000; DATE; FISHER, 2009). Entretanto, há relatos na literatura de efeitos adversos no SNC após o uso sozinho do EFV (PUZANTIAN, 2002; ARENDT et al., 2007; SANCHEZ; GUTIÉRREZ, 2008).

Em ensaios clínicos, 50% dos pacientes tratados com EFV apresentaram efeitos adversos relacionados ao SNC (RISH et al., 2006). Alguns relatórios sugerem que os efeitos neuropsiquiátricos, como hostilidade, ansiedade e depressão estão associados a elevados níveis séricos de EFV (PÉREZ-MOLINA, 2002; SANCHEZ; GUTIERREZ, 2008). Um outro estudo identificou que a toxicidade no SNC foi três vezes mais freqüente em pacientes com altas concentrações plasmáticas de EFV em comparação com aqueles com baixas concentrações (MARZOLINI et al., 2001). Apesar da maior parte dos estudos indicarem que o EFV provavelmente ocasiona neurotoxicidade, Van Luin et al. (2002) não encontraram uma associação entre a concentração plasmática de EFV e as taxas de descontinuação de tratamento devido a neurotoxicidade do medicamento.

Na verdade, ainda são conflitantes os dados existentes relacionados aos efeitos das concentrações plasmáticas de EFV sobre a toxicidade no SNC. Mas, segundo a maior parte das pesquisas, o EFV parece de fato causar alguma toxicidade no sistema nervoso central capaz de ocasionar transtornos de ordem psiquiátrica.

1.4 Alterações neuropsiquiátricas desencadeadas pelo efavirenz

A terapia com efavirenz tem sido frequentemente associada à manifestação de transtornos neuropsiquiátricos incluindo confusão, letargia, tontura, concentração prejudicada, amnésia, alucinações, sonhos anormais e insônia (JENA et al., 2009; RIHS, 2006; PATERSON et al., 2000; O'MAHONY et al., 2005). Ansiedade, depressão e idéias suicidas também foram relatadas (PEYRIERE et al., 2001; LOCHET, 2003; PUZANTIAN, 2002; O'MAHONY et al., 2005; ARENDT et al., 2007).

A associação entre os eventos neuropsiquiátricos descritos e o uso de EFV ainda permanece pouco elucidada. Entretanto, um número elevado de publicações relata episódios psiquiátricos após o uso do medicamento. De La Garza et al. (2001) descrevem episódios psicóticos em pacientes utilizando terapia contendo efavirenz. Em um estudo de caso, manifestações maníacas ocorrem posteriormente à superdosagem desse medicamento (BLANCH et al., 2001a). Na África, onde a infecção pelo HIV é altamente prevalente e a utilização do EFV é elevada, crianças e adolescentes estão utilizando o medicamento ilegalmente para fumarem e experimentarem efeitos alucinógenos (MARWAHA, 2008). Interações entre o EFV e drogas de abuso também têm sido estudadas (ANTONIOUS; TSENG, 2002).

Manifestações neuropsiquiátricas associadas ao EFV são mais comuns em pessoas com transtornos mentais ou uma história de dependência química (PEYRIERE et al., 2001; LOCHET et al., 2003).

Os sintomas geralmente aparecem na primeira semana de tratamento (TRISMAN; KAPLAN, 2002; GUTIÉRREZ et al., 2005; BICKEL et al., 2005) e a maioria dos relatos indica que eles costumam desaparecer ou reduzir a gravidade após algumas semanas (LOCHET et al., 2003; BICKEL et al., 2005; BLANCH et al., 2001b). Entretanto, não há uma definição estabelecida sobre o período de duração dos sintomas. Em um estudo transversal realizado com pacientes tratados com EFV, os efeitos psiquiátricos permaneceram por 200 dias após a administração da primeira dose do medicamento e, posteriormente a esse período houve redução dos sintomas (HAWKINS et al., 2005). Uma pesquisa prospectiva mostrou que as manifestações neuropsiquiátricas ocorrem nas duas primeiras semanas de tratamento, mas que os pacientes que continuaram a utilizar o EFV mostraram uma melhora dos sintomas e foram capazes de tolerar a continuação do tratamento (BLANCH et al., 2001). Em

contrapartida, Fumaz et al. (2005) estudaram pacientes cronicamente tratados com EFV e verificaram a presença de alterações de ordem psiquiátricas.

Estudos realizados com animais apóiam a hipótese de que o EFV afeta o comportamento e o desempenho cognitivo (O'MAHONY, 2005; ROMÃO et al., 2011). O'Mahony et al. (2005) estudaram ratos tratados com efavirenz e concluíram que a droga induz comportamento depressivo ao observarem que o efavirenz aumentou a susceptibilidade ao estresse e elevou citocinas inflamatórias, que estão associadas com a depressão (RAISON et al., 2005). Neste mesmo estudo, os pesquisadores verificaram que o uso da substância antidepressiva paroxetina era capaz de impedir os efeitos observados.

Romão et al. (2011) avaliaram o comportamento de camundongos submetidos ao tratamento com efavirenz e identificaram que estes animais apresentavam níveis de ansiedade elevados quando comparados aos grupos não tratados.

De fato, as pesquisas pré-clínicas mesmo com drogas autorizadas para consumo humano, são de extrema importância para a verificação e compreensão de eventos adversos. Especificamente no caso do efavirenz, as manifestações neuropsiquiátricas, que são umas das causas mais freqüentes de abandono de tratamento, devem ser especialmente averiguadas.

As pesquisas relacionadas às manifestações adversas centrais após o uso do efavirenz, entretanto, ainda são majoritariamente referentes apenas à descrição dos principais efeitos manifestados clinicamente. Os estudos em animais e as pesquisas que identifiquem as alterações neurofisiológicas promotoras de tais eventos ainda permanecem bastante restritos.

1.5 Adolescência e desenvolvimento cerebral

O sistema nervoso é um dos primeiros sistemas a se desenvolver, começando a partir do 14º dia após a concepção, sofrendo modificações desde a vida intra-uterina até a maturidade na fase adulta. As evidências neurocientíficas mostram que a adolescência é uma etapa diferenciada do desenvolvimento cerebral, na qual o cérebro infantil transforma-se em adulto. As mudanças ocorrem em muitas estruturas do SNC. No sistema de recompensa, por exemplo, há a redução em aproximadamente 30% dos receptores dopaminérgicos D2, no núcleo *accumbens*, estrutura central na ativação da sensação de prazer. O sistema de recompensa, então, sofre alterações importantes (CHAGAS, 2011).

Em roedores, essa fase é chamada de periadolescência, compreendida entre aproximadamente 35 e 50 dias após o nascimento (SPEAR, 2000). Mudanças

comportamentais, neuroquímicas e neuroanatômicas que ocorrem durante este período em ratos são similares às aquelas vistas em humanos adolescentes (ADRIANI et al., 2003).

Adolescentes com HIV e submetidos à terapia com efavirenz devem receber acompanhamento especial, já que a adolescência é uma fase de grandes transformações. Como dito, o cérebro do adolescente encontra-se na transição da criança para o adulto, o que ocasiona importantes mudanças comportamentais.

1.6 Respostas comportamentais relacionadas ao efavirenz

As manifestações mais comumente descritas são ansiedade, depressão e alucinações/picoses.

1.6.1 Ansiedade

A ansiedade consiste em um estado de tensão ou apreensão onde há a expectativa de alguma coisa (nem sempre ruim) que acontecerá num futuro próximo. São reações normais até o momento em que começam a provocar sofrimento no indivíduo (LENT, 2004). Há vários tipos de ansiedade, sendo os mais comuns: distúrbios do pânico, transtorno do estresse pós-traumático e as fobias (GARAKANI et al., 2006).

Em termos biológicos, a ansiedade induz a uma forma particular de inibição de comportamento (PESTANA, 2010). Em animais, esta inibição pode tomar forma de imobilidade ou de supressão de uma resposta comportamental (RANG et al., 2004). O comportamento de medo ou ansiogênico em animais também pode ser expresso pela aversão espontânea ao ambiente aberto (TREIT et al., 1993), iluminado e alto (BUSH et al., 2007).

Do ponto de vista evolutivo, a ansiedade e o medo, assim como o estresse, têm suas raízes nas reações de defesa dos animais, que ocorrem em resposta aos perigos encontrados em seu meio ambiente. Quando um animal se depara com uma ameaça ao seu bem estar, à sua integridade física, ou até mesmo à sua sobrevivência, ele experimenta uma série de respostas comportamentais e neurovegetativas, que caracterizam a reação de medo. Em um nível neurológico, ocorrem alterações de substâncias neuroquímicas como monoaminas e aminoácidos (MARGIS et al., 2003).

Muitos medicamentos podem estimular o sistema nervoso central, promovendo ansiedade, uns de modo predominante outros de modo secundário. A estimulação pode exteriorizar-se sob a forma de moderada elevação no estado de alerta, excitação, agitação e

até convulsões. A hiperexcitabilidade pode ser um efeito indesejado ou esperado e resulta da alteração do equilíbrio entre os sistemas excitatórios e inibitórios do SNC (KING et al., 1992).

1.6.2 Depressão

A Organização Mundial de Saúde prediz que a depressão será a segunda maior causa de incapacidade e inaptidão em países desenvolvidos e em desenvolvimento no ano de 2020 (KIM, 2007; MAO et al., 2008). Os sintomas da depressão incluem apatia, irritabilidade, dificuldade de concentração, anormalidades no apetite e sono (sintomas neurovegetativos) (NESTLER et al., 2002). Está associado com suicídio, desenvolvimento de distúrbios coronários e diabetes tipo 2 (KNOL et al., 2006), dessa forma, a depressão prejudica o prognóstico de muitas outras condições médicas (EVANS et al., 2005; GILDENGERS et al., 2008).

A explicação para o reduzido prognóstico da depressão e seu considerável impacto está correlacionado com o conhecimento rudimentar da sua fisiopatologia, comparado com outras doenças crônicas e potencialmente fatais (KRISHNAN, 2008; NESTLER, 2008). Há muitas explicações para essa discrepância. Em primeiro lugar, as alterações no cérebro são muito mais difíceis de serem observadas do que as alterações em outros organismos. Técnicas válidas para avaliar aberrações no circuito cerebral dependem de estudos post-mortem, no qual possuem numerosas limitações, ou técnicas de neuroimagem, na qual detectam alterações na atividade neuronal usando marcadores indiretos para ativação (PHELPS; LeDOUX, 2005). Embora as pesquisas tenham revelado importantes regiões envolvidas, o aumento ou redução da atividade em regiões cerebrais são probabilidades insuficientes para explicar os complexos sintomas causados pela depressão. A maioria dos casos de depressão ocorre idiopaticamente e o conhecimento limitado de sua etiologia é refletido como uma lista de vários fatores de risco, como eventos estressantes, anormalidades endócrinas, câncer e efeito de algumas drogas (DREVETS, 2001). O diagnóstico oficial da depressão é subjetivo e baseia-se na documentação de um certo número de sintomas.

Em animais, não há condição conhecida que corresponda à condição inata da depressão em seres humanos, mas vários procedimentos foram descritos, que produzem em animais estados comportamentais (retirada da interação social, perda de apetite, atividade motora reduzida, estresse, situações inescapáveis, entre outros), típicos da depressão humana (PORSOLT et al., 1987).

1.6.3 Alucinações e Psicoses

Alucinações são experiências sensoriais para as quais não se encontram estímulos sensoriais correspondentes (SPERLING; MARTIN, 1982). Psicose é a perda de contato afetivo com a realidade (KRINSKY, 1977) evidenciada pela ocorrência de alterações de percepção da realidade, inclusive alucinações (SPERLING; MARTIN, 1982).

O termo alucinação significa, no âmbito da psiquiatria clássica, percepção sem objeto e diz respeito à projeção subjetiva de conteúdos senso-perceptivos no espaço objetivo (PIÉRON, 1966, p. 18). Paim (1969, p. 20-21) prefere considerar as alucinações como perturbações da representação justamente pela ausência de um objeto externo. Porém, o que caracteriza uma alucinação verdadeira, distinguindo-a de uma ilusão ou de um erro de interpretação da realidade é que, do ponto de vista do alucinante, a alucinação é vivida como uma experiência real (SANTOS, 2006).

As alucinações podem ser auditivas, visuais, olfativas. A manifestação mais comum provém de alucinações auditivas. Já em relação às alucinações visuais, segundo Paim (1969), “o seu conteúdo é, em geral, desagradável, e acompanha-se de um estado afetivo intensamente angustiante”.

As psicoses são, apropriadamente, classificadas nas variedades funcionais e orgânicas. As Psicoses são divididas em: Psicoses agudas (transtorno psicótico breve, ocorrendo psicoses reativas ou psicogênicas); Psicoses agudas e recorrentes (psicose ciclóide); Psicoses induzidas por substância ou psicoses orgânicas agudas; Psicoses crônicas (esquizofrenia); Transtorno esquizoafetivo; Transtorno esquizofreniforme; Transtorno delirante persistente (TENGAN; MAIA, 2004).

A psicose orgânica refere-se a uma condição reversível ou não de disfunção mental, que pode ser identificada como um distúrbio da anatomia, fisiologia ou bioquímica do cérebro. A psicose funcional refere-se a uma condição de disfunção mental, identificada como esquizofrenia, uma doença afetiva maior, ou outros distúrbios mentais com características psicóticas.

Nas psicoses orgânicas causadas por intoxicação alcoólica ou ingestão de drogas, por exemplo, ocorre maior incidência de alucinações visuais. Já nas psicoses funcionais, como a esquizofrenia ou a psicose cíclica, surgem “alucinações conceituais e predominantemente auditivas” (D’ANDREA, 1990, p. 71).

A alucinação é considerada um dos sintomas do quadro psicopatológico da psicose orgânica ou funcional. É reconhecida como um tipo de distúrbio da percepção e do senso da realidade que pode desencadear uma alteração do pensamento de tipo delirante, indicador de comprometimento de funções psíquicas mais complexas (SANTOS, 2006).

1.6.4 Convulsões

A convulsão é uma resposta a uma descarga elétrica anormal no cérebro (CAMPOS, 2005). O termo crise convulsiva descreve várias experiências e comportamentos e não é o mesmo que convulsão, embora utilizados como sinônimos. Segundo Araújo (apud XAVIER; SILVA; NAKAMURA, 2006) esse termo é usado para designar um episódio isolado. Qualquer coisa que irrite o cérebro pode produzir uma crise convulsiva (CAMPOS, 2005).

Há referências na literatura sobre a interferência de antirretrovirais, sobretudo o EFV, na ocorrência de convulsões (MARQUES, 2006). Em um estudo de coorte francês, observou-se aumento na taxa de convulsões febris precoces em crianças não infectadas expostas a anti-retrovirais, cujo risco cumulativo foi de 11/1000 crianças (1,1%), comparado com risco de 4,1/1000 (0,4%) nas crianças do grupo sem exposição aos anti-retrovirais (LANDREAU-MASCARO et al., 2002). Entretanto, não há nada estabelecido sobre a relação do efavirenz na ocorrência de convulsões.

1.7 Envolvimento neuroquímico nas alterações comportamentais

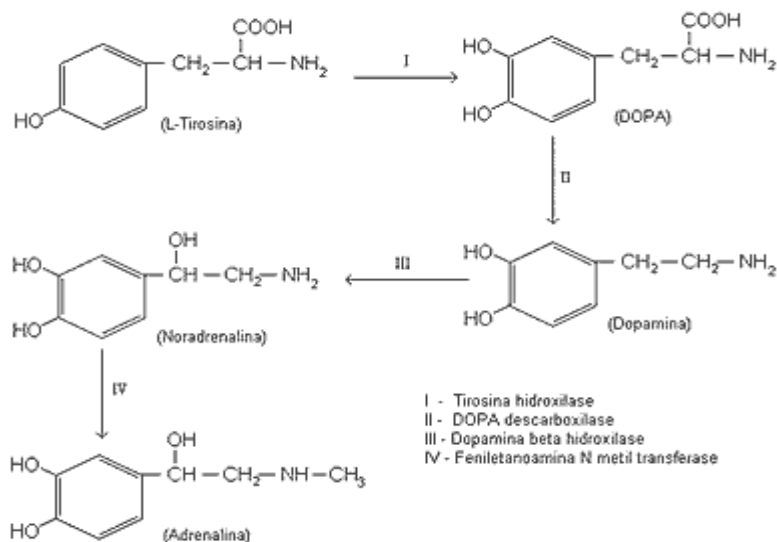
Alterações neuroquímicas, como de monoaminas, aminoácidos e estresse oxidativo podem desencadear distúrbios de comportamento.

1.7.1 Monoaminas e Transtornos Psiquiátricos

Os neurotransmissores de aminas biogênicas, que derivam de aminoácidos descarboxilados, incluem a noradrenalina (NA), dopamina (DA), adrenalina, serotonina (5-HT) e histamina. Todas as aminas biogênicas são formadas a partir de precursores de aminoácidos. Com base nesses precursores, são divididas em três categorias: as catecolaminas (noradrenalina adrenalina e dopamina), derivadas do aminoácido tirosina, a indolamina serotonina é sintetizada a partir do triptofano e a histamina, formada a partir da histidina (GOLAN, 2009).

As aminas biogênicas que possuem apenas um grupamento amina são denominadas monoaminas e compreendem a noradrenalina (NA), dopamina (DA) e serotonina (5-HT). As monoaminas noradrenalina (NA) e dopamina (DA), por possuírem um grupo catecol (anel benzeno com dois grupamentos hidroxil adjacentes) e serem derivadas do aminoácido tirosina, como referido anteriormente, são definidas catecolaminas. Duas reações transformam tirosina em dopamina: a primeira é catalisada pela enzima tirosina hidroxilase (TH) e converte tirosina em L-3,4-dihidroxi-fenilalanina (L-DOPA). A TH é considerada a enzima limitante nessa síntese (FELDMAN et al., 1997). Em seguida, ocorre descarboxilação da DOPA, pela DOPA descarboxilase, em dopamina, que sofre ação da dopamina β hidroxilase para formar noradrenalina (**Figura 2**). Após a síntese, as catecolaminas difundem-se pela fenda sináptica onde podem sofrer metabolização pelas enzimas monoamina oxidase (MAO) e catecol o-metil transferase (COMT). Os metabólitos produzidos são o ácido dihidroxifenilacético (DOPAC) e o ácido homovalínico (HVA), sendo este último o principal metabólito da dopamina.

Figura 2 - Síntese da dopamina e noradrenalina a partir do aminoácido L-Tirosina



Fonte: PUSTER, 2008.

1.7.1.1 Dopamina

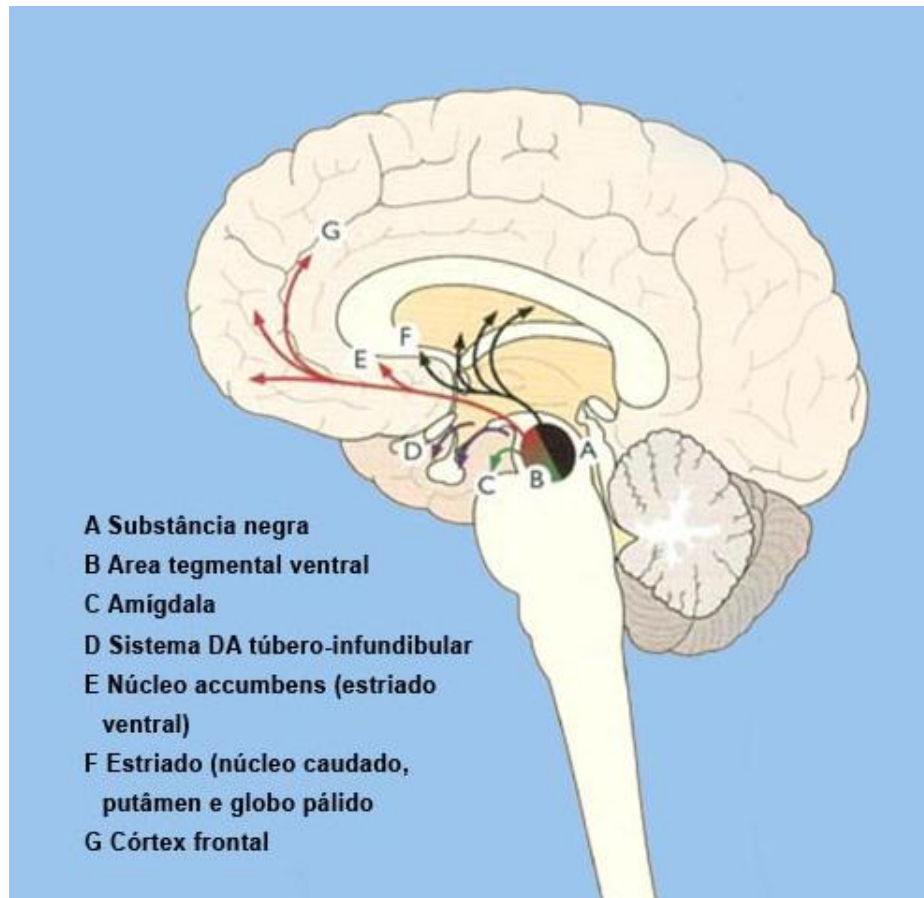
Inicialmente, a dopamina foi considerada apenas um precursor da noradrenalina, mas estudos posteriores demonstraram que a distribuição da dopamina e da noradrenalina é significativamente diferente. Na verdade, mais da metade, cerca de 80%, das catecolaminas presentes no cérebro é de dopamina (MISSALE et al., 1998). A dopamina é de fundamental importância nas funções motora, motivacional e relacionadas à memorização.

Os neurônios dopaminérgicos surgem na substância negra e na área tegmental ventral (ATV) e projetam-se para o estriado e córtex cerebral (GOLAN, 2009). As projeções originadas destas regiões se estendem para áreas cerebrais formando quatro vias dopaminérgicas: mesocortical, tuberoinfundibular, nigroestriatal e mesolímbica. **(Figura 3)**.

A via mesocortical tem origem na área tegmentar ventral (ATV) e inerva diferentes regiões do córtex frontal. Esta via parece estar envolvida em alguns aspectos do aprendizado e memória (LE MOAL; SIMON, 1991; FELDMAN et al., 1997). A via tuberoinfundibular origina-se das células do núcleo periventricular e arqueado do hipotálamo (FELDMAN et al., 1997). As projeções desta via alcançam a eminência média do hipotálamo onde ocorre liberação de dopamina nos espaços perivasculares do plexo capilar do sistema hipotalâmico-hipofisário. Por esta via a dopamina é transportada para a hipófise anterior onde atua inibindo a liberação de prolactina.

O sistema nigroestriatal compreende os neurônios dopaminérgicos pigmentados que se originam da substância negra *pars compacta* e terminam na região chamada de corpo estriado dorsal, que inclui o núcleo caudado e putâmen. A via nigroestriatal está envolvida no controle dos movimentos e a sua degeneração causa a doença de Parkinson, caracterizada por tremor de repouso, rigidez e bradicinesia (GERFEN, 1992; LANG; LOZANO, 1998a). A via mesolímbica é originada do mesencéfalo na área tegmentar ventral e inerva o estriado ventral (*nucleus accumbens*), o tubérculo olfatório (TO) e parte do sistema límbico (FELDMAN et al., 1997). Esta via está implicada com o comportamento motivacional (KOOB; BLOOM, 1988; KOOB, 1992).

Figura 3 - Principais Vias Dopaminérgicas



Fonte: SALUM, 2008.

As projeções dopaminérgicas provenientes da substância negra e da ATV que inervam o corpo estriado estão envolvidas com o movimento e emoções, respectivamente. Assim, o comprometimento da via nigroestriatal pode ocasionar distúrbios motores, aumentando ou reduzindo o movimento, conforme ocorra aumento ou redução de dopamina, respectivamente, enquanto que alterações na via mesolímbica podem desencadear distúrbios de ordem mental, como depressão ou psicoses.

A esquizofrenia é um transtorno do processo mental caracterizado por um ou mais episódios de psicose (GOLAN, 2009). O modelo mais comumente citado para explicar a patogenia da esquizofrenia é a hipótese da dopamina, segundo a qual a doença é causada por níveis elevados ou desregulados da neurotransmissão de DA no cérebro. Acredita-se que a desregulação da transmissão dopaminérgica na esquizofrenia ocorre em locais anatômicos específicos no cérebro. Particularmente o sistema mesolímbico, que se origina na área

tegmental ventral projetando-se para *núcleo accumbens* e estriado ventral, está envolvido no desenvolvimento das emoções e alguns aventaram a hipótese de que a hiperatividade do sistema mesolímbico é o fator responsável pelos sintomas positivos da esquizofrenia, inclusive as alucinações (GOLAN, 2009).

Enquanto a elevação de dopamina responde pela ocorrência de alucinações, psicoses e comportamento esquizofrênico, a redução nos níveis desta catecolamina, está envolvida com episódios de depressão. Foi mostrado que em modelos animais de depressão, os níveis de dopamina extracelular estão diminuídos (ROSSETTI et al., 1993). Além disso, tem sido considerado que a dopamina está envolvida com os efeitos antidepressivos de drogas (JOCA et al., 2000), pois a bupropiona, um inibidor seletivo da recaptação de dopamina, é clinicamente utilizado como antidepressivo (MARTIN et al., 1990; ASCHER et al., 1995).

1.7.1.2 Noradrenalina

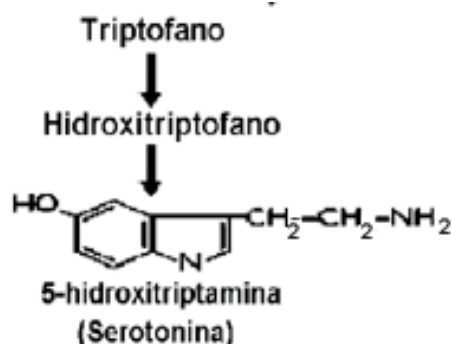
A alteração no sistema noradrenérgico tem sido implicada em vários distúrbios como transtorno do déficit de atenção e hiperatividade, depressão e ansiedade (TIMMONS et al., 2004). Os neurônios noradrenérgicos originam-se no *lócus cereleus* e inervam todo o cérebro.

Certos componentes do sistema noradrenérgico podem estar envolvidos com excitação e medo. Assim, a ansiedade e a perda do prazer, características da melancolia e da depressão podem estar relacionadas à desregulação do sistema noradrenérgico, de modo que a elevação de noradrenalina relaciona-se com a ansiedade, enquanto a diminuição com a depressão (SCHILDKRAUT, 1965; KANDEL et al., 2000; KALIA, 2005; HALES, YUDOFISKY, 2006).

1.7.1.3 Serotonina

A 5-hidroxitriptamina (5-HT, serotonina) é sintetizada a partir do aminoácido essencial L-triptofano após sua captação do sangue para o cérebro. O triptofano é convertido a 5-hidroxitriptofano pela ação da triptofano hidroxilase, etapa limitante da reação. O 5-hidroxitriptofano, por sua vez, é convertido a 5-hidroxitriptamina (serotonina) pela ação da enzima L-aminoácido aromático descarboxilase (**Figura 4**).

Figura 4 - Biossíntese da Serotonina a partir do Triptofano



Fonte: Adaptado de MAGANHIN, 2008.

Após a síntese, a serotonina é armazenada nos grânulos secretores e liberada dos neurônios serotoninérgicos por exocitose. A principal via de metabolismo da 5-HT envolve a desaminação oxidativa pela MAO, com formação de um intermediário acetaldeído (5-hidroindolacetaldeído), que, por fim, é convertido em ácido 5-hidroindolacético (5-HIAA), pela enzima aldeído desidrogenase. Como a formação de 5-HIAA é responsável por quase 100% do metabolismo da 5-HT no cérebro, a taxa de renovação da serotonina é estimada a partir e determinar a taxa de elevação do 5-HIAA.

A dieta é a fonte exclusiva de obtenção do triptofano (TRP), aminoácido essencial precursor da 5-HT. A alteração na concentração sérica de triptofano está associada a doenças. O TRP é metabolizado por duas principais vias: a via das quinureninas e a via serotoninérgica. Uma das enzimas responsáveis pela metabolização periférica do TRP é a triptofano -2,3- dioxigenase (TDO), expressa quase que exclusivamente pelo fígado. Alterações na atividade de TDO podem alterar a disponibilidade de triptofano e interferir nos níveis de serotonina (ZHEVE, 2007).

A serotonina está envolvida em praticamente todos os comportamentos tais como apetite, atividade motora, nocicepção, sexual e humor. Baixos níveis de 5-HT estão associados com a depressão, enquanto que há relatos de que elevações exacerbadas estão envolvidas na ocorrência de psicoses ou alucinações (COSTAL; NAYLOR, 1995).

1.7.2 Aminoácidos e Transtornos Psiquiátricos

O SNC apresenta altas concentrações de determinados aminoácidos que se ligam a receptores pós-sinápticos, atuando como neurotransmissores inibitórios ou excitatórios. Os aminoácidos aspartato e glutamato são aminoácidos excitatórios, enquanto glicina, taurina e ácido- γ -aminobutírico (GABA) são inibitórios.

O glutamato é o principal aminoácido excitatório do SNC, enquanto o GABA é o principal aminoácido inibitório. O GABA é formado a partir do glutamato, pela ação da enzima glutâmico descarboxilase (GAD).

A glicose e a glutamina parecem ser os precursores para a biossíntese de glutamato no cérebro (BRADFORD e THOMAS, 1969). O glutamato pode se ligar a receptores ionotrópicos (associados a canais iônicos) ou metabotrópicos (ligados à proteína G). Os receptores ionotrópicos podem ser dos tipos NMDA (N-metil-D-aspartato), AMPA (propionato de α -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazole) e cainato (CA). Os metabotrópicos são divididos em grupos I, II e III. Os receptores de GABA são classificados em GABA_A e GABA_B.

Alguns transtornos mentais estão associados à desregulação de aminoácidos neurotransmissores, principalmente glutamato e GABA. Níveis elevados de glutamato ou níveis baixos de GABA estão envolvidos com a ocorrência de ansiedade (MARGIS, 2003). Também está estabelecido que alterações nas concentrações de glutamato podem precipitar comportamento esquizofrênico (OLNEY, 1988).

1.7.3 Estresse Oxidativo

A composição fosfolipídica da membrana plasmática desempenha um papel direto em uma variedade de processos multicelulares, incluindo inflamação (GRIMBLE, 1998) e imunidade (YEHUDA; MOSTOFSKY, 1997), com implicações para doenças neurodegenerativas. O dano oxidativo a lipídios é de particular importância, especialmente no SNC devido à grande presença de ácidos graxos poliinsaturados (BASSETT; MONTINE, 2003), como o ácido araquidônico (GAMOR et al., 1999).

O estresse oxidativo é o resultado da excessiva produção de espécies químicas reativas, como os radicais livres. Os radicais livres ou provocam ou resultam de reações de óxido-redução, que ocorrem fisiologicamente.

Na verdade, radical livre não é o termo ideal para designar os agentes reativos patogênicos, pois alguns deles não apresentam elétrons desemparelhados em sua última camada. Como em sua maioria são derivados do metabolismo do O_2 , o mais correto é utilizar o termo "espécies reativas do metabolismo do oxigênio" (ERMO) (FERREIRA; MATSUBARA, 1997).

ERMO são encontradas em todos os sistemas biológicos. Em condições fisiológicas do metabolismo celular aeróbio, o O_2 sofre redução tetravalente, com aceitação de quatro elétrons, resultando na formação de H_2O . Durante esse processo são formados intermediários reativos, como os radicais superóxido (O_2^-), hidroperoxila (HO_2^-) e hidroxila (OH) e o peróxido de hidrogênio (H_2O_2). Normalmente, a redução completa do O_2 ocorre na mitocôndria, e a reatividade das ERMO é neutralizada com a entrada dos quatro elétrons (COHEN, 1989).

Todos os componentes celulares são suscetíveis à ação das ERMO, porém a membrana é um dos mais atingidos em decorrência da peroxidação lipídica, que acarreta alterações na estrutura e na permeabilidade das membranas celulares (MELO FILHO, 1983). Conseqüentemente, há perda da seletividade na troca iônica e liberação do conteúdo de organelas, como as enzimas hidrolíticas dos lisossomas, e formação de produtos citotóxicos (como o malonildialdeído), culminando com a morte celular (HERSHKO, 1989). A lipoperoxidação também pode estar associada aos mecanismos de envelhecimento, de câncer e à exacerbação da toxicidade de xenobióticos (SHAN, 1990). Assim como na formação das ERMO, nem sempre os processos de lipoperoxidação são prejudiciais, pois seus produtos são importantes na reação em cascata a partir do ácido aracônico (formação de prostaglandinas) e, portanto, na resposta inflamatória (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 1990). Todavia, o excesso de tais produtos pode ser lesivo (ROSS; MOLDEUS, 1991).

Em sistemas aeróbicos, é essencial o equilíbrio entre agentes óxido-redutores (como as ERMO) e o sistema de defesa antioxidante. Como dito, esses agentes são gerados endogenamente como conseqüência direta do metabolismo do O_2 e também em situações não fisiológicas, como a exposição da célula a xenobióticos que provocam a redução incompleta de O_2 (ROSS; MOLDEUS, 1991). Para proteger-se, a célula possui um sistema de defesa. Caso ocorra um desequilíbrio entre os sistemas de defesa e a formação de ERMO, ocorrerá estresse oxidativo.

Existem evidências de que as ERMO possam estar envolvidas em mais de 50 doenças ou eventos nosológicos. Algumas doenças associadas às ERMO são: enfisema, displasia broncopulmonar, pneumoconiose, toxicidade por bleomicina, paraquat, butilidroxitolueno, fibras minerais e fumo, asma e SARA (BAST et al., 1991; BOVERIS et al., 1986).

Os métodos mais utilizados para aferição indireta das ERMO e, conseqüentemente, das lesões oxidativas são os espectrofotométricos e cromatométricos, que medem a atividade enzimática (SOD, catalase, GSH-Px e GSH-Rd) e/ou a concentração de tripeptídeos (GSH, GSSG) e aldeídos, como o malonildialdeído (MDA) (FERREIRA; MATSUBARA, 1997).

2 JUSTIFICATIVA E RELEVÂNCIA

A disponibilidade de uma terapia antirretroviral tem sido associada ao declínio significativo da morbidade e mortalidade de pessoas com HIV em muitos países (FUCHS et. al, 2004). O Brasil é um dos primeiros países a adotar políticas de saúde significativas para a melhoria do atendimento dos portadores do HIV/AIDS. Entre essas políticas, destaca-se o acesso universal e gratuito da população aos medicamentos usados no tratamento de AIDS. Aproximadamente 180 mil pacientes estão em tratamento com os 17 antirretrovirais distribuídos pelo Sistema Único de Saúde. (GRECO; SIMÃO, 2007), incluindo o Efavirenz.

Os tratamentos ambulatoriais têm transferido para os pacientes um papel muito importante no controle de sua doença. Muitos indivíduos em terapia antirretroviral não alcançam ou mantêm uma adequada supressão virológica ao longo do tempo e conseqüentemente, têm um risco aumentado de progressão da infecção. O fator determinante do grau e duração da supressão virológica do HIV é a adesão ao regime de tratamento que tipicamente consiste de múltiplos medicamentos. A má adesão ao tratamento pode ser explicada pela complexidade dos esquemas terapêuticos, o que envolve a carga de comprimidos, necessidades alimentares, interações entre fármacos e sérios efeitos adversos.

Todas as faixas etárias estão sujeitas à infecção pelo HIV, sendo o efavirenz utilizável em todas elas. Particularmente no caso dos adolescentes, fase de grandes transformações, com expressiva mudança e labilidade comportamental, o uso do medicamento deve ser acompanhado por profissionais capacitados a identificarem alterações de comportamento relacionadas ao uso do fármaco.

Conforme exposto anteriormente, estudos evidenciam que o efavirenz parece estar envolvido com o desenvolvimento de efeitos adversos no SNC. Para Buchala (2000), a ocorrência de reações adversas é um dos motivos de má adesão e abandono de tratamento.

Desse modo, o conhecimento de quais tipos de reações adversas ocorrem no SNC com o uso deste fármaco, o mecanismo dessas reações em nível cerebral e a própria atuação dele no SNC, pode contribuir para o estabelecimento de estratégias no manejo da terapia aplicada, bem como na descoberta de quais fármacos podem vir a ser mais efetivos e bem tolerados pelos pacientes com HIV e doenças no SNC.

Com essa visão, o presente estudo contribuirá como subsídio para um projeto maior que foi aprovado no edital Universal 2007 do CNPq com o título *Acompanhamento farmacoterapêutico de pacientes com HIV sob terapia antiretroviral: avaliação e impacto do acompanhamento, desenvolvimento de software e investigação experimental de reações adversas detectadas*, onde as reações adversas observadas durante o acompanhamento farmacoterapêutico de pacientes portadores do vírus HIV assistidos por três centros de referência nesse tipo de atendimento no Ceará, e que estejam relacionadas com efeitos em nível de SNC, serão investigadas quanto ao mecanismo de ação dessas reações e suas seqüelas em nível central. Por conseguinte, o trabalho realizado nestes centros de referência e o presente estudo, utilizando modelos experimentais em animais, serão complementares no sentido de verificar efetivamente a ação do efavirenz sobre o sistema nervoso central no sentido de analisar a ocorrência e perfil das reações adversas.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

O objetivo deste estudo foi avaliar a ação do antirretroviral Efavirenz no sistema nervoso central após os tratamentos agudo e subcrônico, através da análise comportamental em modelos padronizados de ansiedade, depressão e convulsão em ratos adolescentes e das concentrações neuroquímicas no córtex pré-frontal, corpo estriado e hipocampo relacionadas a estes comportamentos, bem como verificar a existência de alterações envolvidas com a ocorrência de psicose/alucinações e estresse oxidativo.

3.2 Objetivos Específicos

- ✓ Avaliar os efeitos do tratamento com Efavirenz em modelos comportamentais de ansiedade, depressão, atividade locomotora e convulsão após os tratamentos agudo e subcrônico;
- ✓ Identificar os efeitos do tratamento com Efavirenz sobre os níveis de monoaminas no corpo estriado observando relação com ansiedade, depressão, psicose/alucinações após os tratamentos agudo e subcrônico;
- ✓ Identificar os efeitos do tratamento com Efavirenz sobre os níveis de aminoácidos no córtex pré-frontal e corpo estriado observando relação com ansiedade, depressão, psicose/alucinações e convulsões após os tratamentos agudo e subcrônico;
- ✓ Investigar os efeitos do tratamento com Efavirenz sobre o estresse oxidativo, através da dosagem de malonildialdeído (MDA) no hipocampo após os tratamentos agudo e subcrônico.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Animais

Foram utilizados ratos Wistar, periadolescentes (35 dias), do sexo masculino, pesando entre 80-100g, provenientes do Biotério do Departamento de Fisiologia e Farmacologia e do Biotério Central da Universidade Federal do Ceará, mantidos em caixas de propileno, em temperatura de $26 \pm 2^\circ \text{C}$, com ciclos claro/escuro de 12 em 12 horas, recebendo ração padrão (Purina Chow) e água “*ad libitum*”. Os animais foram colocados em jejum de sólidos durante 6 horas antes da realização de cada experimento em que a via oral foi utilizada para a absorção das substâncias. Os protocolos experimentais foram aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa Animal (CEPA) da Universidade Federal do Ceará, sob o protocolo número 09/2011.

4.2 Drogas

Quadro 1 - Drogas e Reagentes utilizados e suas origens

Drogas/Reagentes	Origem
Água Destilada	Deionizador
Diazepam	União Química Brasil
Imipramina Imipra®	Cristália
Cloridrato de pilocarpina	(Sigma Chemical Co.,USA)
Efavirenz Stocrin®	Merck Sharp&Dohme

Quadro 2 - Materiais utilizados

Equipamento	Origem
Balança Analítica Modelo H5	Mettler, Suíça
Balança para animais, ID 1500	Filizola, Brasil
Cubetas para leitura em espectrofômetro	Sarstedt, Alemanha Oriental
Espectrofotômetro, Beckman DU	Ohio, USA
Cronômetro	Incoterm, Brasil
Deionizador USF	Elga, USA
Pipetas Automáticas H.E.	Pedersen, Dinamarca
Sonicador Modelo PT 10-35	Brinkmann Instruments Inc., NY, USA
Equipamento de HPLC – Cromatografia Líquida de Alta Performance – Detector eletroquímico	Detector eletroquímico (Modelo L-ECD-6 ^a) e Eletrodo de Carbono; Degaseificador (DGU-2 ^a); Integrador (C-R6A Chromatopac); Injetor/ Shimadzu Corp., Japão
Aagitador de tubos Modelo 251	FANEN, SP, Brasil
Centrífuga refrigerada Marathon 26 KMR	Fisher Scientific
Equipamento para filtração a vácuo	Millipore Apparatus, Bedford, MA, EUA
Campo Aberto	Fabricado no próprio laboratório
Labirinto em Cruz Elevado	Fabricado no próprio laboratório
Recipiente do Nado Forçado	Fabricado no próprio laboratório
Medidor de pH, modelo B374	Micronal, SP, Brasil
Freezer -70° ULT 2586 – 3D14	Revco Scientific, Inc. Asheville, N.C.,EUA
Banho Maria, 102/1	Bellico, USA

4.3 Preparo das Drogas

As drogas foram dissolvidas em água destilada, obtendo-se as concentrações finais conforme a **Tabela 1**.

Tabela 1 - Concentração final, via de administração e abreviatura das drogas utilizadas.

Droga	Concentração Final	Via de Administração	Abreviatura
Efavirenz	25 e 50 mg/kg	Via Oral (v.o.)	EFV
Diazepam	1 mg/kg	Via Intraperitoneal (i.p.)	DZP
Imipramina	10 mg/kg	Via Intraperitoneal (i.p.)	IMP
Pilocarpina	400 mg/kg	Via Intraperitoneal (i.p.)	P400

4.4 Tratamento do grupo experimental

Os animais foram tratados com Efavirenz, de forma aguda ou subcrônica (por 15 dias) nas doses de 25 e 50 mg/Kg através da via oral (v.o.). Os animais foram submetidos aos testes 60 minutos ou 15 dias após os tratamentos, conforme tratamento agudo ou subcrônico, respectivamente. Os grupos controles receberam apenas água destilada por via oral (v.o.) 60 minutos ou durante 15 dias antes do experimento, conforme experimento agudo ou subcrônico, respectivamente. Para a avaliação da atividade sobre a depressão, no teste do nado forçado, foi utilizado imipramina 10 mg/Kg (i.p.) como padrão positivo. Como referência ansiolítica foi utilizado o diazepam 1mg/Kg (i.p.) no teste do labirinto em cruz elevado e no campo aberto. No teste de convulsão foi utilizado pilocarpina 400 mg/kg (i.p.). Ver **Tabela 2**

Tabela 2 - Grupos Experimentais

Grupo	Teste	Droga Utilizada	Abreviatura
Efavirenz 25	Todos os testes	Efavirenz 25 mg/kg	EFV25
Efavirenz 50	Todos os testes	Efavirenz 50 mg/kg	EFV50
Controle Normal	Todos os testes	Água destilada	CONTROLE
Diazepam (Controle Positivo)	Labirinto em Cruz Elevado e Campo Aberto	Diazepam 1mg/kg	DZP
Imipramina (Controle Positivo)	Nado Forçado	Imipramina 10 mg/kg	IMP
Efavirenz 25	Convulsão	Efavirenz 25 mg/kg + Pilocarpina 400 mg/kg	EFV25/P400
Efavirenz 50	Convulsão	Efavirenz 50 mg/kg + Pilocarpina 400 mg/kg	EFV50/P400
Pilocarpina	Convulsão	Pilocarpina 400 mg/kg	P400

4.5 Protocolo Experimental

Antes dos experimentos, os animais foram colocados em ambiente fechado, desprovido de barulho externo, com a temperatura constante ($24 \pm 1^\circ \text{C}$) e iluminação de baixa intensidade (lâmpada vermelha de 15 W), de modo que se adaptassem com o ambiente do experimento. Os testes do labirinto em cruz elevado e do campo aberto foram realizados com os mesmos grupos de animais da maneira descrita a seguir: primeiramente os animais, um por vez, foram colocados no labirinto em cruz elevado onde foram observados por 5 minutos e, em seguida, foram transferidos para o campo aberto onde a atividade foi observada pelo mesmo período. Os outros testes comportamentais, como nado forçado e convulsão induzida por pilocarpina foram realizados com diferentes grupos de animais. Em todos os testes, com exceção, apenas, do nado forçado, após cada observação animal, foi utilizado álcool a 70% para remoção de resíduos e odor do animal.

4.6 Avaliação da Atividade sobre a Ansiedade

4.6.1 Teste do Labirinto em Cruz Elevado

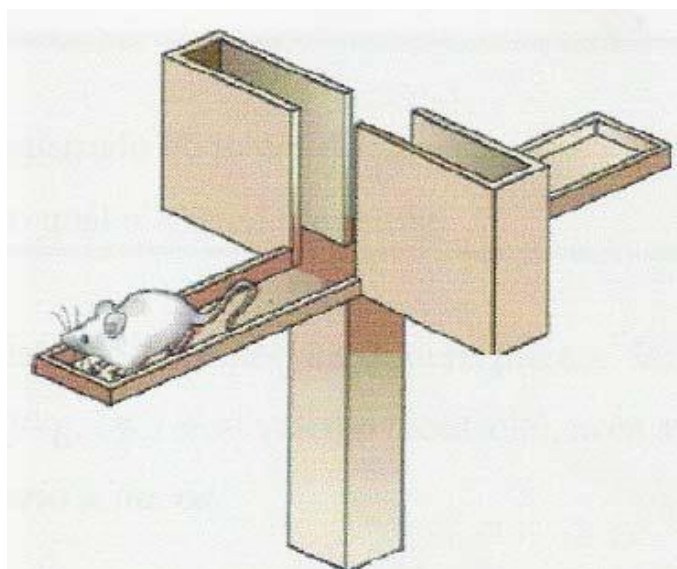
Os ratos foram divididos em 4 grupos de animais, onde foram tratados com veículo (água destilada, v.o.), efavirenz (25 e 50 mg/Kg, v.o.) e diazepam (1mg/Kg, i.p.).

Este modelo (LISTER, 1987) consiste de dois braços abertos opostos (30 x 5 cm) e dois fechados (30 x 5 x 25cm), também opostos, em forma de cruz, conectados por uma plataforma central (5 x 5cm). A plataforma e as paredes laterais dos braços fechados são confeccionadas em acrílico transparente e o chão em acrílico preto. O aparelho está elevado a uma altura de 45 cm do nível do chão (**Figura 5**). Após 30 ou 60 minutos dos tratamentos i.p. ou v.o., respectivamente, os animais foram colocados no centro do aparelho com a cabeça voltada para um dos braços fechados e o seu comportamento foi observado por 5 minutos. As medidas comportamentais observadas foram: número de entradas e o tempo de permanência nos braços abertos e fechados, respectivamente.

A frequência total de entradas é obtida pela soma simples das frequências de entradas nos braços abertos e fechados. Dessa forma, os parâmetros utilizados para a análise estatística foram: número de entradas no braço aberto (NEBA), tempo de permanência no braço aberto (TPBA), número de entradas no braço fechado (NEBF), tempo de permanência no braço fechado (TPBF). Para análise estatística, todos os grupos foram comparados ao grupo controle.

Os grupos experimentais foram conduzidos ao labirinto 60 min após a administração do veículo e EFV, com exceção do grupo que recebeu Diazepam, que foi conduzido ao labirinto após 30 minutos da administração deste.

Figura 5 - Ilustração do instrumento utilizado no teste Labirinto em Cruz Elevado

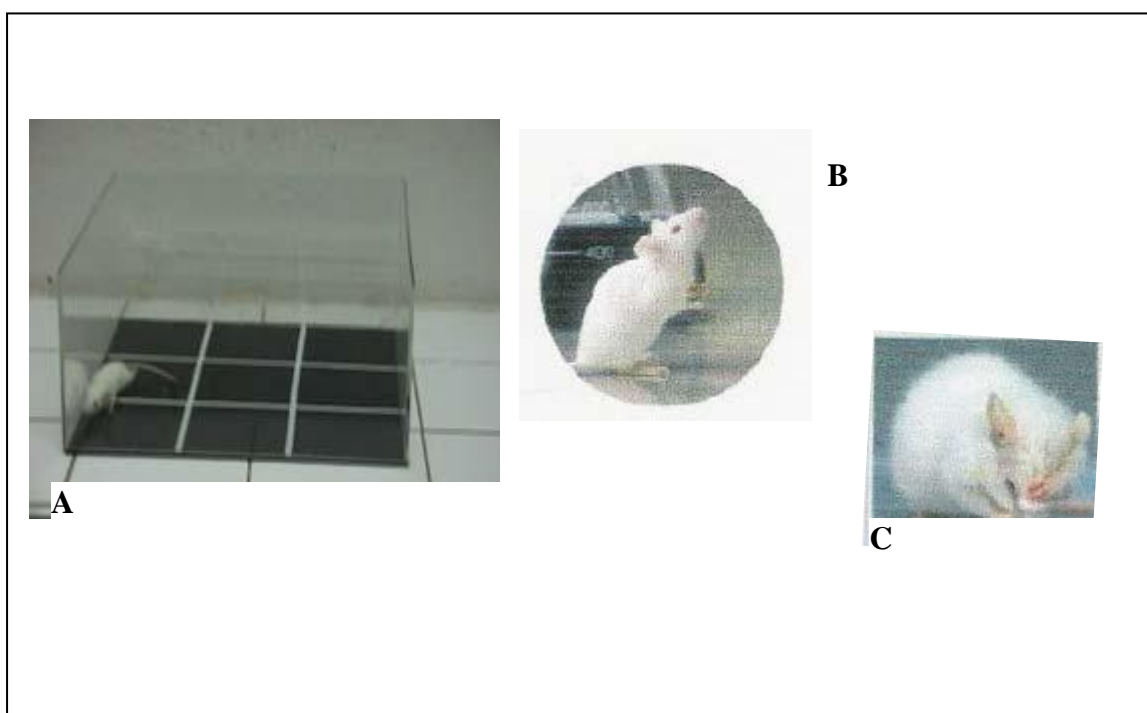


4.7 Avaliação da Atividade sobre a Área Locomotora

4.7.1 Teste do Campo Aberto

Os ratos foram divididos em 4 grupos de animais, onde foram tratados com veículo (água destilada), efavirenz (25 e 50 mg/Kg, v.o.) e diazepam (1 mg/Kg, i.p.). A atividade motora dos animais foi verificada por meio de um campo aberto feito de acrílico (paredes transparentes e piso preto, 30 x 30 x 15 cm) e dividido em 9 quadrantes iguais, baseado no modelo descrito por Archer (1973). Após 30 ou 60 minutos dos tratamentos i.p. ou v.o., respectivamente, os animais, um por vez, foram colocados no centro do campo aberto onde o número de cruzamentos com as quatro patas (atividade locomotora espontânea; ALE), número de comportamento de autolimpeza (*grooming*) e o número de levantamentos (*rearing*), sem encostar-se à parede, foram observados durante o tempo de 5 minutos.

Figura 6 - Teste do Campo Aberto.



A. Caixa em acrílico, com o piso dividido em nove partes. B. Grooming C. Rearing.

4.8 Avaliação da Atividade sobre a Depressão

4.8.1 Teste do Nado Forçado

Para este experimento (PORSOLT et al., 1987) foram utilizados tanques de 22 cm de diâmetro e 40 cm de altura contendo água fresca a $23 \pm 1^\circ \text{C}$ até a metade do tanque. Os

ratos foram divididos em 4 grupos de animais, onde foram tratados com veículo (água destilada), efavirenz (25 e 50 mg/Kg, v.o.), imipramina (10 mg/Kg, i.p.).

Após 30 ou 60 minutos dos tratamentos i.p. ou v.o., respectivamente, os animais foram colocados, um por vez, no tanque onde o tempo de imobilidade, em segundos, foi registrado durante cinco minutos. O animal foi considerado imóvel quando permaneceu flutuando na água, fazendo apenas movimentos suaves necessários para manter a cabeça acima da água.

Figura 7 - Teste do Nado Forçado.



O animal é colocado na água, em seguida, é observado por 5 minutos.

4.9 Teste da Convulsão Induzida por Pilocarpina

Os animais foram divididos em 3 grupos que foram tratados com veículo (água destilada) e efavirenz (25 e 50 mg/kg, v.o.). Após 60 minutos dos tratamentos v.o. foi administrado pilocarpina 400mg/Kg (P400), i.p. (YILMAZ, 2007). Logo após a administração do P400, os animais foram colocados em gaiolas individuais e observados por

um período de 1 hora. O parâmetro analisado foi a latência da convulsão (tempo entre a administração do P400 até a primeira convulsão clônica ou tônico-clônica). Tempo em segundos.

4.10 Dissecção das Áreas Cerebrais (Córtex pré-frontal, Hipocampo e Corpo Estriado)

Os animais foram sacrificados por guilhotina, os encéfalos foram retirados e rapidamente colocados sobre papel alumínio em uma placa de Petri com gelo. Para a retirada do Córtex pré-frontal (CPF), a porção anterior dos lobos frontais (em torno de 1,5mm a partir do bulbo olfatório) foi removida e feita uma secção bilateral com o auxílio de uma tesoura de microdissecção (MACHADO, 1985).

Após a retirada do CPF, acompanhando a fissura sagital mediana, a camada cortical cerebral foi rebatida das meninges com o auxílio de uma pinça reta de microdissecação, a qual, progredindo delicada e tangencialmente aos ventrículos laterais, divulsionou o córtex em toda a sua extensão fronto-occipital. O córtex já divulsionado foi rebatido para os lados, expondo região hipocampal (HC) e parte do corpo estriado (CE). O hipocampo e o corpo estriado (caudado, putamen e núcleo acumbens) foram isolados das estruturas circunjacentes por divulsionamento com uma tesoura de microdissecação, sendo a retirada orientada pelo diâmetro da porção tuberosa visível desses núcleos, após o rebatimento lateral do córtex. Terminada a dissecação, cada área cerebral (hipocampo, corpo estriado e córtex pré-frontal) foi acondicionada em papel alumínio devidamente identificado, pesado e conservado a $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ para uso posterior. Quando necessária a estocagem por um determinado período de tempo (no máximo 1 mês a $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$) os tecidos foram considerados como tendo a mesma viabilidade para experimentação que os ensaiados imediatamente ou 24 h após a dissecação (BURKE GREENBAUN, 1987).

Saliente-se que a retirada do hipocampo foi realizada nos animais que foram submetidos ao teste convulsão induzida por pilocarpina, com a intenção de dosagem de MDA no homogenato desta área cerebral.

4.11 Determinação das concentrações de Monoaminas e seus metabólitos com HPLC

4.11.1 Método

Para a determinação das concentrações de monoaminas foi utilizado o equipamento de HPLC (Cromatografia Líquida de Alta Performance). Na cromatografia

líquida clássica, um adsorvente (alumina ou sílica) é empacotado em uma coluna e é eluído por um líquido ideal (fase móvel). Uma mistura para ser separada é introduzida na coluna e é carregada através da mesma por um líquido eluente (fase móvel). Se um composto da mistura (soluto) é adsorvido fracamente pela superfície da fase sólida estacionária, ele atravessará a coluna mais rapidamente que um outro soluto que seja mais fortemente adsorvido. Então, a separação dos solutos é possível se existem diferenças na adsorção pelo sólido. Os detectores eletroquímicos medem a condutância do eluente ou a corrente associada com a oxidação ou redução dos solutos. Para ser capaz de detectar no primeiro caso, os solutos devem ser iônicos e no segundo caso, os solutos devem ter a característica de serem relativamente fáceis de se oxidarem ou reduzirem.

Detectores eletroquímicos que medem corrente associada com a redução ou oxidação de solutos são chamados detectores amperométricos ou coulométricos. Neste estudo foi utilizado o tipo amperométrico que reage com uma quantidade muito menor de soluto, em torno de 1 %. Todas as técnicas eletroquímicas envolvem a aplicação de um potencial para um eletrodo (geralmente de carbono vítreo), oxidação da substância que está sendo estudada próximo à superfície do eletrodo seguindo a amplificação e medida da corrente produzida. As monoaminas são oxidadas nos grupos de anel hidroxil para produzir um derivado ortoquinona com a liberação de dois elétrons.

4.11.2 Procedimento Experimental

Os animais foram decapitados 60 minutos após a administração do efavirenz (25 e 50 mg/Kg) e água destilada (controle) e tiveram seus cérebros dissecados sobre gelo. O corpo estriado foi utilizado para preparar homogenato a 10% (10 mg de área/100 μ L de tampão). Os tecidos cerebrais foram homogeneizados em ácido perclórico (HClO₄) e centrifugados por 15 minutos em centrífuga refrigerada (4°C) a 15.000 rpm. Uma alíquota de 20 μ L do sobrenadante foi, então, injetada no equipamento de HPLC, para a análise química.

Para a análise das monoaminas, uma coluna BDS HYPERSIL C18 com comprimento de 250 mm, calibre 4,6 mm e de partícula de 5 μ m, da T'hermo Scientific, foi utilizada. A fase móvel utilizada era composta por tampão ácido cítrico 0,163 M, pH 3,0, contendo ácido octanosulfônico sódico(SOS) 0,69 M, como reagente formador do par iônico, acetonitrila 4 % v/v e tetrahidrofurano 1,7 % v/v. NA, DA, DOPAC, HVA, 5-HT e 5-HIAA foram eletronicamente detectados usando um detector amperométrico (Modelo L-ECD-6A da

Shimadzu, Japão) pela oxidação em um eletrodo de carbono vítreo fixado em 0,85V relativo a um eletrodo de referência de Ag-AgCl. (HALLMAN, JOSSON, 1984).

4.11.3 Soluções Reagentes

Fase Móvel

Para preparar um volume de 500 mL de fase móvel foram pesados 15,75 g de ácido cítrico (Grupo Química, RJ., Brasil) e 0,292 g de Cloreto de Sódio (Grupo Química, RJ., Brasil) completado para um volume de 400 mL com água puríssima (Milli-Q). Esta solução foi ajustada para pH 3,0 com hidróxido de sódio 12,5 M (Reagen, RJ, Brasil). A esta solução foi adicionado o SOS 75 mg (Sigma, MO, USA) e completado o volume para 470 mL com água Milli-Q. Em seguida, foi procedida a filtração e degaseificação, e posteriormente adição de 20 mL de acetonitrila (Carlo Erba Reagenti, MI, Itália) e 10 mL de tetrahidrofurano (Sigma, MO, USA) para um volume final de 500 mL.

Ácido Perclórico 0,1 M

Adicionou-se 1,8 mL de ácido perclórico (Sigma, MO, USA) em um balão volumétrico e o volume ajustado para 300 mL.

Padrões

Os padrões foram preparados em uma concentração final de 4 ng/20 µL de solução de NA, DA, 5-HT, DOPAC, HVA e 5-HIAA (Sigma, MO, EUA). A partir da área dos picos desses padrões, as concentrações das amostras foram calculadas utilizando o programa Microsoft Excel® e os resultados expressos em mol/g de tecido.

4.12 Determinação da Concentração de Aminoácidos

4.12.1 Método

As determinações de aminoácidos foram determinadas através do uso de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC), que consiste em uma pré-coluna de derivatização na presença de ortoftaraldeído (OPA). O aparelho foi programado com um detector fluorimétrico (330-450) nm acoplado a um integrador.

A coluna cromatográfica utilizada foi a C18, 250 × 4.6nm, 5µ que percorria a coluna a uma velocidade de 1.0 ml/min. A fase móvel A consistiu em 50mM NaH₂PO₄ em

20% de metanol ajustada para PH de 5,5. A fase móvel B consistiu em 100% de metanol. As fases foram preparadas com água ultramente purificada (Mili-Q system) e filtrada com o uso de filtros milipore de 0.22 μ m.

4.12.2 Procedimento Experimental

Para determinação dos níveis de aminoácidos, foram retiradas as áreas cerebrais correspondentes ao córtex pré-frontal e corpo estriado para a posterior preparação dos homogenatos. Para a preparação do homogenato, foi utilizado um volume de 10% da área em ácido perclórico 0,1M.

4.12.3 Preparo dos padrões dos aminoácidos

Todos os aminoácidos foram preparados nas concentrações de 2,5 mmol/L ou 2,5 mM. Glutamato, aspartado, glicina, taurina e GABA foram solubilizados em ácido perclórico 0,1 M.

O ácido perclórico foi preparado adicionando 1,8 mL do ácido e completado o volume para 300 mL com água mili-Q.

4.12.4 Preparo das amostras

Para o preparo das amostras, foi utilizado homogenatos cerebrais à 10% em ácido perclórico 0.1M. Após o preparo, estes foram centrifugados à 14000rpm durante 30 minutos e o sobrenadante filtrado em filtros milipore 0.22 μ m.

4.12.5 Solução de derivatização

Foi dissolvido 13.5mg de OPA em 250 μ l de etanol, juntamente com 10 μ l de 2-mercaptoetanol, o volume da solução foi então completado para 2.25ml com tampão borato, pH 9,3. A solução foi filtrada com o milipore 0.22 μ m. A solução foi acondicionada em vidro âmbar no refrigerador, por no máximo uma semana. Para as derivatizações, 20 μ l da amostra foi diluída em 20 μ l de OPA e injetada no HPLC após um minuto de agitação.

4.12.6 Determinação fluorimétrica de aminoácidos (aa) por gradiente

Para o funcionamento do aparelho, e do gradiente foi necessária a preparação das duas fases móveis:

FASE MÓVEL A:

- 50 mM NaH₂PO₄
- Volume final = 250 ml
- 20% v/v MetOH
- pH = 5.5

FASE MÓVEL B:

- Metanol puro (Padrão HPLC)

DERIVATIZAÇÃO PRÉ-COLUNA**TAMPÃO BORATO**

- Bórax 1,24g
- Água Mili Q
- Ajustar o pH para 9,3 (com NaOH ou HCL)
- Volume final = 50 ml

4.13 Avaliação da Peroxidação Lipídica**4.13.1 Método**

A Peroxidação Lipídica é uma das mais importantes expressões orgânicas do estresse oxidativo induzidos pela reatividade dos radicais livres de oxigênio. O método mais empregado para a determinação do MDA em amostras biológicas é baseado na sua reação com o ácido tiobarbitúrico (TBA). Nesta reação, duas moléculas de TBA reagem estequiometricamente com uma molécula de MDA para formar uma solução de cor rosa, que tem absorvância máxima em pH ácido em 532 a 535 nm.

4.13.2 Procedimento Experimental

O grau de lipoperoxidação nos tecidos foi medido através da determinação dos níveis de espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), conforme o método descrito por Huang *et al.* (1998), seguindo o protocolo: As amostras foram homogenizadas com tampão fosfato de potássio monobásico 50 mM pH 7,4, 63µL do homogenato foi misturado a 100 µL de ácido perclórico 35%, sendo estas centrifugadas (7000 rpm/15 min), no qual 150 µL do

sobrenadante foram recuperados e misturado com 50 μ L de ácido tiobarbitúrico 1,2%, e em seguida, estas amostras foram aquecidas em um banho de água fervente por 30 min. Após o resfriamento, a peroxidação lipídica foi determinada por absorbância a 535 nm e foi expressa como mmol tecido MDA / g. A concentração de proteínas foi medida utilizando o método de Bradford (1976).

Para a obtenção da curva-padrão de malonildilaldeído (MDA), a partir da solução padrão de MDA, foram preparadas diluições em série (16,77; 9,16; 4,8; 2,463; 1,247 e 0,627 μ mol). O branco foi feito com água destilada. A leitura da absorbância foi realizada a 532 nm.

4.14 Análise Estatística

A análise estatística dos dados foi realizada através do software GraphPad Prism versão 5.0 para Windows , GraphPad Software , San Diego, Califórnia EUA. Copyright (c) 1992- 2007 por GraphPad Software.

Os resultados que obedeciam a uma distribuição paramétrica foram analisados por Análise de Variância (ANOVA) seguido pelo teste de Student Newman Keuls (post hoc). Em todas as análises estatísticas, os valores foram representados pela Média \pm Erro Padrão da Média (EPM) com número de animais entre parênteses e foi considerado o nível crítico para a rejeição da hipótese de nulidade menor que 0,05 ($p < 0,05$). Os asteriscos (* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$) caracterizam o grau de significância.

5 RESULTADOS

5.1 Avaliação Comportamental

5.1.1 Tratamento Agudo

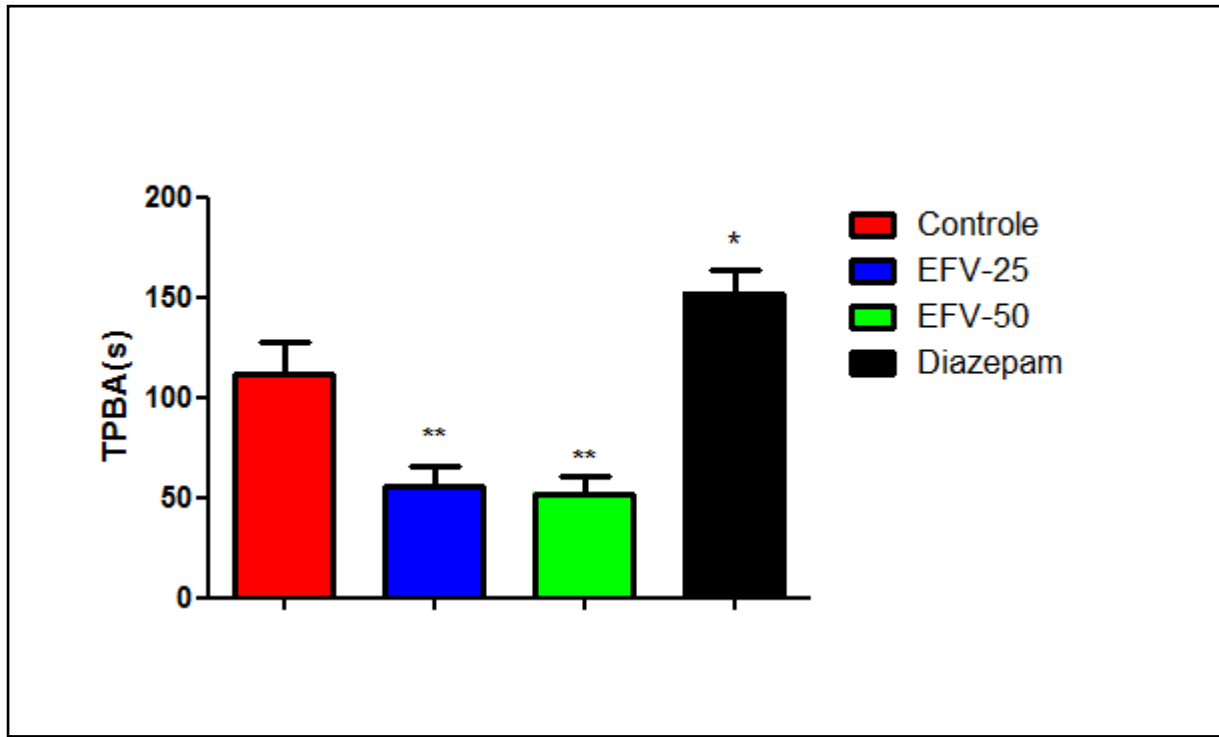
5.1.1.1 Teste do Labirinto em Cruz Elevado (*Plus Maze*)

Os animais submetidos ao tratamento agudo por via oral com efavirenz apresentaram diminuição significativa no tempo de permanência nos braços abertos (TPBA) em ambas as doses e aumento significativo no tempo de permanência nos braços fechados (TPBF) apenas na dose de 50 mg/kg: TPBA (**Fig. 8**) [EFV25: 55,63±9,926; EFV50: 52±8,531]; TPBF (**Fig. 9**) [EFV25: 219±13,49; EFV50: 233,4±11,19] quando comparado aos grupos controle: TPBA (**Fig. 8**) [CONTROLE: 111,6±15,73]; TPBF (**Fig. 9**) [CONTROLE: 176,9±20].

Em relação ao número de entradas nos braços abertos (NEBA) ou fechados (NEBF), nenhuma das doses promoveu diferença significativa: NEBA (**Fig. 10**) [EFV25: 4,286±0,6801; EFV50: 3,429±0,6494]; NEBF (**Fig. 11**) [EFV25: 4±0,5976; EFV50: 3,5±0,5976] em relação ao controle: NEBA (**Fig. 10**) [CONTROLE: 5±0,8944]; NEBF (**Fig. 5.4**) [CONTROLE: 4,5±0,5].

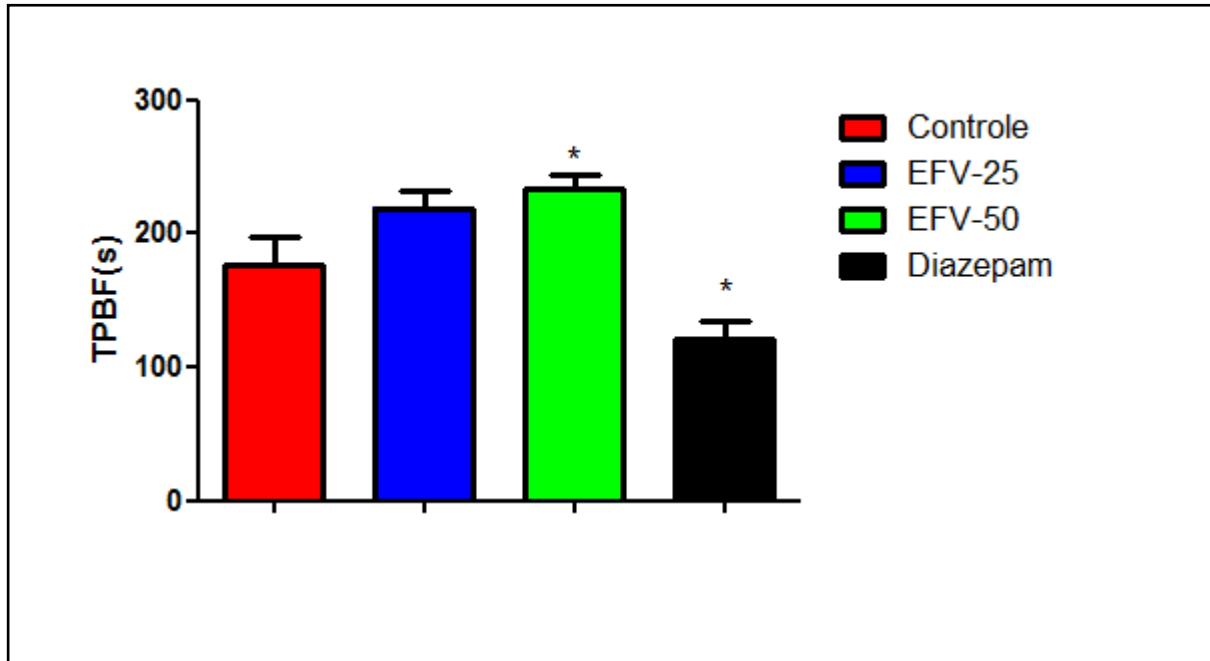
O diazepam 1 mg/kg aumentou significativamente o tempo de permanência (TPBA) e o número de entradas nos braços abertos (NEBA): TPBA (**Fig. 8**) [DIAZEPAM: 152,1±11,88]; NEBA (**Fig. 10**) [DIAZEPAM: 8,625±1,149] em relação aos controles (**Fig. 8 e 10**). Sobre o tempo de permanência nos braços fechados (TPBF), o diazepam promoveu diminuição significativa: TPBF (**Fig. 9**) [DIAZEPAM: 120,8±13,43] quando comparado ao respectivo controle (**Fig. 9**). O número de entradas nos braços fechados não foi alterado: NEBF (**Fig. 11**) [DIAZEPAM: 4,25±0,366].

Figura 8 - Efeito agudo do Efavirenz (25 e 50 mg/kg) e Diazepam (1 mg/kg) sobre o tempo de permanência nos braços abertos (TPBA) no teste Labirinto em Cruz Elevado em ratos.



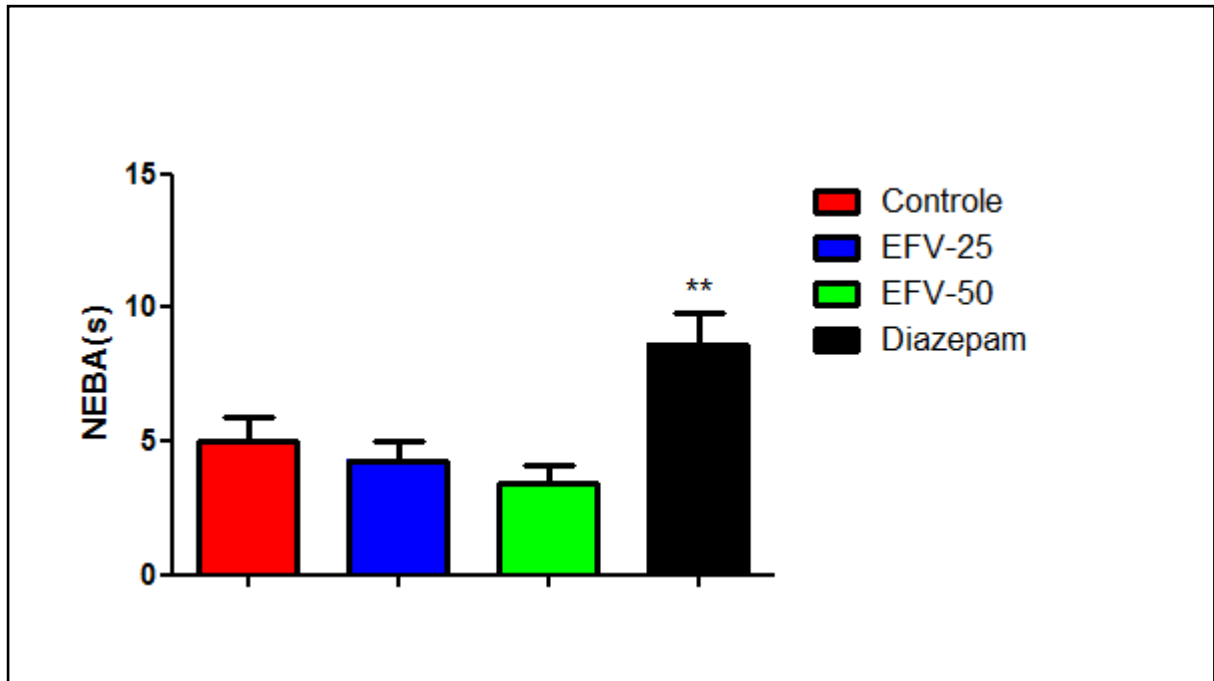
Efavirenz e Controle (veículo) foram administrados por via oral (v.o.) 1 hora antes do experimento. Diazepam foi administrado por via intraperitoneal (i.p.) 30 minutos antes do experimento. Os valores representam a média \pm EPM do tempo de permanência nos braços abertos durante 5 minutos. Para a análise estatística foi utilizado ANOVA e Student-Newman-Keuls como teste post hoc. $P < 0,05$ em relação ao controle (*); $P < 0,01$ em relação ao controle (**).

Figura 9 - Efeito agudo do Efavirenz (25 e 50 mg/kg) e Diazepam (1 mg/kg) sobre o tempo de permanência nos braços fechados (TPBF) no teste Labirinto em Cruz Elevado em ratos.



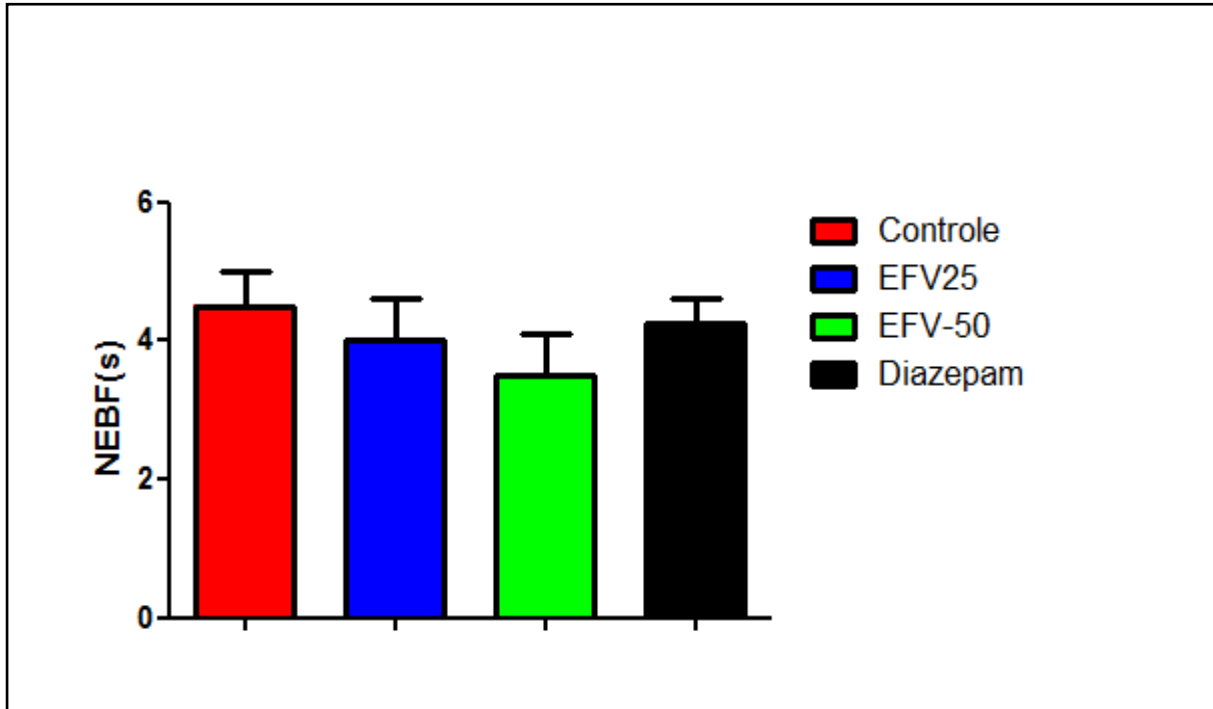
Efavirenz e Controle (veículo) foram administrados por via oral (v.o.) 1 hora antes do experimento. Diazepam foi administrado por via intraperitoneal (i.p.) 30 minutos antes do experimento. Os valores representam a média \pm EPM do tempo de permanência nos braços fechados durante 5 minutos. Para a análise estatística foi utilizado ANOVA e Student-Newman-Keuls como teste post hoc. $P < 0,05$ em relação ao controle (*).

Figura 10 - Efeito agudo do Efavirenz (25 e 50 mg/kg) e Diazepam (1 mg/kg) sobre o número de entradas nos braços abertos (NEBA) no teste Labirinto em Cruz Elevado em ratos.



Efavirenz e Controle (veículo) foram administrados por via oral (v.o.) 1 hora antes do experimento. Diazepam foi administrado por via intraperitoneal (i.p.) 30 minutos antes do experimento. Os valores representam a média \pm EPM do número de entradas nos braços abertos durante 5 minutos. Para a análise estatística foi utilizado ANOVA e Student-Newman-Keuls como teste post hoc. $P < 0,01$ em relação ao controle (**).

Figura 11 - Efeito agudo do Efavirenz (25 e 50 mg/kg) e Diazepam (1 mg/kg) sobre o número de entradas nos braços fechados (NEBF) no teste Labirinto em Cruz Elevado em ratos.

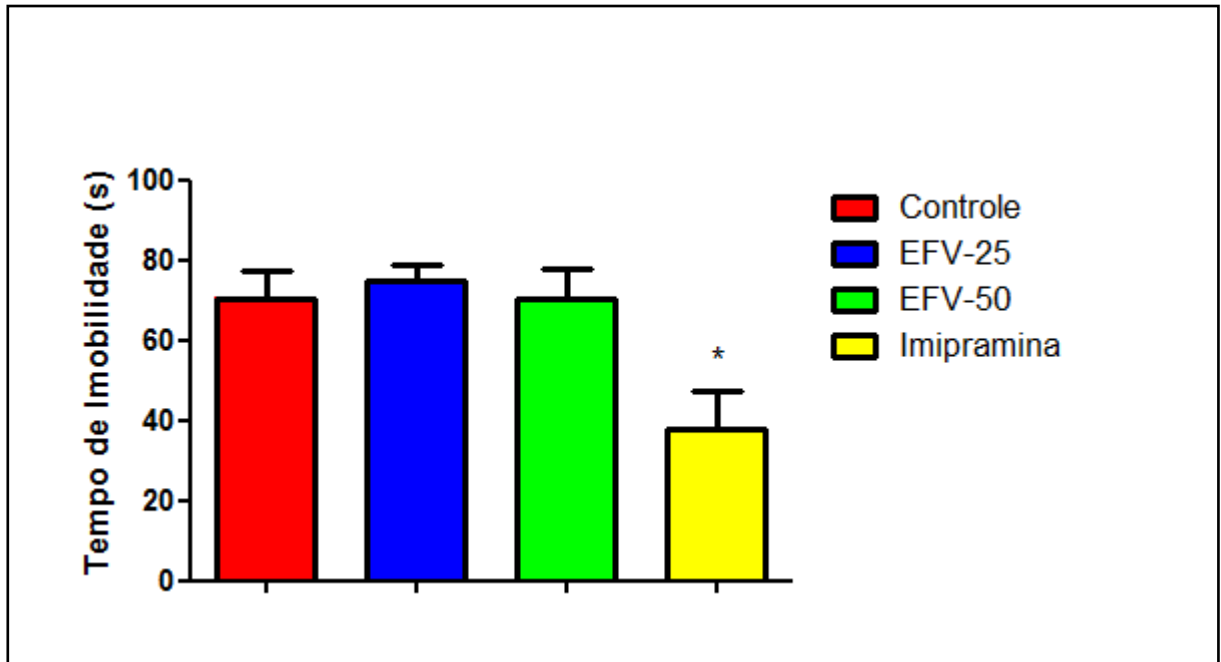


Efavirenz e Controle (veículo) foram administrados por via oral (v.o.) 1 hora antes do experimento. Diazepam foi administrado por via intraperitoneal (i.p.) 30 minutos antes do experimento. Os valores representam a média \pm EPM do número de entradas nos braços fechados durante 5 minutos. Para a análise estatística foi utilizado ANOVA e Student-Newman-Keuls como teste post hoc.

5.1.1.2 Teste do Nado Forçado

Os animais submetidos ao tratamento agudo por via oral com efavirenz nas doses de 25 e 50 mg/kg não apresentaram diferença significativa no tempo de imobilidade no teste do nado forçado para qualquer das doses: TI (**Fig. 12**) [EFV25: $74,83 \pm 3,978$; EFV50: $70,43 \pm 7,367$] quando comparado ao controle: TI (**Fig. 12**) [CONTROLE: $70,50 \pm 6,602$]. Os animais tratados com imipramina apresentaram redução no tempo de imobilidade: TI (**Fig. 12**) [IMIPRAMINA: $37,67 \pm 9,580$].

Figura 12 - Efeito agudo do Efavirenz (25 e 50 mg/kg) e Imipramina (10 mg/kg) sobre o tempo de imobilidade no teste Nado Forçado em ratos.



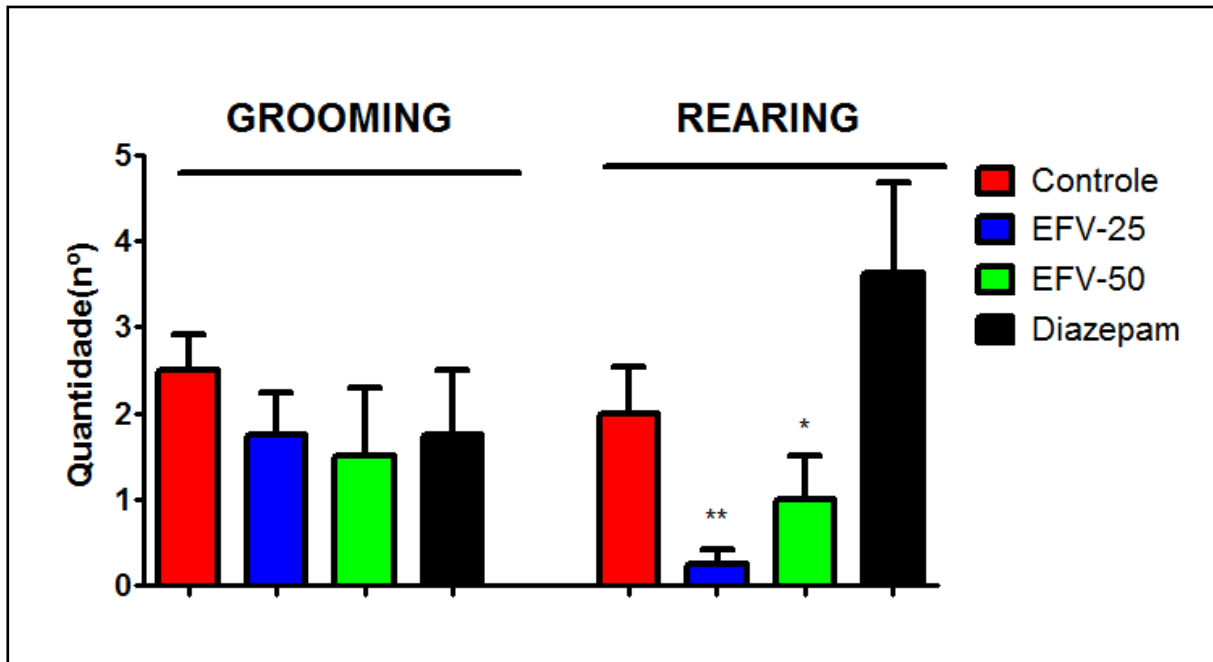
Efavirenz e Controle (veículo) foram administrados por via oral (v.o.) 1 hora antes do experimento. Imipramina foi administrada por via intraperitoneal (i.p.) 30 minutos antes do experimento. Os valores representam a média \pm EPM do tempo de imobilidade durante 5 minutos. Para a análise estatística foi utilizado ANOVA e Student-Newman-Keuls como teste post hoc. $P < 0,05$ em relação ao controle (*). Não houve diferença significativa entre efavirenz e controle.

5.1.1.3 Teste do Campo Aberto

Os ratos que receberam administração aguda por via oral com efavirenz nas doses de 25 e 50 mg/kg não apresentaram diferença significativa nos números de rearing e de grooming: REARING (**Fig. 13**) [EFV25: $0,25 \pm 0,1637$; EFV50: $1,0 \pm 0,5$]; GROOMING (**Fig. 13**) [EFV25: $1,750 \pm 0,4910$; EFV50: $1,5 \pm 0,8018$] quando comparados ao controle: REARING (**Fig. 13**) [CONTROLE: $2,0 \pm 0,5345$]; GROOMING (**Fig. 13**) [CONTROLE: $2,5 \pm 0,4226$]. Os animais tratados com diazepam não apresentaram diferença significativa: REARING (**Fig. 13**) [DZP: $3,625 \pm 1,051$]; GROOMING (**Fig. 13**) [DZP: $1,750 \pm 0,7500$] quando comparados ao controle (**Fig. 13**).

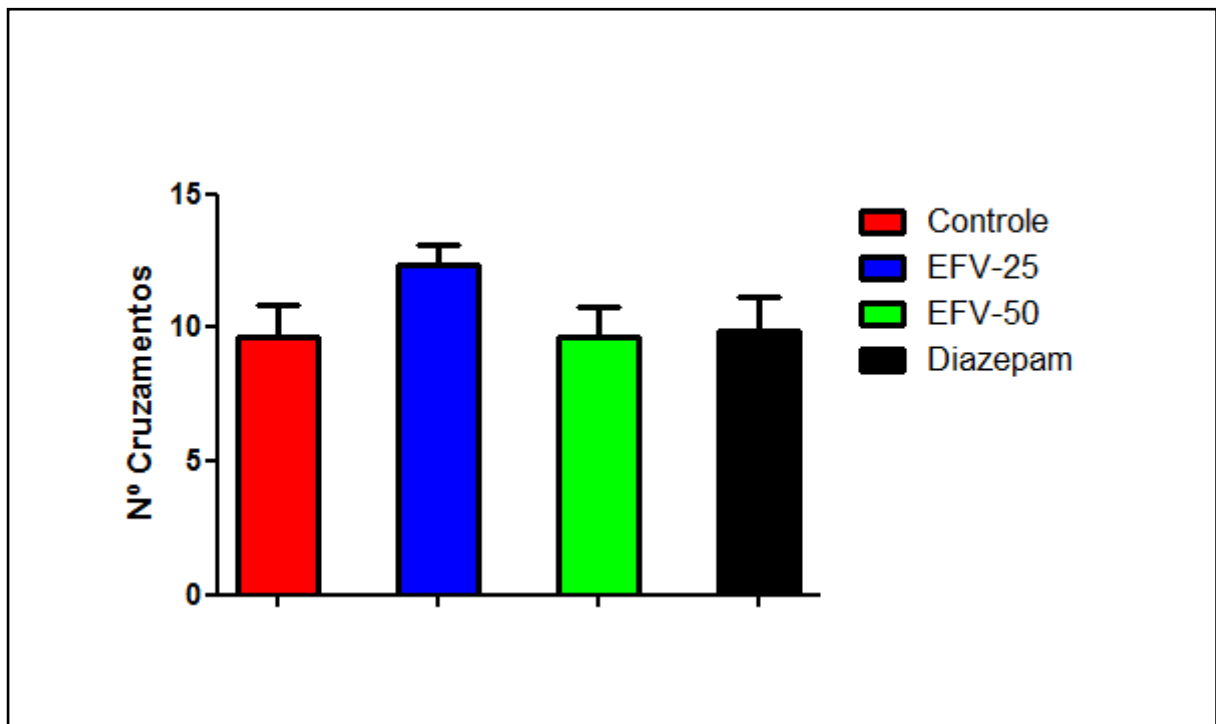
A diferença do número de cruzamentos não foi significativamente relevante para nenhuma das doses de efavirenz: CRUZAMENTOS (**Fig. 14**) [EFV25: $12,33 \pm 0,7601$; EFV50: $9,667 \pm 1,085$] quando comparado ao controle: CRUZAMENTOS (**Fig. 14**) [CONTROLE: $9,667 \pm 1,174$]. CRUZAMENTOS (**Fig. 14**) [DIAZEPAM: $9,857 \pm 1,262$].

Figura 13 - Efeito agudo do Efavirenz (25 e 50 mg/kg) e Diazepam (1 mg/kg) sobre o grooming e o rearing no teste Campo Aberto em ratos.



Efavirenz e Controle (veículo) foram administrados por via oral (v.o.) 1 hora antes do experimento. Diazepam foi administrado por via intraperitoneal (i.p.) 30 minutos antes do experimento. Os valores representam a média \pm EPM do número de grooming ou rearing durante 5 minutos. Para a análise estatística foi utilizado ANOVA e Student-Newman-Keuls como teste post hoc. Não houve diferença significativa entre efavirenz e controle.

Figura 14 - Efeito agudo do Efavirenz (25 e 50 mg/kg) e Diazepam (1 mg/kg) sobre o número de cruzamentos no teste Campo Aberto em ratos.

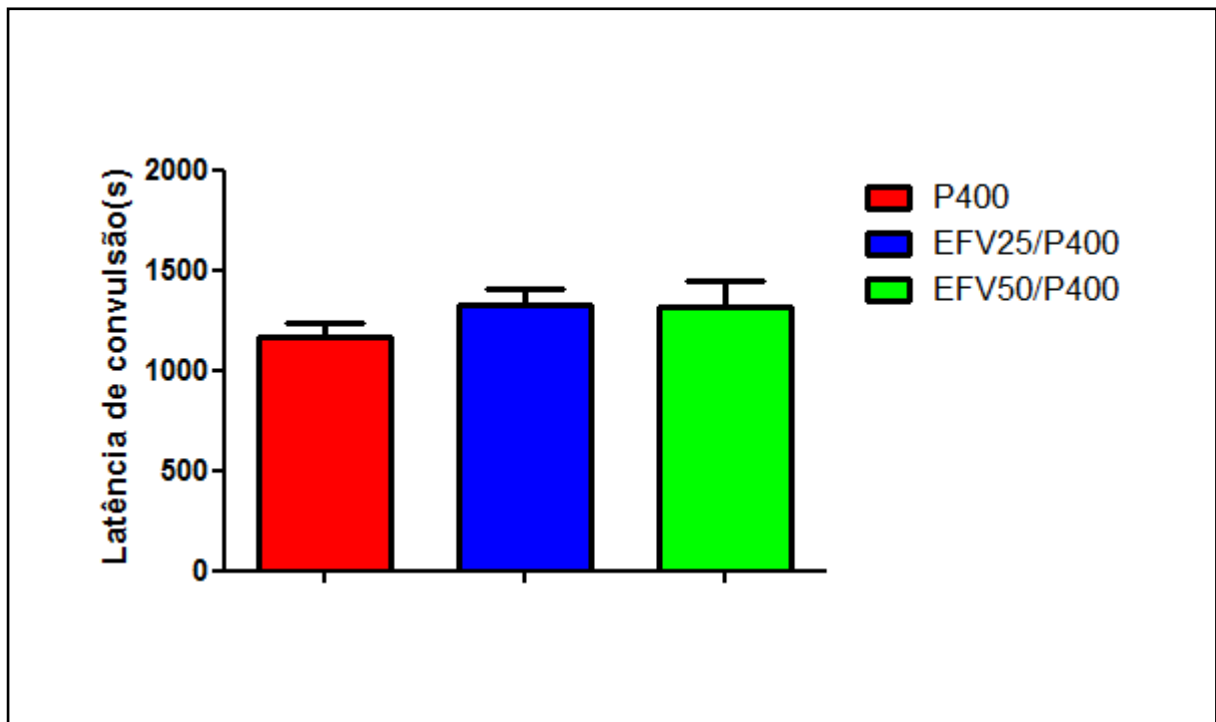


Efavirenz e Controle (veículo) foram administrados por via oral (v.o.) 1 hora antes do experimento. Diazepam foi administrado por via intraperitoneal (i.p.) 30 minutos antes do experimento. Os valores representam a média \pm EPM do número de cruzamentos durante 5 minutos. Para a análise estatística foi utilizado ANOVA e Student-Newman-Keuls como teste post hoc.

5.1.1.4 Teste da Convulsão Induzida por Pilocarpina (Latência de Convulsão)

Os ratos que receberam administração aguda por via oral com efavirenz nas doses de 25 e 50 mg/kg seguido por administração intraperitoneal de pilocarpina (400 mg/kg) não apresentaram diferença significativa na latência de convulsão: LATÊNCIA DE CONVULSÃO (**Fig. 15**) [EFV25: $1326 \pm 80,23$; EFV50: $1319 \pm 123,7$]; quando comparados ao grupo que recebeu apenas pilocarpina por via intraperitoneal (P400): LATÊNCIA DE CONVULSÃO (**Fig. 15**) [P400: $1163 \pm 70,65$].

Figura 15 - Efeito agudo do Efavirenz (25 e 50 mg/kg) com Pilocarpina (400 mg/kg) e Pilocarpina (400 mg/kg) sobre a latência de convulsão em ratos.



O efavirenz foi administrado por via oral (v.o.) 1 hora antes do experimento. A pilocarpina foi administrada por via intraperitoneal (i.p.) imediatamente antes do experimento. Os valores representam a média \pm EPM do tempo, em segundos, para iniciar a primeira convulsão. Para a análise estatística foi utilizado ANOVA e Student-Newman-Keuls como teste post hoc. Não houve diferença significativa entre os grupos.

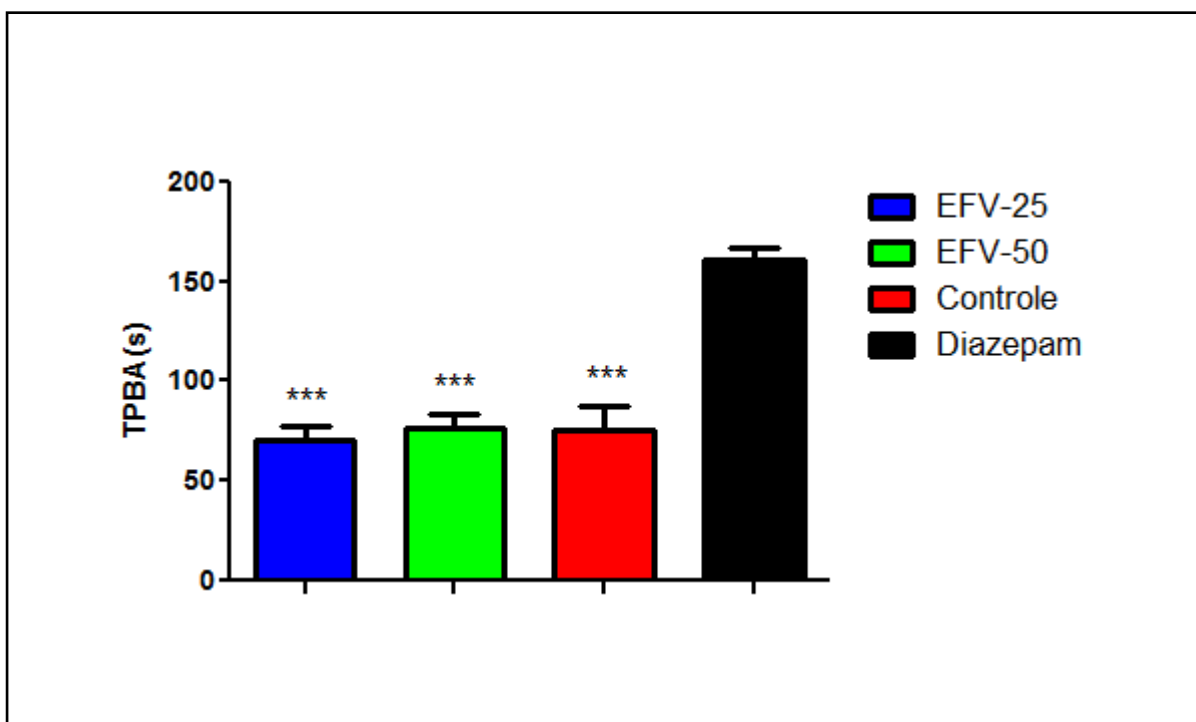
5.1.2 Tratamento Subcrônico

5.1.2.1 Teste do Labirinto em Cruz Elevado (*Plus Maze*)

Os animais submetidos ao tratamento subcrônico por via oral com efavirenz não apresentaram diferença significativa em nenhum dos parâmetros analisados: TPBA (**Fig. 16**) [EFV25: $70,7 \pm 6,944$; EFV50: $76,25 \pm 7,566$]; TPBF (**Fig. 17**) [EFV25: $145,6 \pm 9,029$; EFV50: $148,9 \pm 16,98$]; NEBA (**Fig. 18**) [EFV25: $6,4 \pm 0,5617$; EFV50: $6,7 \pm 0,8035$]; NEBF (**Fig. 5.12**) [EFV25: $9,1 \pm 0,4583$; EFV50: $7,9 \pm 0,8226$] quando comparado ao grupo controle: TPBA (**Fig. 16**) [CONTROLE: $75,10 \pm 12,31$]; TPBF (**Fig. 5.10**) [CONTROLE: $162,1 \pm 8,763$]; NEBA (**Fig. 18**) [CONTROLE: $6,4 \pm 0,7630$]; NEBF (**Fig. 19**) [CONTROLE: $9,5 \pm 0,7491$].

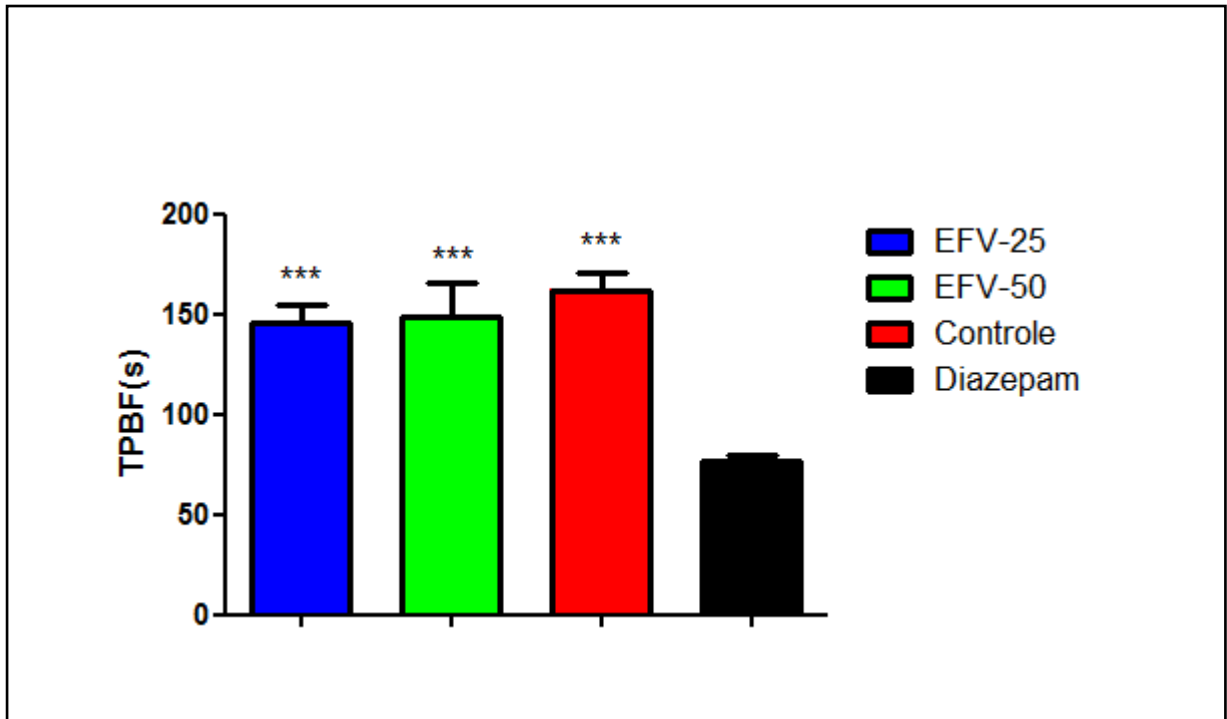
O diazepam 1 mg/kg aumentou significativamente o tempo de permanência (TPBA) e o número de entradas nos braços abertos (NEBA): TPBA (**Fig. 16**) [DIAZEPAM: $160,9 \pm 5,182$]; NEBA (**Fig. 18**) [DIAZEPAM: $10,7 \pm 0,8172$] em relação ao controle (**Fig. 5.9 e 5.11**). Sobre o tempo de permanência nos braços fechados (TPBF), o diazepam promoveu diminuição significativa: TPBF (**Fig. 17**) [DIAZEPAM: $76,30 \pm 3,055$] quando comparado ao respectivo controle (**Fig. 17**). O número de entradas nos braços fechados não foi alterado: NEBF (**Fig. 19**) [DIAZEPAM: $8,1 \pm 0,6403$].

Figura 16 - Efeito subcrônico do Efavirenz (25 e 50 mg/kg) e Diazepam (1 mg/kg) sobre o tempo de permanência nos braços abertos (TPBA) no teste Labirinto em Cruz Elevado em ratos.



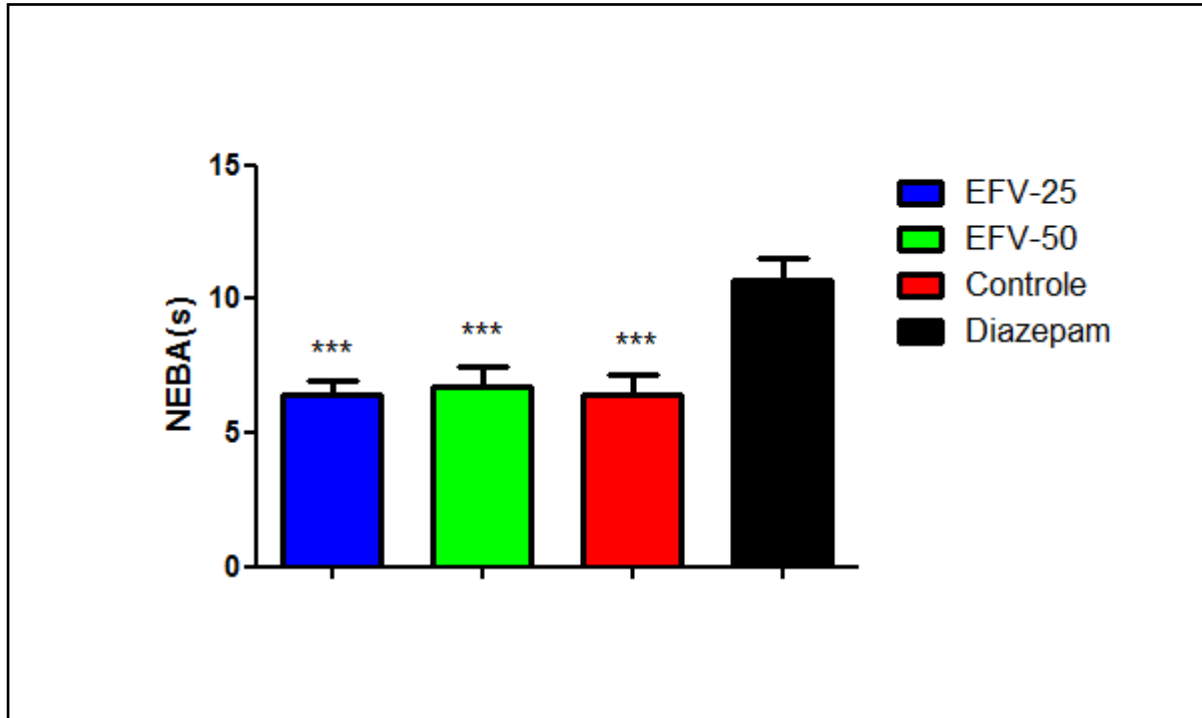
Efavirenz e veículo (Controle) foram administrados por via oral (v.o.) durante 15 dias. Diazepam foi administrado por via intraperitoneal (i.p.) 30 minutos antes do experimento. Os valores representam a média \pm EPM do tempo de permanência nos braços abertos durante 5 minutos. Para a análise estatística foi utilizado ANOVA e Student-Newman-Keuls como teste post hoc. Não houve diferença significativa entre efavirenz e controle. Diazepam foi significativo em relação ao controle ($p < 0,05$).

Figura 17 - Efeito subcrônico do Efavirenz (25 e 50 mg/kg) e Diazepam (1 mg/kg) sobre o tempo de permanência nos braços fechados (TPBF) no teste Labirinto em Cruz Elevado em ratos.



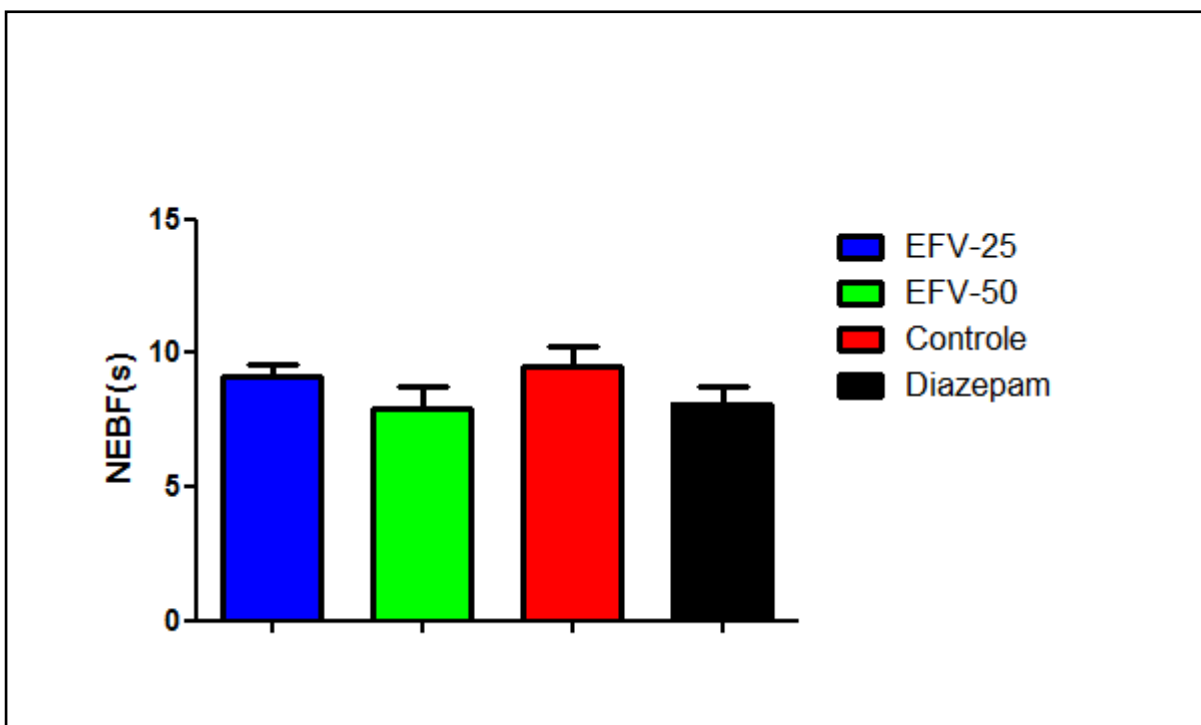
Efavirenz e veículo (Controle) foram administrados por via oral (v.o.) durante 15 dias. Diazepam foi administrado por via intraperitoneal (i.p.) 30 minutos antes do experimento. Os valores representam a média \pm EPM do tempo de permanência nos braços fechados durante 5 minutos. Para a análise estatística foi utilizado ANOVA e Student-Newman-Keuls como teste post hoc. Não houve diferença significativa entre efavirenz e controle. Diazepam foi significativo em relação ao controle ($p < 0,05$).

Figura 18 - Efeito subcrônico do Efavirenz (25 e 50 mg/kg) e Diazepam (1 mg/kg) sobre o número de entradas nos braços abertos (NEBA) no teste Labirinto em Cruz Elevado em ratos.



Efavirenz e veículo (Controle) foram administrados por via oral (v.o.) durante 15 dias. Diazepam foi administrado por via intraperitoneal (i.p.) 30 minutos antes do experimento. Os valores representam a média \pm EPM do tempo do número de entradas nos braços abertos durante 5 minutos. Para a análise estatística foi utilizado ANOVA e Student-Newman-Keuls como teste post hoc. Não houve diferença significativa entre efavirenz e controle. Diazepam foi significativo em relação ao controle ($p < 0,05$).

Figura 19 - Efeito subcrônico do Efavirenz (25 e 50 mg/kg) e Diazepam (1 mg/kg) sobre o número de entradas nos braços fechados (NEBF) no teste Labirinto em Cruz Elevado em ratos.

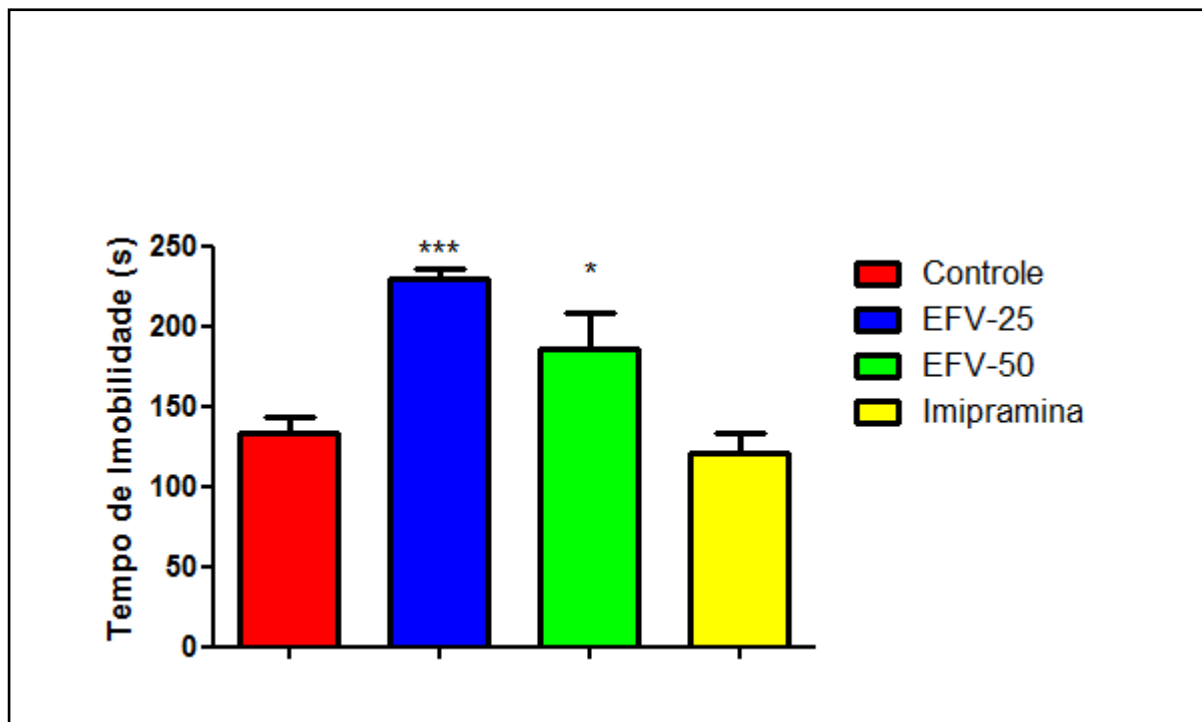


Efavirenz e veículo (Controle) foram administrados por via oral (v.o.) durante 15 dias antes do experimento. Diazepam foi administrado por via intraperitoneal (i.p.) 30 minutos antes do experimento. Os valores representam a média \pm EPM do número de entradas nos braços fechados durante 5 minutos. Para a análise estatística foi utilizado ANOVA e Student-Newman-Keuls como teste post hoc. Não houve diferença significativa entre efavirenz e controle.

5.1.2.2 Teste do Nado Forçado

Os animais submetidos ao tratamento subcrônico por via oral com efavirenz nas doses de 25 e 50 mg/kg apresentaram aumento significativo no tempo de imobilidade no teste do nado forçado para qualquer das doses: TI (**Fig. 20**) [EFV25: $229,2 \pm 6,701$; EFV50: $185,3 \pm 23,51$] quando comparado ao controle: TI (**Fig. 20**) [CONTROLE: $133 \pm 10,69$]. Os resultados para os animais tratados com imipramina foram: TI (**Fig. 20**) [IMIPRAMINA: $120,7 \pm 12,93$].

Figura 20 - Efeito subcrônico do Efavirenz (25 e 50 mg/kg) e Imipramina (10 mg/kg) sobre o tempo de imobilidade no teste Nado Forçado em ratos.



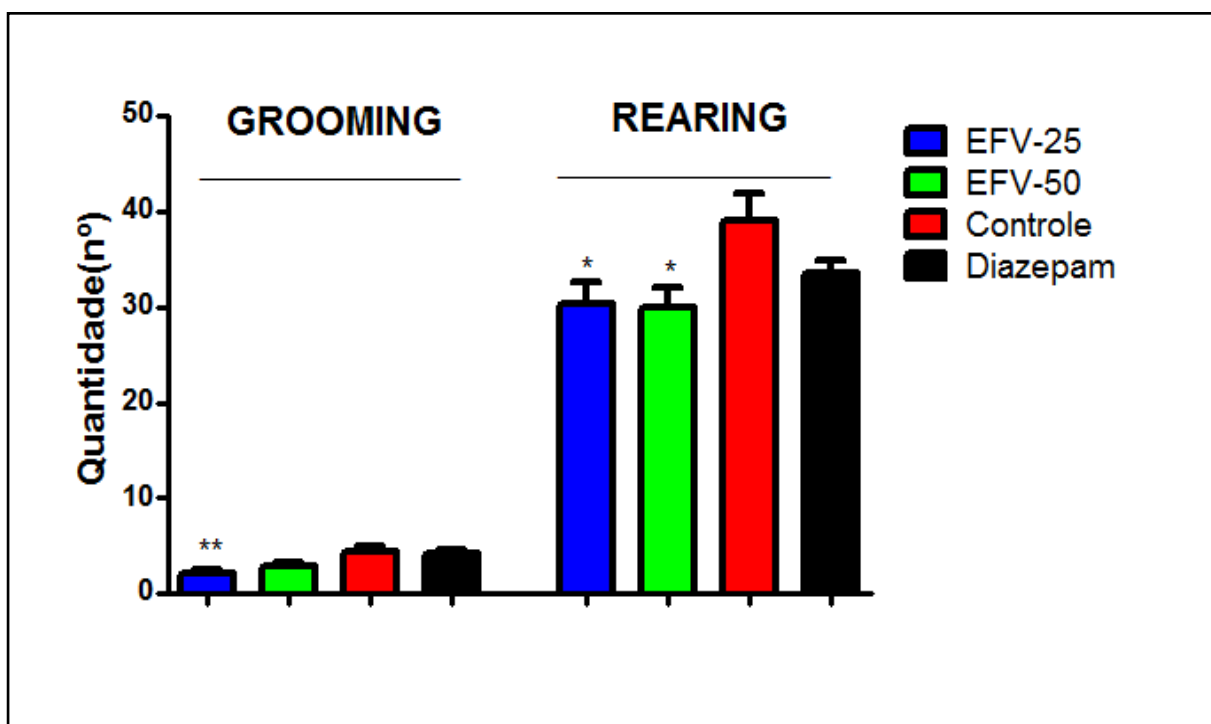
Efavirenz e veículo (Controle) foram administrados por via oral (v.o.) durante 15 dias. Imipramina foi administrada por via intraperitoneal (i.p.) 30 minutos antes do experimento. Os valores representam a média \pm EPM do tempo de imobilidade durante 5 minutos. Para a análise estatística foi utilizado ANOVA e Student-Newman-Keuls como teste post hoc. $P < 0,001$ em relação ao controle (***); $P < 0,05$ em relação ao controle.

5.1.2.3 Teste do Campo Aberto

Os ratos que receberam administração subcrônica por via oral com efavirenz nas doses de 25 e 50 mg/kg realizaram menos rearing e aqueles que receberam a dose de 25 mg/kg apresentaram menor número de grooming: REARING (**Fig. 21**) [EFV25: 30,22±2,344; EFV50: 29,9±2,152]; GROOMING (**Fig. 21**) [EFV25: 2,2±0,2906; EFV50: 2,9±0,3145] quando comparados ao controle: REARING (**Fig. 21**) [CONTROLE: 39±2,864]; GROOMING (**Fig. 21**) [CONTROLE: 4,4±2,6532]. Os animais tratados com diazepam não apresentaram diferença significativa: REARING (**Fig. 21**) [DZP: 33,57±1,232]; GROOMING (**Fig. 21**) [DZP: 4,143±0,5084] quando comparados ao controle (**Fig. 21**).

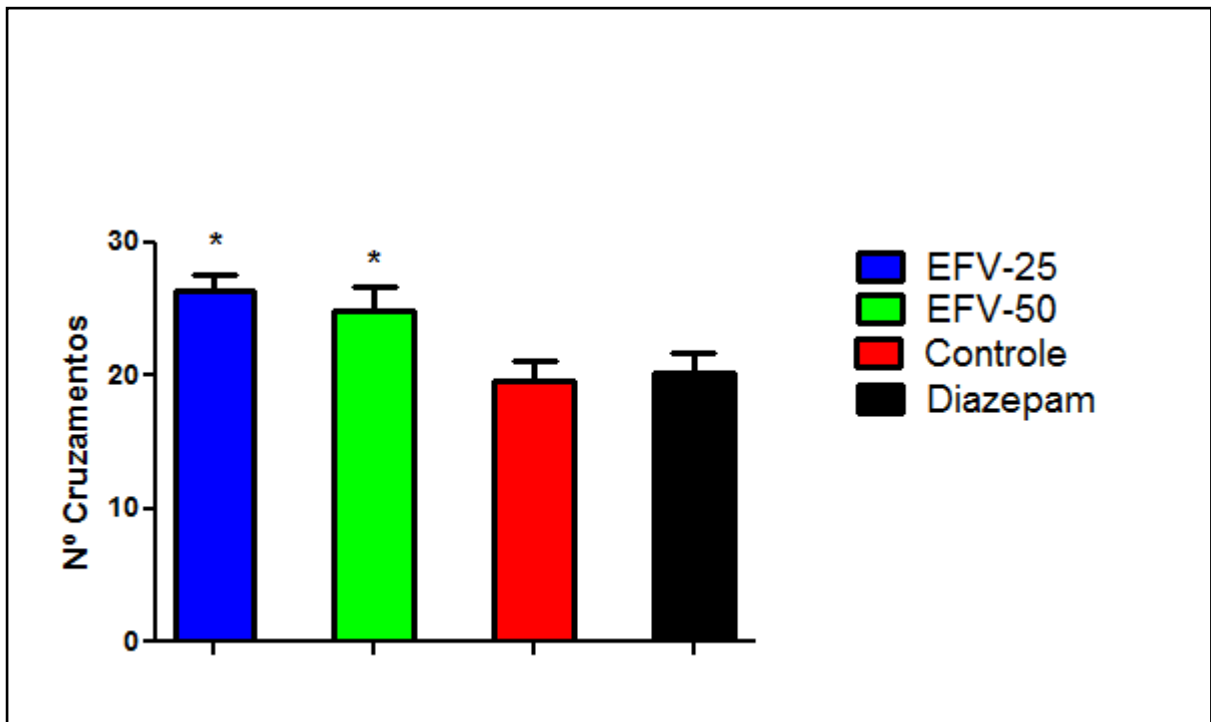
O número de cruzamentos foi significativamente superior para os grupos tratados com efavirenz: CRUZAMENTOS (**Fig. 22**) [EFV25: 26,33±1,280; EFV50: 24,9±1,722] quando comparado ao controle: CRUZAMENTOS (**Fig. 22**) [CONTROLE: 20,14±1,471]. CRUZAMENTOS (**Fig. 22**) [DIAZEPAM: 19,56±1,492].

Figura 21 - Efeito subcrônico do Efavirenz (25 e 50 mg/kg) e Diazepam (1 mg/kg) sobre o grooming e o rearing no teste Campo Aberto em ratos.



Efavirenz e veículo (Controle) foram administrados por via oral (v.o.) durante 15 dias. Diazepam foi administrado por via intraperitoneal (i.p.) 30 minutos antes do experimento. Os valores representam a média \pm EPM do número de grooming ou rearing durante 5 minutos. Para a análise estatística foi utilizado ANOVA e Student-Newman-Keuls como teste post hoc. $P < 0,01$ em relação ao controle (**); $P < 0,05$ em relação ao controle (*).

Figura 22 - Efeito subcrônico do Efavirenz (25 e 50 mg/kg) e Diazepam (1 mg/kg) sobre o número de cruzamentos no teste Campo Aberto em ratos.

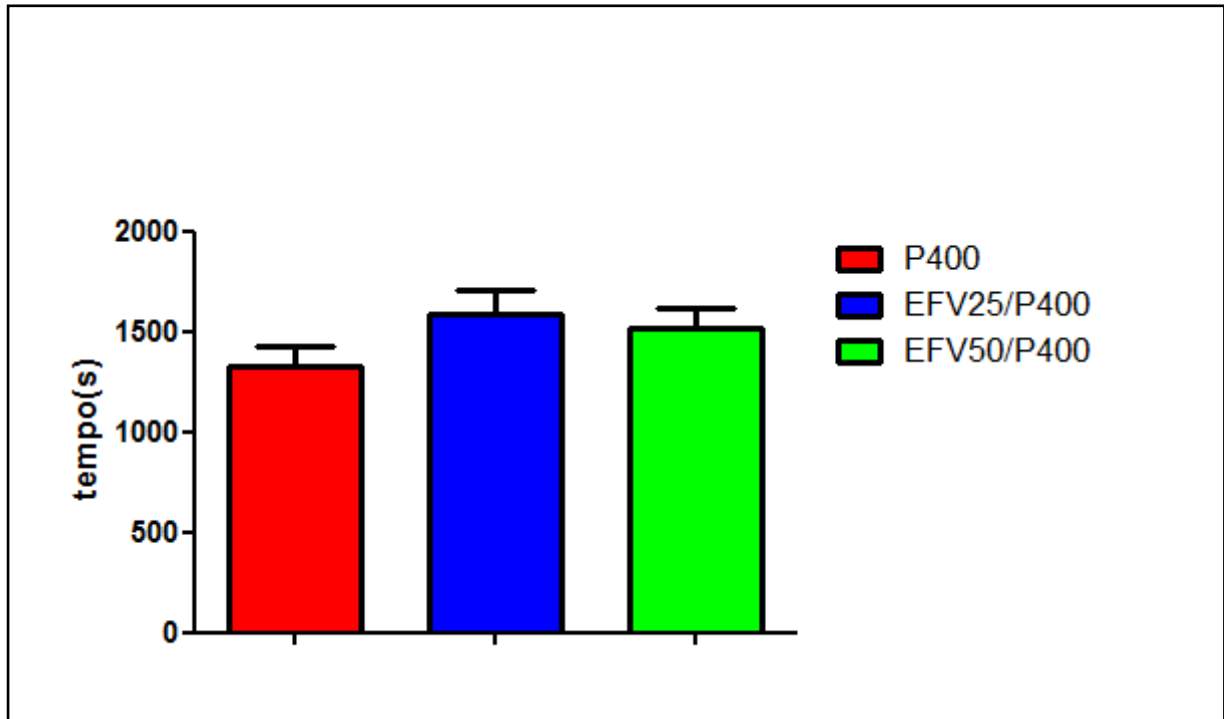


Efavirenz e veículo (Controle) foram administrados por via oral (v.o.) durante 15 dias. Diazepam foi administrado por via intraperitoneal (i.p.) 30 minutos antes do experimento. Os valores representam a média \pm EPM do número de cruzamentos durante 5 minutos. Para a análise estatística foi utilizado ANOVA e Student-Newman-Keuls como teste post hoc. $P < 0,05$ em relação ao controle (*).

5.1.2.4 Teste da Convulsão Induzida por Pilocarpina (Latência de Convulsão)

Os ratos que receberam administração subcrônica por via oral com efavirenz nas doses de 25 e 50 mg/kg seguido por administração aguda intraperitoneal de pilocarpina (400 mg/kg) não apresentaram diferença significativa na latência de convulsão: LATÊNCIA DE CONVULSÃO (**Fig. 23**) [EFV25: $1584 \pm 121,9$; EFV50: $1519 \pm 94,62$]; quando comparados ao grupo que recebeu apenas pilocarpina por via intraperitoneal (P400): LATÊNCIA DE CONVULSÃO (**Fig. 23**) [P400: $1325 \pm 101,3$].

Figura 23 - Efeito subcrônico do Efavirenz (25 e 50 mg/kg) com Pilocarpina (400 mg/kg) e agudo da Pilocarpina (400 mg/kg) sobre a latência de convulsão em ratos.



O efavirenz foi administrado por via oral (v.o.) durante 15 dias antes do experimento. A pilocarpina foi administrada por via intraperitoneal (i.p.) 30 minutos antes do experimento. Os valores representam a média \pm EPM do tempo para iniciar a primeira convulsão. Para a análise estatística foi utilizado ANOVA e Student-Newman-Keuls como teste post hoc. Não houve diferença significativa entre os grupos.

5.2 Avaliação Neuroquímica

5.2.1 Determinação da Concentração de Monoaminas no Corpo Estriado

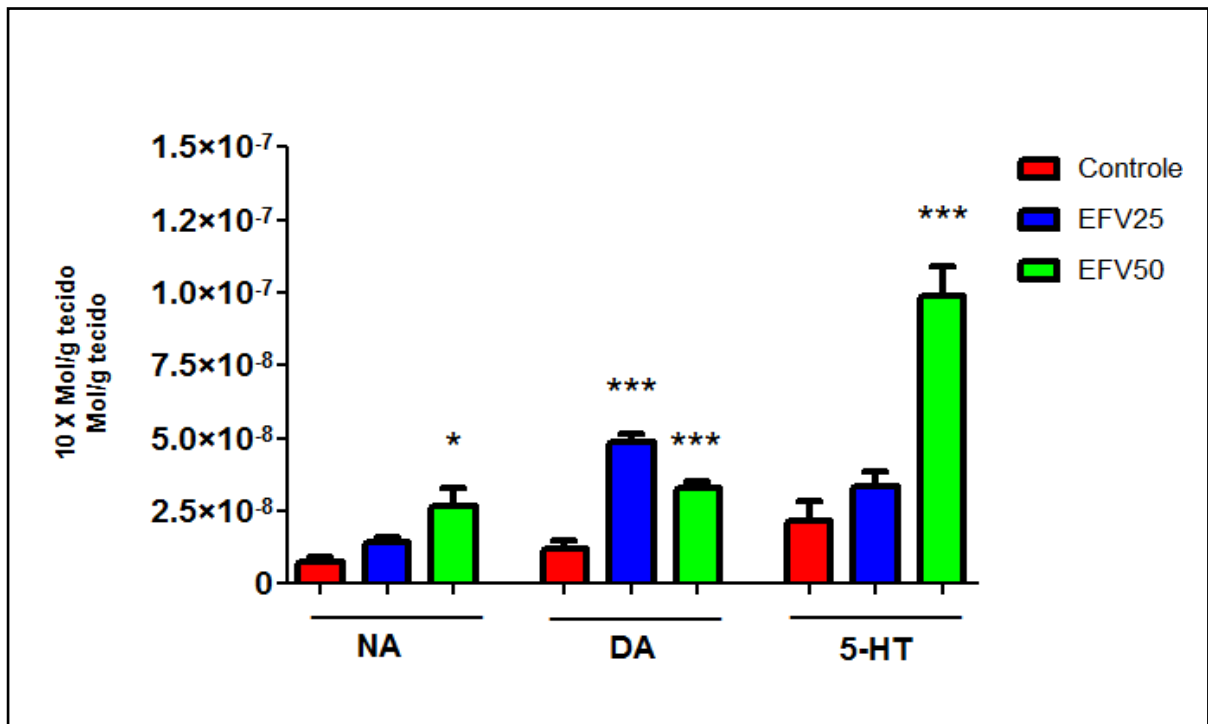
O tratamento com efavirenz promoveu alterações significativas na concentração de monoaminas, conforme segue:

5.2.1.1 Agudo

O tratamento agudo com efavirenz na dose de 50 mg/kg promoveu aumento significativo na concentração de noradrenalina, dopamina e serotonina quando comparado ao controle: (Fig. 24) NORA: [EFV50: $2,655 \times 10^{-9} \pm 6,467 \times 10^{-10}$; CONTROLE: $9,372 \times 10^{-10} \pm 1,305 \times 10^{-10}$]; DOPA: [EFV50: $3,271 \times 10^{-9} \pm 2,257 \times 10^{-10}$; CONTROLE: $1,587 \times 10^{-9} \pm 4,595 \times 10^{-10}$]; 5-HT: [EFV50: $9,890 \times 10^{-8} \pm 1,034 \times 10^{-8}$; CONTROLE: $2,186 \times 10^{-8} \pm 6,646 \times 10^{-9}$]. Os níveis dos metabólitos DOPAC, HVA e 5-HIAA também foram aumentados em relação ao controle: (Fig. 25) DOPAC: [EFV50: $3,177 \times 10^{-9} \pm 2,019 \times 10^{-10}$; CONTROLE: $1,469 \times 10^{-9} \pm 3,444 \times 10^{-10}$]; HVA: [EFV50: $2,233 \times 10^{-9} \pm 1,738 \times 10^{-10}$; CONTROLE: $8,890 \times 10^{-10} \pm 1,717 \times 10^{-10}$]; 5-HIAA: [EFV50: $8,318 \times 10^{-7} \pm 9,848 \times 10^{-8}$; CONTROLE: $1,518 \times 10^{-7} \pm 1,966 \times 10^{-8}$].

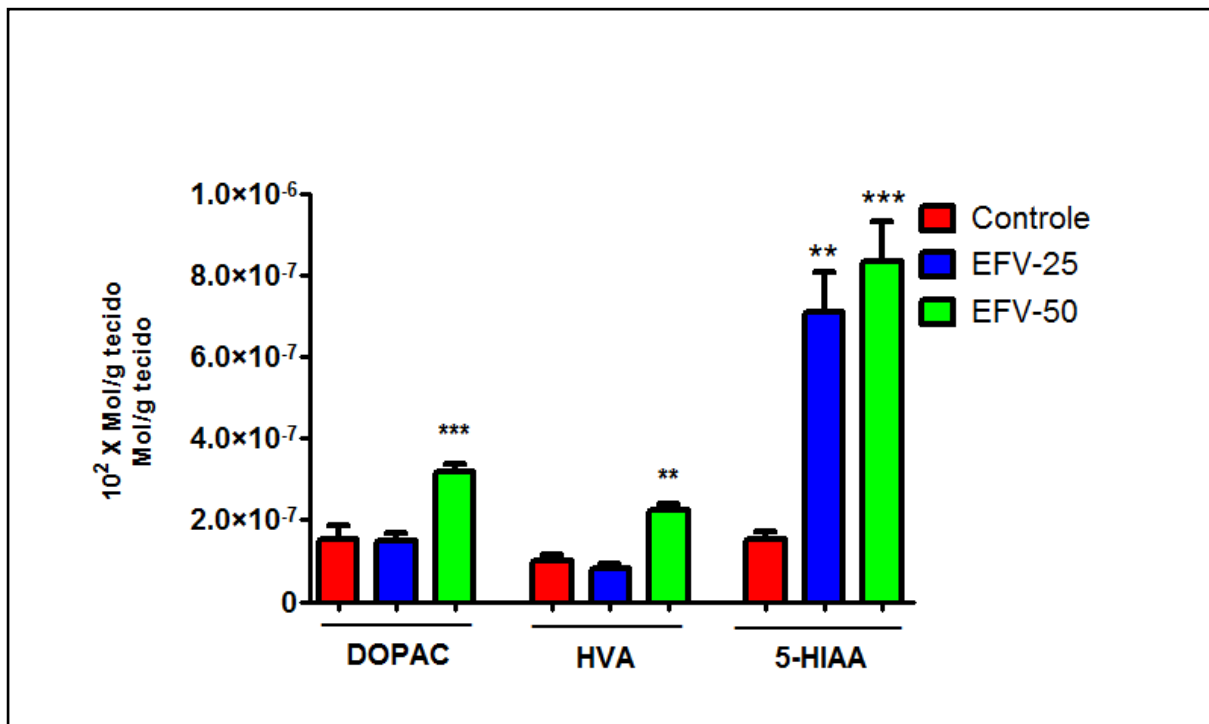
O efavirenz na dose de 25 mg/kg ocasionou elevação significativa nos níveis de dopamina em relação ao controle: (Fig. 24) DOPA: [EFV25: $4,868 \times 10^{-9} \pm 3,159 \times 10^{-10}$; CONTROLE: $1,587 \times 10^{-9} \pm 4,595 \times 10^{-10}$], não havendo diferença significativa de noradrenalina e serotonina comparado ao controle: (Fig. 24) NORA: [EFV25: $1,434 \times 10^{-9} \pm 1,758 \times 10^{-10}$; CONTROLE: $9,372 \times 10^{-10} \pm 1,305 \times 10^{-10}$]; 5-HT: [EFV25: $3,335 \times 10^{-8} \pm 5,139 \times 10^{-9}$; CONTROLE: $2,186 \times 10^{-8} \pm 6,646 \times 10^{-9}$]. Os metabólitos DOPAC e HVA não sofreram alterações significativas: (Fig. 25) DOPAC: [EFV25: $1,508 \times 10^{-9} \pm 1,713 \times 10^{-10}$; CONTROLE: $1,469 \times 10^{-9} \pm 3,444 \times 10^{-10}$]; HVA: [EFV25: $8,707 \times 10^{-10} \pm 1,406 \times 10^{-10}$; CONTROLE: $8,890 \times 10^{-10} \pm 1,717 \times 10^{-10}$]. Houve aumento significativo do metabólito 5-HIAA em relação ao controle: (Fig. 25) 5-HIAA: [EFV25: $7,092 \times 10^{-7} \pm 9,703 \times 10^{-8}$; CONTROLE: $1,518 \times 10^{-7} \pm 1,966 \times 10^{-8}$].

Figura 24 - Concentração de monoaminas no corpo estriado de ratos submetidos ao tratamento agudo com efavirenz nas doses de 25 ou 50 mg/kg e controle.



Após 60 minutos da administração do efavirenz ou veículo, os animais foram dissecados e o corpo estriado foi retirado. A determinação das monoaminas foi realizada pela técnica HPLC com detecção eletroquímica. As barras representam a média \pm EPM de 6 animais por grupo. Para a análise estatística foi utilizado ANOVA e Student-Newman-Keuls como teste post hoc. $P < 0,001$ em relação ao controle (***); $P < 0,05$ em relação ao controle (*). Os resultados foram expressos em mol/g de tecido multiplicado por 10 para as monoaminas noradrenalina e dopamina e em mol/g de tecido para a serotonina.

Figura 25 - Concentração de Dopac, HVA e 5-HIAA no corpo estriado de ratos submetidos ao tratamento agudo com efavirenz nas doses de 25 ou 50 mg/kg e controle.



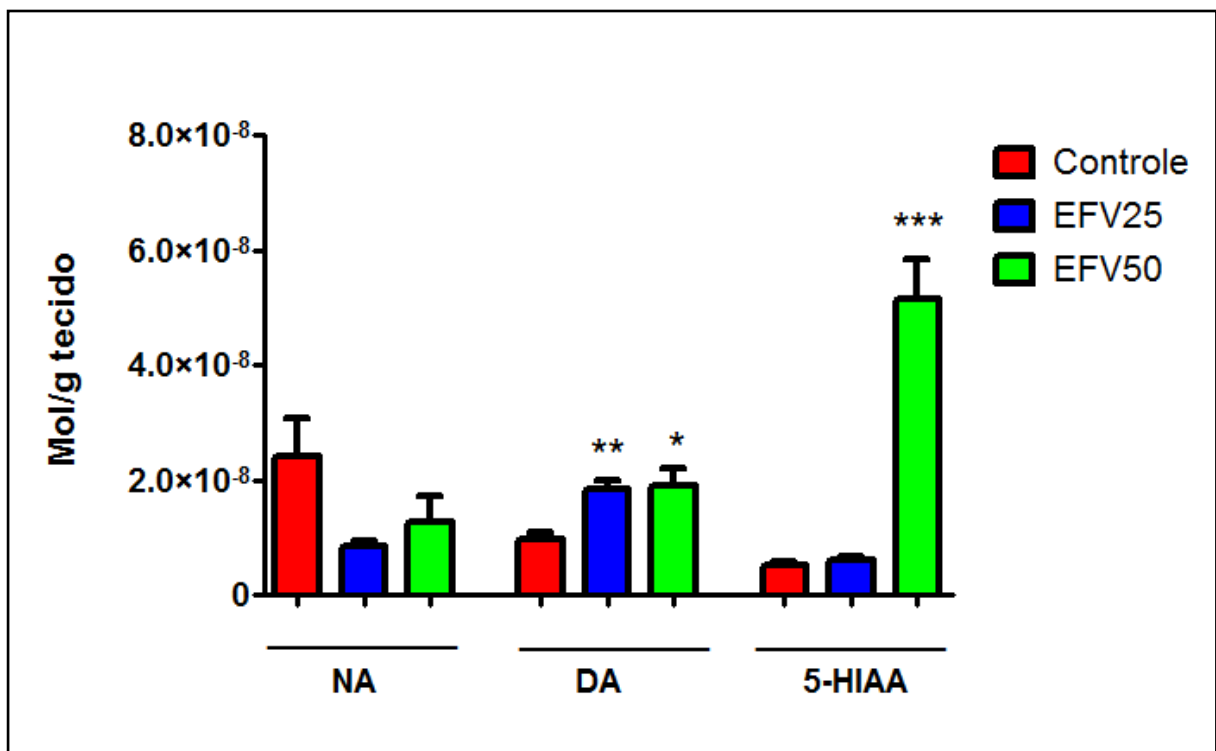
Após 60 minutos da administração do efavirenz ou veículo, os animais foram dissecados e o corpo estriado foi retirado. A determinação dos metabólitos de monoaminas foi realizada pela técnica HPLC com detecção eletroquímica. As barras representam a média \pm EPM de 6 animais por grupo. Para a análise estatística foi utilizado ANOVA e Student-Newman-Keuls como teste post hoc. $P < 0,001$ em relação ao controle (***), $P < 0,01$ em relação ao controle (**). Os resultados foram expressos em mol/g de tecido multiplicado por 10^2 para os metabólitos DOPAC e HVA e em mol/g de tecido para 5-HIAA.

5.2.1.2 Subcrônico

O tratamento subcrônico com efavirenz na dose de 50 mg/kg promoveu aumento significativo na concentração de dopamina e serotonina quando comparado ao controle: (**Fig. 26**) DOPA: [EFV50: $1,908 \times 10^{-8} \pm 2,883 \times 10^{-9}$; CONTROLE: $9,657 \times 10^{-9} \pm 1,179 \times 10^{-9}$]; 5-HT: [EFV50: $5,160 \times 10^{-8} \pm 6,944 \times 10^{-9}$; CONTROLE: $5,213 \times 10^{-9} \pm 7,210 \times 10^{-10}$]. A concentração de noradrenalina não foi alterada: (**Fig. 26**) NORA: [EFV50: $1,267 \times 10^{-8} \pm 4,617 \times 10^{-9}$; CONTROLE: $2,421 \times 10^{-8} \pm 6,603 \times 10^{-9}$]. Os níveis dos metabólitos DOPAC, HVA e 5-HIAA também foram aumentados em relação ao controle: (**Fig. 27**) DOPAC: [EFV50: $3,177 \times 10^{-9} \pm 2,019 \times 10^{-10}$; CONTROLE: $1,469 \times 10^{-9} \pm 3,444 \times 10^{-10}$]; HVA: [EFV50: $2,028 \times 10^{-10} \pm 5,643 \times 10^{-11}$; CONTROLE: $1,314 \times 10^{-8} \pm 1,186 \times 10^{-9}$]; 5-HIAA: [EFV50: $1,833 \times 10^{-10} \pm 2,457 \times 10^{-11}$; CONTROLE: $1,849 \times 10^{-9} \pm 1,911 \times 10^{-10}$].

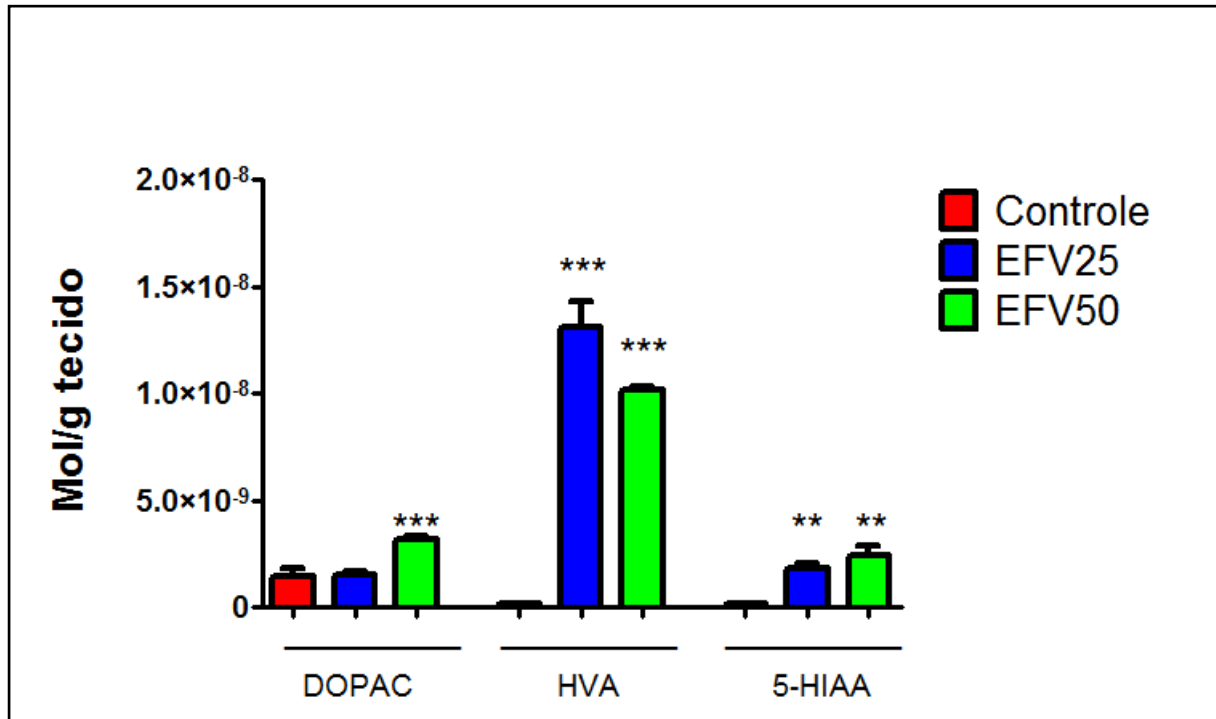
O efavirenz na dose de 25 mg/kg ocasionou elevação significativa nos níveis de dopamina em relação ao controle: (**Fig. 26**) DOPA: [EFV25: $1,857 \times 10^{-8} \pm 1,474 \times 10^{-9}$; CONTROLE: $9,657 \times 10^{-9} \pm 1,179 \times 10^{-9}$], não havendo diferença significativa de noradrenalina e serotonina comparado ao controle: (**Fig. 26**) NORA: [EFV25: $8,579 \times 10^{-9} \pm 8,310 \times 10^{-10}$; CONTROLE: $2,421 \times 10^{-8} \pm 6,603 \times 10^{-9}$]; 5-HT: [EFV25: $6,185 \times 10^{-9} \pm 4,437 \times 10^{-10}$; CONTROLE: $5,213 \times 10^{-9} \pm 7,210 \times 10^{-10}$]. Os metabólitos DOPAC e 5-HIAA aumentaram significativamente: (**Fig. 27**) DOPAC: [EFV25: $1,508 \times 10^{-9} \pm 1,713 \times 10^{-10}$; CONTROLE: $1,469 \times 10^{-9} \pm 3,444 \times 10^{-10}$]; 5-HIAA: [EFV25: $2,463 \times 10^{-9} \pm 4,398 \times 10^{-10}$; CONTROLE: $1,849 \times 10^{-9} \pm 1,911 \times 10^{-10}$]. O metabólito HVA não foi alterado relação ao controle: (**Fig. 27**) HVA: [EFV25: $1,021 \times 10^{-8} \pm 1,334 \times 10^{-10}$; CONTROLE: $1,314 \times 10^{-8} \pm 1,186 \times 10^{-9}$].

Figura 26 - Concentração de monoaminas no corpo estriado de ratos submetidos ao tratamento subcrônico com efavirenz nas doses de 25 ou 50 mg/kg e controle.



Após 15 dias da administração do efavirenz ou veículo, os animais foram dissecados e o corpo estriado foi retirado. A determinação das monoaminas foi realizada pela técnica HPLC com detecção eletroquímica. As barras representam a média \pm EPM de 6 animais por grupo. Para a análise estatística foi utilizado ANOVA e Student-Newman-Keuls como teste post hoc. $P < 0,001$ em relação ao controle (***) ; $P < 0,01$ em relação ao controle (**); $P < 0,05$ em relação ao controle (*).

Figura 27 - Concentração de Dopac, HVA e 5-HIAA no corpo estriado de ratos submetidos ao tratamento subcrônico com efavirenz nas doses de 25 ou 50 mg/kg e controle.



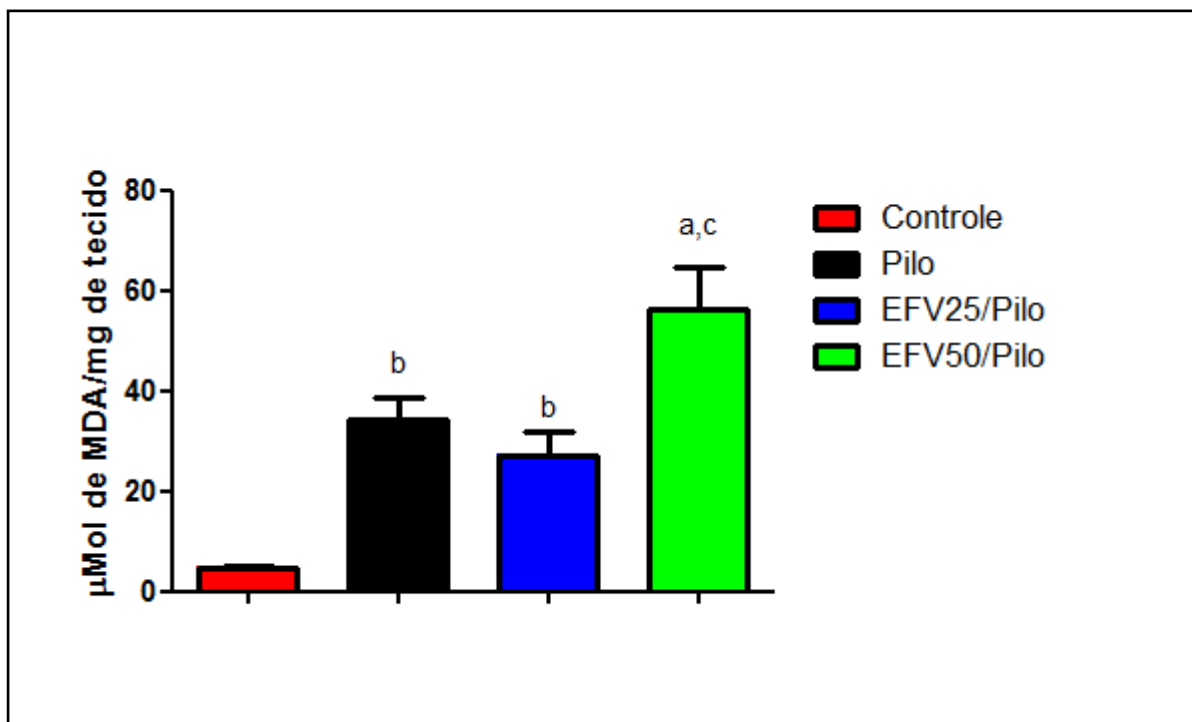
Após 15 dias da administração do efavirenz ou veículo, os animais foram dissecados e o corpo estriado foi retirado. A determinação dos metabólitos de monoaminas foi realizada pela técnica HPLC com detecção eletroquímica. As barras representam a média \pm EPM de 6 animais por grupo. Para a análise estatística foi utilizado ANOVA e Student-Newman-Keuls como teste post hoc. $P < 0,001$ em relação ao controle (***) ; $P < 0,01$ em relação ao controle (**).

5.2.2 Determinação da Concentração de Malonildialdeído (MDA) no Homogenato de Hipocampo

5.2.2.1 Agudo

Os níveis de MDA, como mostra a **Figura 28**, foram significativamente elevados nos homogenatos dos hipocampos dos animais que receberam pilocarpina e foram tratados com efavirenz agudo em qualquer das doses quando comparado ao grupo que recebeu apenas pilocarpina e ao grupo controle: (**Figura 28**) MDA: [EFV25:27,6±4,562; EFV50: 56,29±8,329; CONTROLE: 4,806±0,2634; PILO: 34,39±4,295].

Figura 28 - Concentração de malonildialdeído (MDA) no hipocampo de ratos que receberam pilocarpina na dose de 400 mg/kg e que foram submetidos ao tratamento agudo com efavirenz nas doses de 25 ou 50 mg/kg e controles.

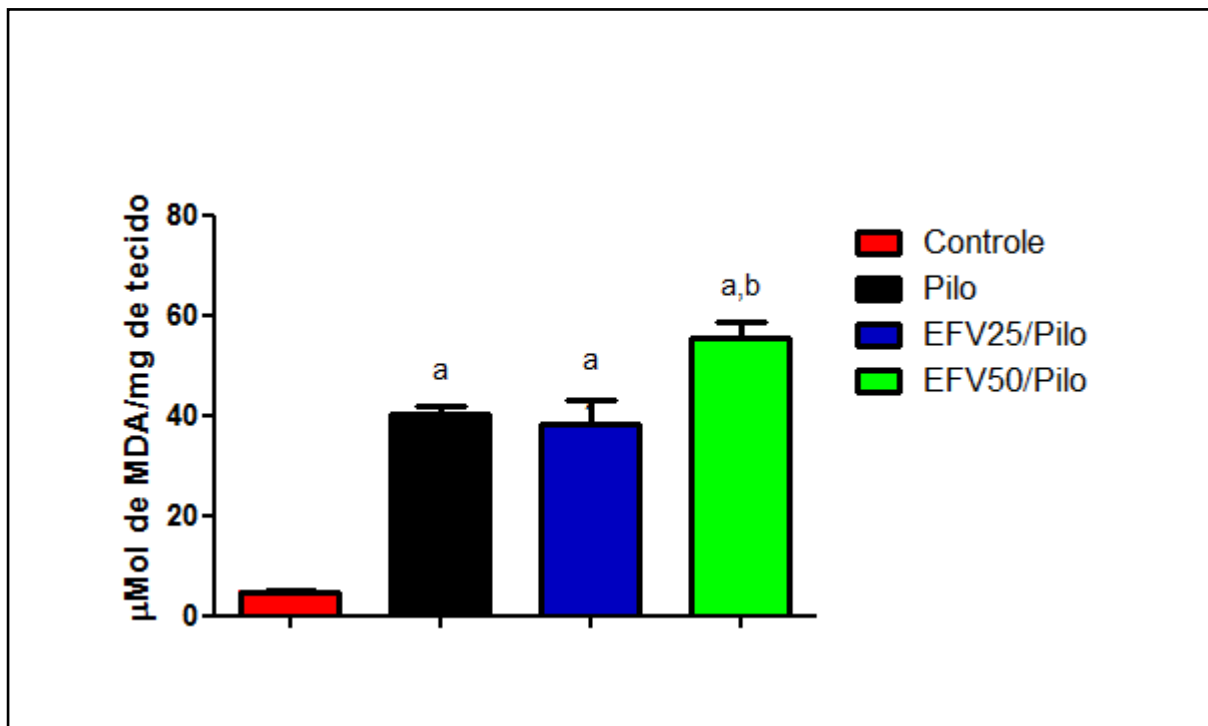


Após 60 minutos da administração do efavirenz ou veículo, os animais receberam uma injeção (i.p.) de pilocarpina (400mg/kg). O grupo controle não recebeu injeção de pilocarpina. Após 1 hora da administração de pilocarpina os animais foram dissecados e o hipocampo foi retirado. A determinação de MDA foi realizada por leitura em espectrofotometria com comprimento de onda de 532 nanômetros. As barras representam a média \pm EPM de 6 animais por grupo. Para a análise estatística foi utilizado ANOVA e Student-Newman-Keuls como teste post hoc. $P < 0,001$ em relação ao controle (a), $P < 0,01$ em relação ao controle (b); $P < 0,05$ em relação à pilocarpina (c).

5.2.2.2 *Subcrônico*

Os níveis de MDA, como mostra a **Figura 29**, foram significativamente elevados nos homogenatos dos hipocampos dos animais que receberam pilocarpina e foram tratados com efavirenz por 15 dias em qualquer das doses quando comparado ao grupo que recebeu apenas pilocarpina e ao grupo controle: (**Figura 29**) MDA: [EFV25:38,23±4,894; EFV50: 55,37±3,314; CONTROLE: 4,806±0,2634; PILO: 40,19±1,750].

Figura 29 - Concentração de malonildialdeído (MDA) no hipocampo de ratos que receberam pilocarpina na dose de 400 mg/kg e que foram submetidos ao tratamento subcrônico com efavirenz nas doses de 25 ou 50 mg/kg e controles.



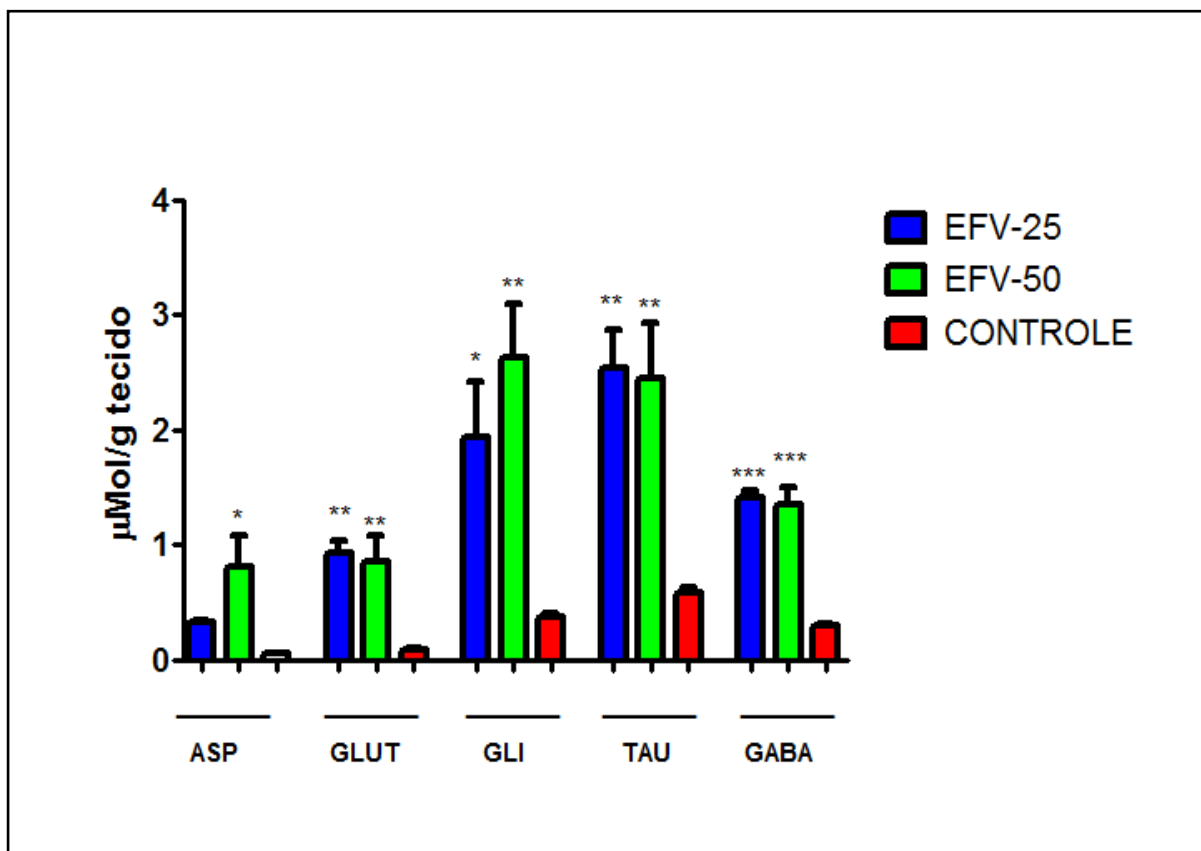
Após 15 dias da administração do efavirenz ou veículo, os animais receberam uma injeção (i.p.) de pilocarpina (400mg/kg). O grupo controle não recebeu injeção de pilocarpina. Após 1 hora da administração de pilocarpina os animais foram dissecados e o hipocampo foi retirado. A determinação de MDA foi realizada por leitura em fotometria com comprimento de onda de 532 nanômetros. As barras representam a média \pm EPM de 6 animais por grupo. Para a análise estatística foi utilizado ANOVA e Student-Newman-Keuls como teste post hoc. P < 0,001 em relação ao controle (a), P < 0,01 em relação à pilocarpina (b).

5.2.3 Determinação da Concentração de Aminoácidos no Córtex Pré-Frontal

5.2.3.1 Agudo

As concentrações dos aminoácidos nos homogenatos dos córtex pré-frontais dos animais que receberam efavirenz agudo, como mostra a **Figura 30**, foram significativamente elevadas em qualquer das doses quando comparado ao grupo que recebeu apenas água destilada: **(Figura 30)** ASP: [EFV25:0,3291±0,01839; EFV50: 0,8093±0,2652;CONTROLE:0,05618±0,005233];GLUT:[EFV25:0,9231±0,1070;EFV50:0,8542±0,2236; CONTROLE: 0,08068±0,0177]; GLI: [EFV25:1,944±0,4687; EFV50: 2,622±0,4801; CONTROLE: 0,3760±0,02304]; TAU: [EFV25: 2,543±0,3209; EFV50:3,083±0,7138;CONTROLE: 0,5913±0,03672];GABA: [EFV25:1,406±0,05931; EFV50: 1,345±0,1579; CONTROLE: 0,2920±0,01383].

Figura 30 - Concentração de aminoácidos no córtex pré-frontal de ratos submetidos ao tratamento agudo com efavirenz e controles.

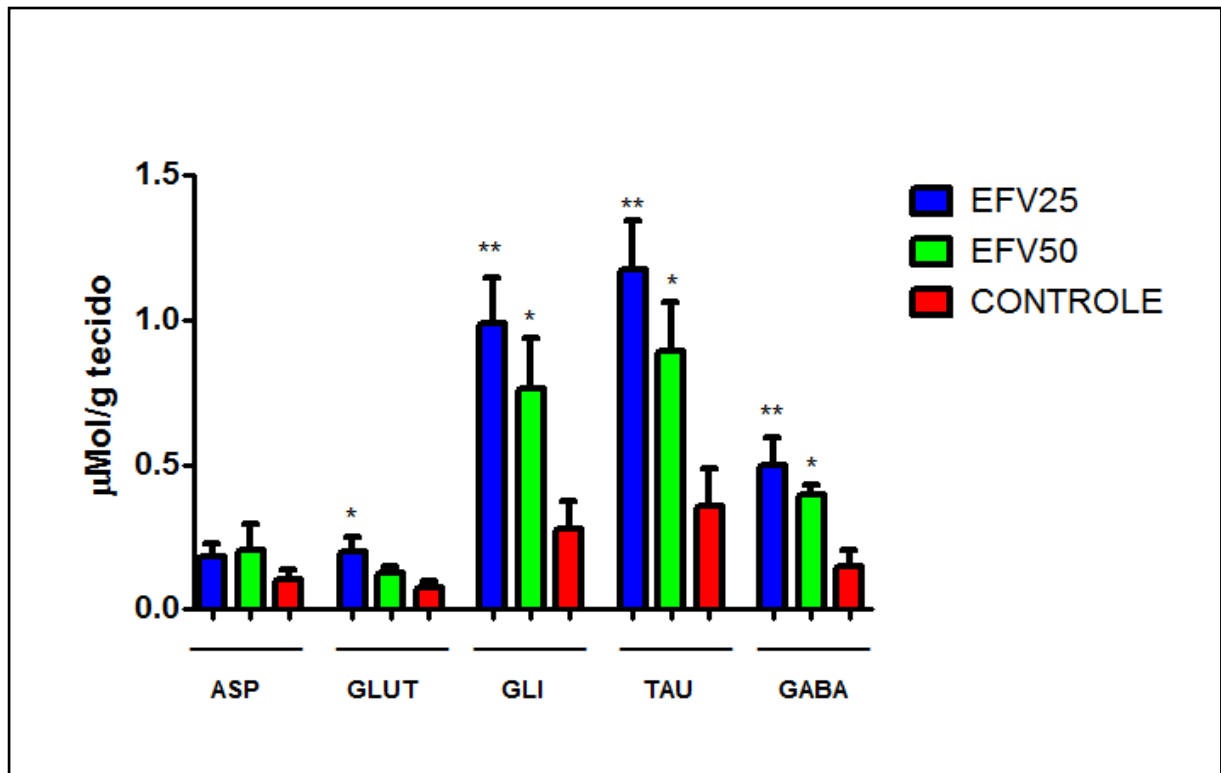


Após 60 minutos da administração do efavirenz ou veículo, os animais foram dissecados e o córtex pré-frontal foi retirado. A determinação dos aminoácidos foi realizada pela técnica HPLC com detecção eletroquímica. As barras representam a média \pm EPM de 6 animais por grupo. Para a análise estatística foi utilizado ANOVA e Student-Newman-Keuls como teste post hoc. P < 0,05 em relação ao controle (*); P < 0,01 em relação ao controle (**); P < 0,001 em relação ao controle (***).

5.2.3.2 Subcrônico

As concentrações dos aminoácidos nos homogenatos dos córtex pré-frontais dos animais que receberam efavirenz subcrônico, como mostra a **Figura 31**, foram significativamente elevadas em qualquer das doses quando comparado ao grupo que recebeu apenas água destilada, à exceção do aspartato nas duas doses e do glutamato na dose maior, onde os resultados não foram estatisticamente significativos: (**Figura 31**) ASP:[EFV25:0,3291±0,01839;EFV50:0,8093±0,2652;CONTROLE:0,05618±0,005233];GLUT:[EFV25:0,9231±0,1070;EFV50:0,8542±0,2236;CONTROLE:0,08068±0,0177];GLI:[EFV25:0,9874±0,1565;EFV50:0,7655±0,1709;CONTROLE:0,280±0,0923];TAU:[EFV25:1,176±1,1692; EFV50: 0,8951 ± 0,1657; CONTROLE:0,3583 ± 0,1269]; GABA: [EFV25: 0,4983 ± 0,09756; EFV50: 0,3947 ± 0,0369; CONTROLE: 0,147±0,05627].

Figura 31 - Concentração de aminoácidos no córtex pré-frontal de ratos submetidos ao tratamento subcrônico com efavirenz e controles.



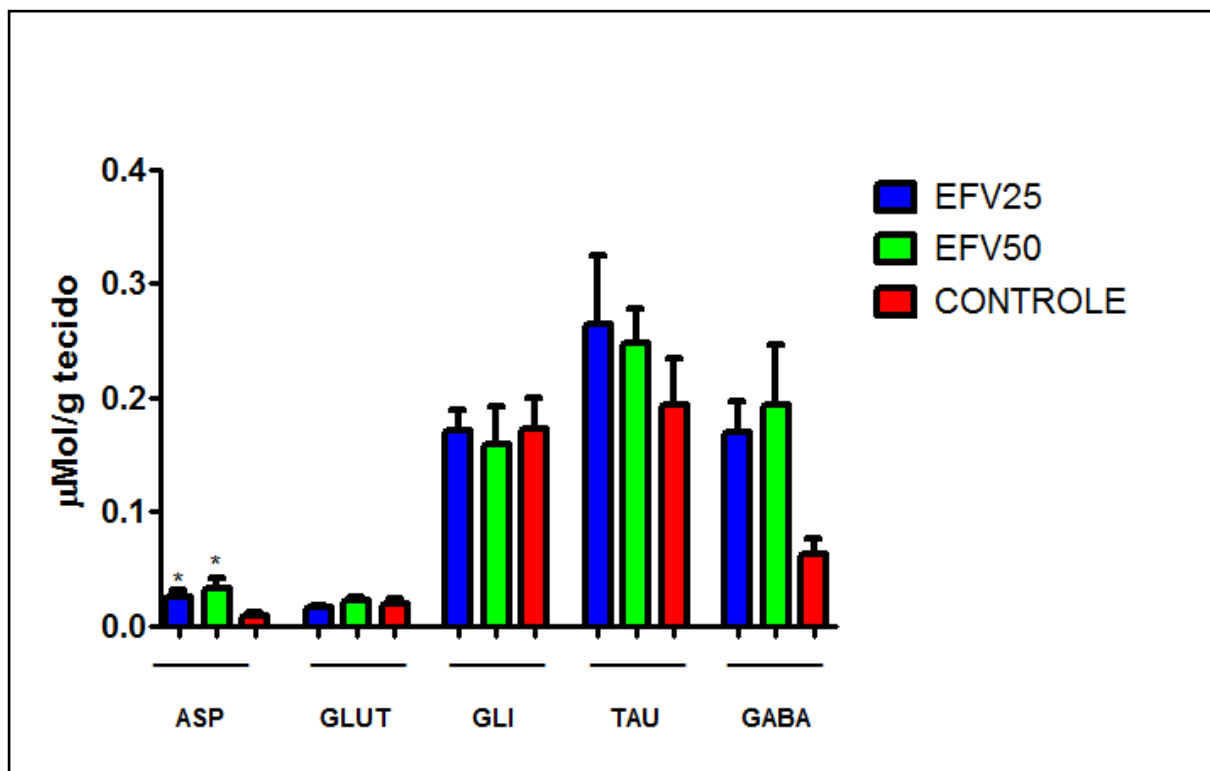
Após 15 dias da administração do efavirenz ou veículo, os animais foram dissecados e o córtex pré-frontal foi retirado. A determinação dos aminoácidos foi realizada pela técnica HPLC com detecção eletroquímica. As barras representam a média \pm EPM de 6 animais por grupo. Para a análise estatística foi utilizado ANOVA e Student-Newman-Keuls como teste post hoc. $P < 0,05$ em relação ao controle (*); $P < 0,01$ em relação ao controle (**)

5.2.4 Determinação da Concentração de Aminoácidos no Corpo Estriado

5.2.4.1 Agudo

As concentrações dos aminoácidos nos homogenatos dos corpos estriados dos animais que receberam efavirenz agudo, como mostra a **Figura 32**, não apresentaram diferença significativa em qualquer das doses quando comparado ao grupo que recebeu apenas água destilada, exceto para o aspartato nas duas doses e para a taurina na dose maior, onde as concentrações foram maiores do que o controle: (**Figura 32**) ASP: [EFV25:0,0258±0,00487; EFV50: 0,0325±0,0087; CONTROLE: 0,009±0,00248]; GLUT:[EFV25:0,0158±0,0017;EFV50:0,0216±0,0038; CONTROLE: 0,0197±0,0034]; GLI: [EFV25:0,1706±0,01876; EFV50: 0,1595±0,0325; CONTROLE: 0,1733±0,026]; TAU: [EFV25: 0,265±0,059; EFV50: 0,430±0,117; CONTROLE: 0,1936±0,0409]; GABA: [EFV25:0,1698±0,027; EFV50: 0,1931±0,05298; CONTROLE: 0,0634±0,0124].

Figura 32 - Concentração de aminoácidos no corpo estriado de ratos submetidos ao tratamento agudo com efavirenz e controles.

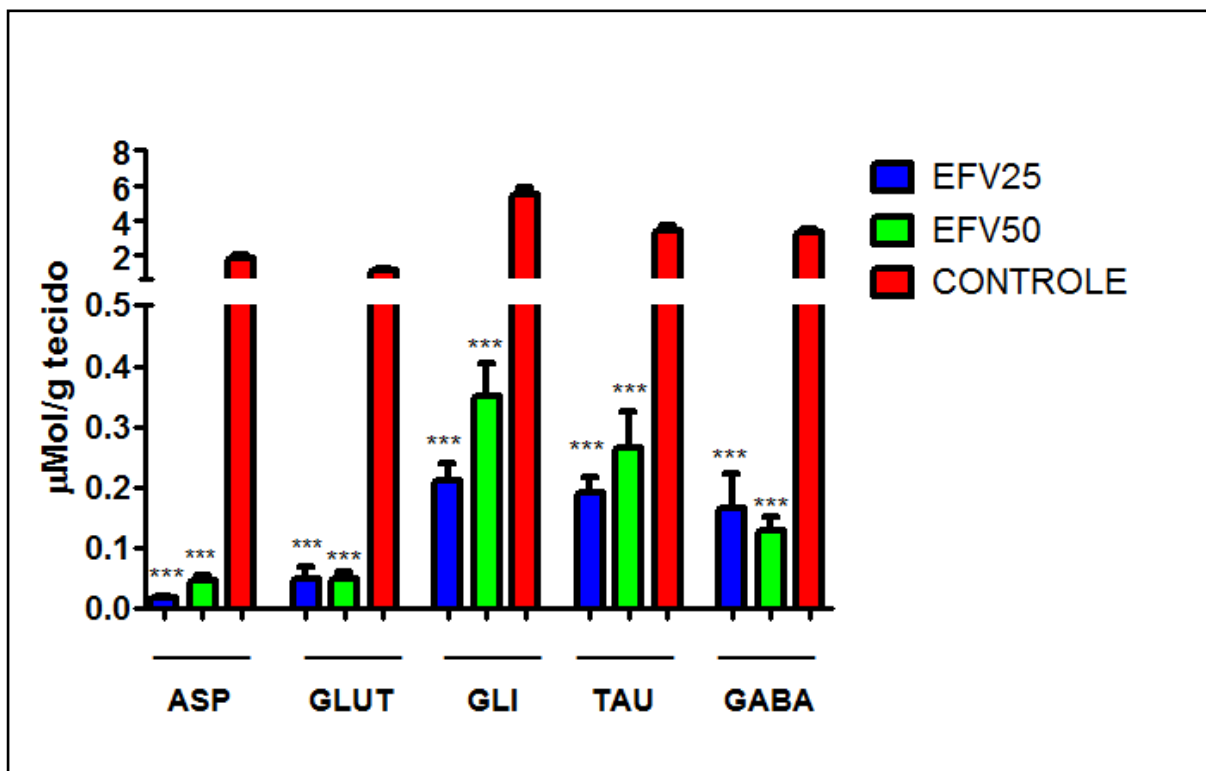


Após 60 minutos da administração do efavirenz ou veículo, os animais foram dissecados e o corpo estriado foi retirado. A determinação dos aminoácidos foi realizada pela técnica HPLC com detecção eletroquímica. As barras representam a média \pm EPM de 6 animais por grupo. Para a análise estatística foi utilizado ANOVA e Student-Newman-Keuls como teste post hoc. $P < 0,05$ em relação ao controle (*).

5.2.4.2 Subcrônico

As concentrações dos aminoácidos nos homogenatos dos corpos estriados dos animais que receberam efavirenz subcrônico, como mostra a **Figura 33**, apresentaram redução significativa em qualquer das doses quando comparado ao grupo que recebeu apenas água destilada: **(Figura 33)** ASP: [EFV25:0,018±0,00135; EFV50:0,04614±0,086;CONTROLE:1,835±0,2008];GLUT:[EFV25:0,04797±0,021;EFV50:0,04755±0,0124; CONTROLE: 1,137±0,088]; GLI: [EFV25:0,2102±0,0286; EFV50:0,3512±0,0528; CONTROLE: 5,486±0,3558]; TAU: [EFV25: 0,1915±0,02541; EFV50:0,2646±0,059; CONTROLE: 3,488±0,2544]; GABA: [EFV25:0,1661±0,0556; EFV50:0,1274±0,02383; CONTROLE: 3,286±0,2036].

Figura 33 - Concentração de aminoácidos no corpo estriado de ratos submetidos ao tratamento subcrônico com efavirenz e controles.



Após 15 dias da administração do efavirenz ou veículo, os animais foram dissecados e o corpo estriado foi retirado. A determinação dos aminoácidos foi realizada pela técnica HPLC com detecção eletroquímica. As barras representam a média \pm EPM de 6 animais por grupo. Para a análise estatística foi utilizado ANOVA e Student-Newman-Keuls como teste post hoc. $P < 0,001$ em relação ao controle (***)

6 DISCUSSÃO

Os resultados do presente estudo mostraram que o efavirenz causou ansiedade após a administração aguda e alterou o comportamento motor de modo semelhante a drogas psicogênicas. Também foi verificada elevação nos níveis de malondialdeído (MDA), o que sugere uma relação com o estresse oxidativo. Os achados possibilitam afirmar que o medicamento causa reações adversas importantes no sistema nervoso central, o que ocasiona prejuízos à terapia.

O efavirenz é um medicamento amplamente utilizado no tratamento de portadores do HIV, mas pacientes submetidos à terapêutica com este fármaco apresentam manifestações adversas importantes, dentre elas ansiedade, depressão e alucinações ou psicoses (ARENDR et al., 2007; LOCHET et al., 2003; O'MAHONY et al., 2005; PEYRIERE et al., 2001; PUZANTIAN, 2002). A ocorrência destes efeitos prossegue, muitas vezes, para abandono de tratamento (PIACENTI, 2006).

Na literatura, não há dados concretos de que o efavirenz seja, de fato, o gerador de tais eventos, até mesmo porque o próprio vírus HIV é sozinho capaz de causar alterações no sistema nervoso central (KALIL, 2006). Mas, estudos clínicos vêm mostrando uma forte evidência de que o efavirenz esteja relacionado aos quadros descritos (AARNOUTSE et al., 2002; ANTONIOU; TSENG, 2002; ARENDR et al., 2007; O'MAHONY et al., 2005; PÉREZ-MOLINA, 2002; PUZANTIAN, 2002; ROMÃO et al., 2011; SANCHEZ; GUTIERREZ, 2008).

Neste estudo, o efeito do efavirenz, na ausência do vírus HIV, foi testado em experimentos pré-clínicos comportamentais e neuroquímicos e, posteriormente, foi realizada a comparação dos resultados.

A interferência do efavirenz sobre os comportamentos de ansiedade e depressão foi avaliada nos testes padronizados de labirinto em cruz elevado (*plus maze*) e nado forçado, respectivamente. O teste de campo aberto foi utilizado para verificar a atividade locomotora. Foi realizado, ainda, o teste de convulsão induzida por pilocarpina para verificar se o EFV é capaz de alterar a latência de convulsão. Posteriormente aos experimentos comportamentais, os animais foram sacrificados e o cérebro removido para dosagem neuroquímica a fim de complementar os estudos comportamentais. Os resultados neuroquímicos também foram utilizados para avaliar a possibilidade do efavirenz possuir alguma relação no desencadeamento de alucinações.

Os resultados mostraram que o tratamento com efavirenz causou ansiedade aguda porque alterou os parâmetros analisados no labirinto em cruz elevado nos experimentos agudos, mas não houve alteração dos mesmos parâmetros nos testes subcrônicos.

O labirinto em cruz elevado é um dos principais modelos animais utilizados no estudo da ansiedade porque se baseia no comportamento espontâneo da aversão ao ambiente causado pelo medo e ansiedade induzido pelo espaço aberto (TREIT et al., 1993), iluminado e alto (BUSH et al. 2007). É conhecido que drogas ansiolíticas, como os benzodiazepínicos, e ansiogênicas aumentam e reduzem, respectivamente, a exploração aos braços abertos (HANDLEY;. MITHANI, 1984).

No teste agudo do labirinto em cruz elevado, os animais que foram tratados com efavirenz, em ambas as doses, apresentaram menor tempo de permanência nos braços abertos em relação ao controle. Esses resultados assemelham-se aos encontrados por Romão et al. (2011), que avaliaram camundongos tratados com efavirenz no mesmo teste e verificaram que esses animais apresentaram diminuição no tempo de permanência nos braços abertos.

Treit et al. (1993) avaliam que a aversão aos braços abertos é a expressão do animal em estado de medo ou ansiedade. Desse modo, o efavirenz após a administração aguda e em qualquer das doses testadas comportou-se de modo semelhante a drogas ansiogênicas, o que não foi observado no tratamento subcrônico, que não mostrou diferenças comportamentais entre os grupos tratados e controle. Esse fato é concordante com as manifestações clínicas descritas na literatura, que relata início dos sintomas, geralmente, na primeira semana de tratamento (TREISMAN; KAPLAN, 2002; GUTIÉRREZ et al., 2005; BICKEL et al., 2005) e, comumente, desaparecimento ou redução da gravidade após algumas semanas (LOCHET et al., 2003; BICKEL et al., 2005; BLANCH et al., 2001).

Por sua vez, quando avaliados no teste de nado forçado, os animais que receberam o efavirenz agudo não apresentaram diferença significativa no tempo de imobilidade, em qualquer uma das doses. Nos experimentos subcrônicos, as duas doses aumentaram o tempo de imobilidade. Drogas que causam depressão aumentam o tempo de imobilidade no nado forçado (PETIT-DEMOULIERE et al., 2005), enquanto que os antidepressivos diminuem o tempo de imobilidade. O efavirenz, como descrito anteriormente, não alterou o tempo de imobilidade quando comparado ao controle nos testes agudos, mas aumentou esse tempo no subcrônico. Desse modo, segundo esses experimentos, pode-se considerar que o efavirenz em

dose aguda não ocasiona depressão, mas, após um período de tratamento, é possível que ocorram episódios depressivos.

Outros estudos realizados com animais avaliaram a relação do EFV com a depressão (O'MAHONY, 2005; QUEREDA et al., 2008; ROMÃO et al., 2011). Os resultados comportamentais não foram conclusivos porque os diferentes estudos apresentaram conclusões diversas. Romão et. al (2011), em suas pesquisas, identificaram que o EFV não alterou o tempo de imobilidade no teste do nado forçado após 36 dias de tratamento, ao passo que O'Mahony (2005) avaliou que o EFV induz comportamento depressivo ao observar que o medicamento aumentou a susceptibilidade ao estresse em diferentes testes comportamentais e, além disso, elevou citocinas inflamatórias, que estão associadas com a depressão. Neste mesmo estudo, os pesquisadores verificaram que o uso da substância antidepressiva paroxetina era capaz de impedir os efeitos observados. Os achados de Quereda et al. (2008) também mostraram alteração de substâncias inflamatória, particularmente o interferon, após a administração de EFV.

A atividade locomotora foi avaliada através do teste de campo aberto. Os ratos que receberam efavirenz agudo não apresentaram alteração significativa na área locomotora percorrida. Em contrapartida, após um tratamento subcrônico com EFV, em qualquer das doses, os animais apresentaram aumento da área percorrida em relação ao controle. A área percorrida no campo aberto após a administração de EFV por 34 dias foi avaliada em outro estudo, que não identificou diferença significativa na área total percorrida entre os animais tratados e controles, entretanto, foi observado um aumento significativo importante na área percorrida nos cinco primeiros minutos comparados aos cinco últimos minutos para os animais tratados em comparação aos controles (O'MAHONY, 2005). Nesse caso, a diferença entre a duração do tratamento pode haver contribuído para isso.

A área percorrida por roedores no campo aberto é um parâmetro de avaliação da atividade motora e o seu aumento pode indicar uma alteração nos sistemas de regulação motora, particularmente no corpo estriado, onde o controle do movimento é mediado, principalmente, pelo neurotransmissor dopamina. Animais que apresentam elevação de dopamina, normalmente, aumentam a área percorrida no campo aberto. Em modelos animais onde há aumento de dopamina, como ocorre com modelos de esquizofrenia, espera-se que este parâmetro encontre-se elevado (CORRÊA, 2009).

Em relação à latência de convulsão, não houve diferença significativa entre os animais tratados com EFV e pilocarpina em relação aos animais tratados apenas com pilocarpina. Assim, segundo esses resultados, o EFV não está envolvido com as convulsões descritas para pacientes com HIV e submetidos à terapia com este fármaco.

Os resultados comportamentais encontrados assemelham-se em parte àqueles descritos nos estudos que motivaram esta pesquisa. De fato, estudos clínicos têm revelado registros de efeitos adversos (LOCHET et al., 2003; PEYRIERE et al., 2001; PUZANTIAN, 2002) com a administração de efavirenz e, associado aos estudos experimentais pós-comercialização, o EFV parece causar, por ele mesmo, alguma neurotoxicidade em animais, particularmente nos roedores, objeto deste estudo.

Um maior conhecimento desses efeitos sobre o SNC, mesmo que de maneira experimental, utilizando modelos em animais, é importante para auxiliar na compreensão dessa possível neurotoxicidade de forma que forneça subsídios para o uso mais seguro e racional desse medicamento. Assim, nesse sentido, uma análise mais aprofundada desses efeitos é importante ser feita e pode ser observada através da avaliação neuroquímica.

Para corroborar os resultados dos experimentos comportamentais, foram analisados os níveis de monoaminas e de seus metabólitos no corpo estriado. Nos ratos tratados agudamente com efavirenz foi observado que houve aumento nas dosagens das monoaminas noradrenalina e serotonina com a dose de 50 mg/kg e tendência para aumento na dose de 25 mg/kg quando comparados aos grupos tratados apenas com água destilada, enquanto que os níveis de dopamina apresentaram-se significativamente elevados nos animais tratados com qualquer das doses de efavirenz.

Semelhante aos achados deste estudo, Zheve (2007) encontrou elevação na concentração de serotonina no hipocampo de ratos que foram tratados com EFV e relacionou esta alteração à capacidade de o EFV inibir a enzima hepática triptofano 2-3 dioxigenase, conforme encontrado na mesma pesquisa. A triptofano 2-3 dioxigenase é responsável pela metabolização periférica do aminoácido triptofano, precursor da serotonina. Segundo a referida pesquisa, a inibição nesta enzima por parte do EFV promoveria um aumento na disponibilidade do aminoácido triptofano, o que ocasionaria a elevação de serotonina.

A elevação das monoaminas, sobretudo na dose de 50 mg/kg, salienta a possibilidade de o efavirenz promover ansiedade, assim como observado no teste comportamental padronizado do labirinto em cruz elevado. A noradrenalina é a principal monoamina

envolvida nos episódios de ansiedade porque modula a vigilância e a resposta ao estresse. Os neurônios noradrenérgicos originam-se no *locus cereleus* e inervam todo o cérebro. Foi comprovado que a ativação do *locus cereleus* em primatas é capaz de promover efeitos ansiogênicos (REDMOND, 1987; SINGEWALD; SHARP, 2000).

Já em relação à elevação nos níveis de dopamina e serotonina pelo efavirenz, estas devem estar envolvidas com as psicoses ou alucinações apresentadas pelos indivíduos que utilizam o medicamento. Alguns estudos comentam sobre o aumento de dopamina (ABERCROMBIE et al., 1989; CORRÊA et al., 2009) e serotonina (COSTAL; NAYLOR, 1995) na ocorrência de psicoses ou alucinações.

Alucinações são experiências sensoriais para as quais não se encontram estímulos sensoriais correspondentes (SPERLING; MARTIN, 1982). Psicose é a perda de contato afetivo com a realidade (KRINSKY, 1977) evidenciada pela ocorrência de alterações de percepção da realidade, inclusive alucinações (SPERLING; MARTIN, 1982). Não se sabe ao certo, a origem fisiopatológica que culmina com a desregulação responsável pela manifestação das psicoses ou alucinações, entretanto, atualmente, é consenso que alterações de dopamina desencadeiam os episódios (ABERCROMBIE et al., 1989; BRESSANA; PILOWSKYB, 2003).

Sabe-se que a exposição ao estresse aumenta a atividade dopaminérgica em várias regiões cerebrais (DEUTCH; ROTH, 1990), em especial no sistema dopaminérgico mesocortical, sugerindo que a ativação da transmissão dopaminérgica pelo estresse tem papel fundamental no desencadeamento de quadros psicóticos (ABERCROMBIE et al., 1989). Há estudos que mostram uma redução destes níveis no córtex frontal, mas a maior parte das pesquisas enfatiza, principalmente, o aumento na concentração de dopamina no corpo estriado. Nesse estudo, a elevação de dopamina ocorreu nesta região cerebral.

De um modo geral, o corpo estriado ajuda a iniciar e a controlar ações corticais que incluem os movimentos voluntários, o comportamento e, em parte, a cognição. Nesta área cerebral, a alteração na concentração de dopamina pode ocasionar distúrbios de ordem motora e comportamental. Sabe-se que o aumento de dopamina é responsável, em grande parte, pelos sintomas positivos da esquizofrenia, dentre estes, as alucinações, além de também estar associado aos movimentos estereotipados (BRESSANA; PILOWSKY, 2003). De fato, muitos autores atribuem a esquizofrenia aos níveis elevados de dopamina no corpo estriado, o que caracteriza a teoria dopaminérgica da esquizofrenia. Entretanto, saliente-se que, a

concentração aumentada de dopamina no *estriatum* não significa ocorrência de esquizofrenia, mas presença do fator gerador das psicoses (alucinações) e estereotipia comportamental. Além disso, em modelos animais, a elevação de dopamina no corpo estriado promove aumento da área locomotora percorrida no campo aberto (CORRÊA et al., 2009). Neste estudo, os animais tratados com EFV apresentaram aumento na área locomotora percorrida no campo aberto após tratamento subcrônico, conforme descrito anteriormente.

O efavirenz também aumentou os níveis dos metabólitos da dopamina e serotonina, HVA e 5-HIAA, respectivamente. Na maior dose, também foi verificado um aumento na metabolização de DOPAC. Esses resultados condizem com os achados anteriores.

Os resultados encontrados estão de acordo com as ocorrências clínicas citadas na literatura. De La Garza et al. (2001) descrevem episódios psicóticos em pacientes utilizando terapia contendo efavirenz e em um estudo de caso, manifestações maníacas ocorrem posteriormente à superdosagem desse medicamento (BLANCH et al., 2001). Em um estudo clínico sobre reações adversas realizado com pacientes usuários de antirretrovirais, identificou-se que os pacientes que relataram episódios de alucinações e relacionaram o evento à utilização do EFV (MAGALHÃES, 2011).

Em relação ao tratamento subcrônico, os experimentos comportamentais mostraram semelhança aos resultados dos testes agudos para dopamina, serotonina e os respectivos metabólitos. Em relação à concentração de noradrenalina, não houve diferença significativa entre os grupos tratados e os controles, o que salienta os resultados do labirinto em cruz elevado, onde também não houve diferença significativa para os testes subcrônicos.

A alteração nas concentrações de monoaminas ocasiona mudanças de comportamento e de percepção da realidade e o EFV parece, de fato, contribuir para a ocorrência de tais distúrbios. Não se sabe de que maneira este medicamento promove alterações monoaminérgicas importantes. Poucos estudos sugerem hipóteses para a origem dessas alterações. Neste estudo, a análise de neurotoxicidade foi avaliada no sentido de relacionar os achados às alterações verificadas.

Os hipocampus dos animais tratados com EFV e pilocarpina foram comparados aos controles, tratados apenas com água destilada, e aos controles positivos, tratados apenas com pilocarpina e água destilada, em relação aos níveis de MDA. Os resultados encontrados foram semelhantes para os experimentos agudos e subcrônicos e mostraram que a dose de 25 mg/kg não promoveu diferença significativa em relação à pilocarpina, mas a dose de 50 mg/kg

ocasionou aumento de MDA comparado à pilocarpina. Isso significa que, em uma dose maior, o EFV provavelmente contribui para a ocorrência do estresse oxidativo.

Poucos estudos sobre EFV e neurotoxicidade estão disponíveis para pesquisa, especialmente em relação à formação de substâncias relacionadas ao estresse oxidativo. Entretanto, o fato de o EFV promover alterações conhecidamente capazes de gerar estresse oxidativo, como a inflamação, assim descrito anteriormente, remete-se a pensar que este medicamento pode realmente estar associado à formação de espécies reativas de oxigênio. Entretanto, é importante que estudos mais aprofundados a esse respeito sejam realizados, já que não há registros na literatura sobre a relação do EFV com o estresse oxidativo que possam ser comparados aos resultados encontrados nesta pesquisa. De fato, o estudo mais próximo deste contexto foi realizado por Streck et al. (2008), que avaliaram que o EFV ocasionaria toxicidade cerebral, após identificarem que o antirretroviral inibe uma enzima importante no metabolismo cerebral, a creatina quinase.

Quando analisados os níveis de aminoácidos, observou-se aumento destes nos testes agudos e subcrônicos no córtex pré-frontal e redução no corpo estriado nos testes subcrônicos quando comparados os grupos tratados aos grupos controles.

A elevação de glutamato no córtex pré-frontal nos animais que receberam efavirenz agudo parece, inicialmente, entrar em discordância com a possibilidade de esta droga ocasionar alucinações, já que este aminoácido ativa os receptores do tipo NMDA no córtex pré-frontal regulando de modo a diminuir os níveis de dopamina no corpo estriado (PIETRASKEK, 2003), o que não ocorreu nesta pesquisa. Em oposição, a diminuição do glutamato no córtex pré-frontal culminaria em aumento da dopamina no *striatum*, ocasionando comportamento do tipo esquizofrênico. Contudo, ressalte-se que, conforme descrito na teoria glutamatérgica da esquizofrenia (OLNEY, 1988), o *feedback* positivo sobre a liberação de dopamina no *striatum* decorre do bloqueio ou hipofunção dos receptores glutamatérgicos do tipo NMDA, como ocorre após o uso do anestésico cetamina (ADLER et al., 1999; LUBY et al., 1959; KRYSTAL et al., 1994) , e não necessariamente por uma redução de glutamato no córtex pré-frontal. Inclusive, há estudos que relacionam a elevação de glutamato no córtex pré-frontal à ocorrência de psicose e que esta elevação é devido ao bloqueio dos receptores NMDA (MOGHADDAM et al., 1997, 1998). Contudo, é necessário que mais estudos sejam realizados a respeito do glutamato sobre as psicoses ou alucinações após o uso do efavirenz.

A despeito da influência do glutamato na ocorrência das alucinações vivenciadas por muitos usuários de EFV, saliente-se então a significativa expressão deste aminoácido nos quadros de ansiedade, relatadas durante o uso do medicamento em estudo. O glutamato é o principal neurotransmissor excitatório do SNC e sua elevação pode ocasionar transtornos de ansiedade. Desse modo, a concentração aumentada de glutamato corrobora os resultados obtidos nos experimentos comportamentais, que revelaram ansiogênese nos grupos tratados com efavirenz.

Sobre o aumento na concentração de GABA no córtex pré-frontal dos animais tratados, isto deve ser devido à elevação nos níveis de glutamato observado nesta mesma área cerebral. Ressalte-se que o glutamato é o precursor do GABA.

Em relação à redução nos níveis dos aminoácidos neurotransmissores glutamato e GABA no corpo estriado após um tratamento subcrônico, é necessário que uma maior investigação seja realizada. Mas, em termos fisiológicos, o aumento destes no córtex pré-frontal normalmente acompanha redução dos mesmos no corpo estriado e vice-versa, como ocorreu na presente pesquisa.

No que concerne à alteração dos demais aminoácidos neurotransmissores neste estudo é necessário que uma análise mais precisa seja realizada a fim de esclarecer a possível relação do efavirenz sobre os mesmos.

7 CONCLUSÃO

De um modo geral, o efavirenz parece interferir no sistema nervoso central em um nível capaz de ocasionar alterações comportamentais e neuroquímicas. Nesse estudo, os resultados apresentaram evidências de que este fármaco pode causar ansiedade após tratamento agudo, além de causar alterações comportamentais semelhantes às ocasionadas por drogas psicogênicas durante o uso agudo e subcrônico e promover aumento do estresse oxidativo cerebral.

O teste do labirinto em cruz elevado corrobora os relatos de ansiedade descritos em estudos clínicos, já que os animais tratados com qualquer das doses de efavirenz permaneceram menos tempo nos braços abertos em relação ao controle.

No que se referem às alucinações, características de psicose, nossos achados sugerem uma forte possibilidade de o efavirenz ser o responsável, de fato, por essa ocorrência. A elevação significativa nas dosagens de dopamina no corpo estriado para as duas doses de EFV e a elevação do seu metabólito DOPAC para a dose de 50 mg/kg e HVA nas duas doses são consistentes com os episódios. Além disso, o aumento de serotonina também pode estar envolvido com essas manifestações.

Sobre a depressão, nossos achados sugerem que o efavirenz não causa depressão no tratamento agudo, contudo, não puderam ser conclusivos para o tratamento subcrônico, já que, apesar do aumento do tempo de imobilidade no nado forçado, a concentração de monoaminas não apóia esses resultados.

A elevação de MDA para os animais que receberam pilocarpina e efavirenz em comparação àqueles que receberam apenas pilocarpina fornece indícios de que o EFV ocasiona algum estresse oxidativo cerebral, o que pode ser responsável pelas demais alterações observadas.

Segundo os achados, o EFV não interfere na latência de convulsão, mas é capaz de alterar aminoácidos cerebrais, fato que precisa ser melhor investigado.

Finalmente, os dados obtidos por meio desta pesquisa fornecem subsídios para a compreensão das experiências adversas vivenciadas pelos usuários de efavirenz. A identificação das dificuldades decorrentes destas reações pode contribuir para um melhor manejo na aplicação da terapia antirretroviral. É necessário, contudo, que mais estudos sobre o efavirenz sejam realizados no sentido de verificar se a presença destes efeitos é duradoura ou cessará no decorrer do tratamento. De fato, a ciência existe, principalmente, para colaborar

com a evolução e o bem-estar da espécie humana. No caso daqueles indivíduos que convivem com o HIV, por enquanto, a ciência deverá contribuir para a qualidade e prolongamento da vida através, também, do uso seguro e racional de medicamentos.

REFERÊNCIAS

- AARNOUTSE, R. E.; GRINTJES, K. J. T.; TELGT, D. S. C.; STEK, M.; HUGEN, P.W.H.; REISS, P. et al. The influence of efavirenz on the pharmacokinetics of a twice-daily combination of indinavir and low-dose ritonavir in healthy volunteers. **Clin. Pharmacol. Therapeutics**, v. 71, p. 57–67, 2002.
- ABERCROMBIE, E.D.; KEEFE, K.A.; DIFRISCHIA, D.S.; ZIGMOND, M. J. Differential effect of stress on in vivo dopamine release in striatum, nucleus accumbens and medial frontal cortex. **J. Neurochem.**, v. 52, p.1655-1658, 1989.
- ACURCIO, F. A.; GUIMARÃES, M. D. C. Utilização de medicamentos por indivíduos HIV positivos: abordagem qualitativa. **Rev. Saúde Pública**, São Paulo, v. 33, n. 1, p. 73-84, jan./fev. 1999.
- ADLER, C.M.; MALHOTRA, A.K.; ELMAN, I.; GOLDBERG, T.; EGAN, M.; PICKAR, D.; BREIER, A. Comparison of ketamine – induced thought disorder in healthy volunteers and thought disorder in schizophrenia. **Amer. J. Psychiat.**, v. 156, p. 1646-1649, 1999.
- ADRIANI, W.; SPIJKER, S.; DEROCHE-GAMONET, V.; LAVIOLA, G.; LE MOAL, M.; SMIT, A. B.; PIAZZA, P. V. Evidence for enhanced neurobehavioral vulnerability to nicotine during periadolescence in rats. **J. Neurosci.**, v. 23, p. 4712–4716, 2003.
- AKSENOV, M.; AKSENOV, M.; BUTTERFIEL, D.A.; MARKESBERY, W. R. Oxidative modification of creatine kinase BB in Alzheimer’s disease brain. **J. Neurochem.**, v. 74, p. 2520–2527, 2000.
- ALBERT, K. A.; HEMMINGS, H. C.; ADAMO, A. I.; POTKIN, S. G.; AKBARIAN, S.; SANDMAN, C. A. et al. Evidence for decreased DARPP-32 in the prefrontal cortex of patients with schizophrenia. **Arch. Gerontol. Psychiatry**, v. 59, p. 705–712, 2002.
- ALMOND, L. M.; HOGGARD, P. G.; EDIRISINGHE, D. E.; KHOO, S. H.; BACK, D. J. Intracellular and plasma pharmacokinetics of efavirenz in HIV-infected individuals. **J. Antimicrobial Chemother.**, v. 56, p. 738–744, 2005.
- ANCES, B.M.; ELLIS, R.J. Dementia and neurocognitive disorders due to HIV-1 infection. **Semin. Neurol.**, v. 27, p. 86–92, 2007.
- ANTONIOU, T.; TSENG, A. L. Interactions between recreational drugs and antiretroviral agents. **Ann. Pharmacother.**, v. 36, p. 1596–1613, 2002.
- ARAÚJO, A. A. S.; ALVES, I. R. A. Terapêutica Anti-retroviral: Situação atual e perspectivas da quimioterapia de combate ao HIV/AIDS. **Cad. Centro Universitário São Camilo**, v. 8, p. 96–108, 2002.

ARENDDT, G.; NOCKER, D.; VONGIESEN, H. J.; NOLTING, T. Neuropsychiatric side effects of efavirenz therapy. **Expert Opin. Drug Safety**, v. 6, p. 147–154, 2007.

ASCHER, J. A.; COLE, J.O.; COLIN, J.N.; FEIGHNER, J.P.; FERRIS, R.M.; FIBIGER, H.C.; GOLDEN, R.N.; MARTIN, P.; POTTER, W.Z.; RICHELSON, E., et al. Bupropion: a review of its mechanism of antidepressant activity. **J. Clin. Psychiatry**, v. 56, p. 395-401, 1995.

BARBOSA, P.R.; VALVASSORI, S.S.; BORDIGNON, C.L.; KAPPEL, D.; MARTINS, M.R.; GAVIOLI, E.C.; QUEVEDO, J.; REGINATTO, F. H. The Aqueous Extracts of *assiflora alata* and *Passiflora edulis* Reduce Anxiety-Related Behaviors Without Affecting Memory Process in Rats. **Journal of Medicinal Food**, v. 11, n. 2, p. 282–288, 2008.

BASSETT, C. N.; MONTINE, T. J. Lipoproteins and lipid peroxidation in Alzheimer's disease. **J. Nutr. Health Aging**, v. 7, p. 24–29, 2003.

BAST, A.; HAENEN, G.R.M.M.; DOELMAN, C.J.A. Oxidants and antioxidants: state of the art. **Am. J. Med.**, v. 91, p. 2-13, 1991.

BRADFORD, H. F.; THOMAS, A. J. Metabolism of glucose and glutamate by synaptosomes from mammalian cerebral cortex. **J. Neurochem.**, v. 16, p. 1495-1504, 1969.

BICKEL, M.; STEPHAN, C.; ROTTMANN, C.; CARLEBACH, A.; HABERL, A.; KUROWSKI, M. et al. Severe CNS side-effect and persistent high efavirenz plasma levels in a patient with HIV/HCV coinfection and liver cirrhosis. **Scand. J. Infect. Dis.**, v. 37, p. 520–252, 2005.

BLANCH, J.; CORBELLA, B.; GARCIA, F.; PARELLADA, E.; GATELL, J. M. Manic syndrome associated with efavirenz overdose. **Clin. Infect. Dis.**, v. 15, p. 270–271, 2001a.

BLANCH, J.; MARTINEZ, E.; ROUSAUD, A.; JOSÉ-LUIS, B.; GARCIA-VIEJO, M.A.; PERI, J. M. et al. Preliminary data of a prospective study on neuropsychiatric side effects after initiation of efavirenz. **J. Acquired Immune Deficiency Syndromes**, v. 27, p. 336–343, 2001b.

BOVERIS, A.; CADENAS, E.; REITER, R.; CHANCE, B.; JAMIESON, D. The relation of free radical production to hyperoxia. **Annu. Rev. Physiol.**, v. 48, p. 703-719, 1986.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Programa Nacional de DST e Aids: guia de tratamento clínico da infecção pelo HIV em crianças**. Brasília, DF, 2004.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Recomendações para terapia anti-retroviral em adultos infectados pelo HIV**. Brasília, DF, 2008. (CONSENSO-AIDS/2008).

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Programa Nacional de DST e Aids. **ONU apresenta novas recomendações para atingir metas globais anti-aids até 2015**. Brasília, DF, 2011 Disponível em: <<http://www.aids.gov.br/noticia/2011/49456>>. Acesso em: 06 nov. 2011.

BRESSAN, R. A.; PILOWSKYB, L.S. 2003. Hipótese glutamatérgica da esquizofrenia. **Rev. Bras. Psiquiatr.**, v. 25, n. 3, p. 177-183, 1999.

BUCHALLA, A. P. Três remédios em um: A FDA aprova a primeira pílula que combina três substâncias do coquetel antiaids. **Veja on-line**, ed. 1965, jul. 2006. Disponível em:<http://veja.abril.com.br/190706/p_086.html>. Acesso em: 21 jan.2008.

BUSH, D. E. A.; FRANCO, J. V. Individual differences in elevated plus-maze exploration predicted progressive-ratio cocaine self-administration break points in Wistar rats. **Psychopharmacology**, v. 194, p. 211–219, 2007.

CAMPOS, L. A. L. **Convulsões, epilepsias e estado de mal epilético**: uma revisão bibliográfica sobre o tema e as condutas de enfermagem. 2005. Disponível em:<<http://www.fasb.edu.br/congresso/trabalhos/AENF20.10.pdf>>. Acesso em: 12 mar. 2012.

CHAGAS, E. Aspectos do desenvolvimento neuropsicológico e a prática educativa. In: RAMOS, M. B. J. R.; FARIA, E. T. F. **Aprender e ensinar**: diferentes olhares e práticas. Porto Alegre: Editora universitária da PUCRS, 2011.

CLERCQ, E. Antiviral drugs: Current state of the art. **J. Clin. Virol.**, v. 22, p. 73–89, 2001.

COHEN, M. V. Free radicals in ischemic and reperfusion myocardial injury: is this time for clinical trials? **Ann. Intern. Med.**, v. 111, p. 918-931, 1989.

CORRÊA, P. T. F. Avaliação comportamental em modelo animal de esquizofrenia induzido por cetamina. 2009. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Universidade do Extremo Sul Catarinense, Criciúma, 2009.

COSTALL, B.; NAYLOR, R. J. Animal neuropharmacology and its prediction of clinical response. In: HIRSCH, S. R.; WEINBERGER, D. R. (Ed.). **Schizophrenia**. Oxford: Blackwell Science, 1995. p. 401-424.

D'ANDREA, F. F. **Transtornos psiquiátricos do adulto**. Rio de Janeiro: Bertrand Brasil, 1990.

DATE, H. L.; FISHER, M. HIV infection. In: Walker, R.; Whittlesea, C. (Eds.). **Clinical pharmacy and therapeutics**. 4th ed. London: Churchill Livingstone Elsevier, 2009. p. 568–598.

DAVID, S.; SHOEMAKER, M.; HALEY, B. E. Abnormal properties of creatine kinase in Alzheimer's disease brain: Correlation of reduced enzyme activity and active site photolabeling with aberrant cytosol-membrane partitioning. **Mol. Brain Res.**, v. 54, p. 276–287, 1998.

DAYA, S.; NONAKA, K. O.; BUZZEL, G. R.; REITER, J. R. Heme precursor 5-aminolevulinic acid alters brain tryptophan and serotonin levels without changing pineal serotonin and melatonin concentrations. **J. Neurosci. Res.**, v. 23, p. 304–309, 1989.

DE LA GARZA, C. L. S.; PAOLETTI-DUARTE, S.; GARCÍA-MARTÍN, C.; GUTIÉRREZ-CASARES, J. R. Efavirenz-induced psychosis. **AIDS**, v. 15, p. 1911–1912, 2001.

DEUTCH, A.Y.; ROTH, R.H. The determinants of stress-induced activation of the prefrontal cortical dopamine system. **Prog. Brain Res.**, v. 85, p. 367-402, 1990.

DREVETS, W.C. Neuroimaging and neuropathological studies of depression: implications for the cognitive-emotional features of mood disorders. **Curr. Opin. Neurobiol.**, v. 11, p. 240-249, 2001.

EFAVIRENZ. Sustiva. Rhodes, Greece: Cerner Multum, 2009.

EVANS, D.L.; CHARNEY, D.S.; LEWIS, L.; GOLDEN, R.N.; GORMAN, J.M.; KRISHNAN, K.R. et al. Mood disorders in the medically ill: scientific review and recommendations. **Biol. Psychiatry**, v. 58, p. 175-189, 2005.

FAUCI, A. S.; LANE, H. C. Doença devida ao vírus da imunodeficiência humana (HIV): AIDS e distúrbios relacionados. In: _____. **Medicina interna**. 15. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. v. 2, cap. 309, p. 1963-2025.

FELDMAN, R. S.; MEYER, J. S.; QUENZER, L. F. **Catecholamines: Principles of neuropsychopharmacology**. Sunderland, MA: Sinauer Associates, 1997 p.277-344.

FERREIRA, A.L.A.; MATSUBARA, L.S. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. Departamento de Clínica Médica da Faculdade de Medicina de Botucatu, Botucatu, SP. **Rev. A s s. Me d. B r a s.**, v. 43, n. 1, p. 61–66, 1997.

GALLANT, J. E. Strategies for long-term success in the treatment of HIV infection. **JAMA**, Chicago, v. 283, n. 10, p. 1329-1334, 2000.

GAMOR, S.; HASHIMOTO, M.; SUGIOKA, K.; SHAHDAT HOSSAIN, M.; HATA, N.; MISAWA, Y; MASUMURA, S. Chronic administration of docosahexanoic acid improves reference memory-learning ability in young rats. **Neuroscience**, v. 93, p. 237–241, 1999.

GARAKANI, A.M.D.; MATHEUS, S.J.M.D.; CHARNEY, D.S.M.D. Neurobiology of Anxiety. Disorders and Implications for treatment. **Mount Sinai J. Med.**, v. 73, p. 941-949, 2006.

GERFEN, C. R. The neostriatal mosaic: multiple levels of compartmental organization in the basal ganglia. **Annu. Rev. Neurosci.**, v. 15, p. 285-320, 1992.

GILDENGERS, A. G.; WHYTE, E.M.; DRAYER, R.A.; SORECA, I.; FAGIOLINI, A.; KILBOURNE, A.M. Medical burden in late-life bipolar and major depressive disorders. **Am. J. Geriatr. Psychiatry**, v. 16, p. 194-200, 2008.

GIR, E.; VAICHULONIS, C. G.; OLIVEIRA, M. D. Adesão à terapêutica anti-retroviral por indivíduos com HIV/AIDS assistidos em uma instituição do interior paulista. **Rev. Latinoam. Enferm.**, v. 13, n. 5, p. 634-641, 2005.

GOLAN, D. E.; TASHJIAN JR., A. H.; ARMSTRONG, E. J.; ARMSTRONG, A. W. **Princípios de farmacologia: a base fisiopatológica da farmacoterapia**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2009.

GRIMBLE, R.F. Dietary lipids and the inflammatory response. **Proc. Nutr. Soc.**, v. 57, p. 535-542, 1998.

GUTIÉRREZ, F.; NAVARRO, A.; PADILLA, S.; ANTÓN, R.; MASIÁ, M.; BORRÁS, J. et al. Prediction of neuropsychiatric adverse events associated with long-term efavirenz therapy, using plasma drug level monitoring. **Clin. Infect. Dis.**, v. 41, p. 1648-1653, 2005.

HALES, R.E.; YUDOFKY, S.C. **Tratado de psiquiatria clínica**. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2006.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J.M.C. Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: an overview. **Methods Enzymol.**, v. 186, p. 1-85, 1990

HANDLEY, S.L.; MITHANI, S. Effects of alpha-adrenoceptor agonists and antagonists in a maze-exploration model of 'fear'-motivated behaviour. **Naunyn Schmiedebergs Arch. Pharmacol.**, v. 327, p. 1-5, 1984

HERSHKO, C. Mechanism of iron toxicity and its possible role in red cell membrane damage. **Semin. Hematol.**, v. 26, p. 277-285, 1989.

HUGHES, A.; BARBER, T.; NELSON, M. New treatment options for HIV salvage patients: An overview of second generation PIs, NNRTIs, integrase inhibitors and CCR5 antagonists. **J Infect.**, London, v. 57, n. 1, p.1-10, 2008.

JAVITT, D. C.; ZUKIN, S.R. Recent advances in the phencyclidine model of schizophrenia. **Am. J. Psychiatry**, v. 148, p. 1301-1308, 1991.

JENA, A.; SACHDEVA, R. K.; SHARMA, A.; WANCHU, A. Adverse drug reactions to nonnucleoside reverse transcriptase inhibitorbased antiretroviral regimen: A 24-week prospective study. **J. Int. Assoc. Physicians AIDS Care**, v. 8, p. 318-322, 2009.

JOCA, S. R.; SKALISZ, L. L.; BEJAMINI, V.; VITAL, M.A.B.F.; ANDREATINI, R. The antidepressive-like effect of oxcarbazepine: possible role of dopaminergic neurotransmission. **Eur. Neuropsychopharmacol.**, v. 10, p. 223-228, 2000.

KALIA, M. Neurobiological basis of depression: an update. **Metabolism**, v. 54, n. 5, Suppl. 1, p. 24-27, 2005.

KALIL, R. S. **Estudo dos transtornos cognitivos em vigência da infecção pelo HIV-1**. Rio de Janeiro, RJ, 2006.

KANDEL, E. R.; SCHWARTZ, J. H.; JESSELL, T. M. **Principles of Neural Science**. 4th ed. New York: McGraw-Hill, 2000.

KIM, J. H.; LEE, S.Y.; JANG, C.G. Antidepressant-like effects of Albizzia julibrissin in mice: involvement of the 5-HT_{1A} receptor system. **Pharmacol. Biochem. Behav.**, v. 87, p. 41-47, 2007.

KING, G. R.; ELLINWOOD, E. H. Amphetamines and other Stimulants. In: LOWINSON, J. H. et al. **Substance Abuse: a comprehensive textbook**. 2nd. ed. Baltimore: Williams & Wilkins, 1992.

KNOL, M. J.; TWISK, J. W. R.; BEEKMAN, A. T. F.; HEINE, R. J.; SNOEK, F. J.; POUWER, D. F. Depression as a risk factor for the onset of type 2 diabetes mellitus. A metaanalysis. **Diabetologia**, v. 49, p. 837-845, 2006.

KOOB, G. F. Drugs of abuse: anatomy, pharmacology and function of reward pathways. **Trends Pharmacol. Sci.**, v. 13, p. 177-184, 1992.

KOOB, G. F.; BLOOM, F. E. Cellular and molecular mechanisms of drug dependence. **Science**, v. 242, p. 715-723, 1988.

KRISHNAN, V.; NESTLER, E.J. The molecular neurobiology of depression. **Nature**, v. 455, p. 894-902, 2008.

KRINSKY, S. Psicoses na Infância. In: KRINSKY, S. **Temas de Psiquiatria Infantil**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1977.

KRYSTAL, J. H.; KARPER, L. P.; SEIBYL, J. P.; FREEMAN, G.K.; DELANEY, R.; BREMNER, D. Subanesthetic effects of the noncompetitive NMDA antagonist, ketamine, in humans. Psychotomimetic, perceptual, cognitive, and neuroendocrine responses. **Arch. Gen. Psychiatry**, v. 51, p. 199-214, 1994.

LANDREAU-MASCARO, A.; BARRET, B.; MAYAUX, M.J.; TARDIEU, M., BLANCHE, S.; French Perinatal Cohort Study Group. Risk of early febrile seizure with perinatal exposure to nucleoside analogues. **Lancet**, v. 359, n. 9306, p.583-584, 2002.

LANG, A. E.; LOZANO, A. M. Parkinson's disease. First of two parts. **N. Engl. J. Med.**, v. 339, p. 1044-1053, 1998.

LE MOAL, M.; SIMON, H. Mesocorticolimbic dopaminergic network: functional and regulatory roles. **Physiol. Rev.**, v. 71, p. 155-234, 1991.

LEENTJENS, A. F. Depression in Parkinson's disease: conceptual issues and clinical challenges. **J. Geriatr. Psychiatry Neurol.**, v. 17, p. 120-126, 2004.

- LEMKE, M. R.; FUSHS, G.; GEMEND, I.; HERTING, B.; WEIN, C.O.; REICHMANN, H. Depression and Parkinson's Disease. **J. Neurol.**, v. 251, Suppl. 6, p. VI/ 24-27, 2004.
- LENT, R. **Cem bilhões de neurônios: conceitos fundamentais de neurociências**. São Paulo: Atheneu, 2004.
- LEWDEN, C. Time with CD4 count above 500 cells/mm³ allows HIV-infected men, but not women, to reach similar mortality rates to those of the general population: a 7-year analysis. In: CONFERENCE ON RETROVIRUSES AND OPPORTUNISTIC INFECTIONS, 17th, 2010, San Francisco. **Abstract**. San Francisco, 2010. n. 527.
- LIU, P.; FOSTER, G.; LABADIE, R. R.; GUTIERREZ, M. J.; SHARMA, A. Pharmacokinetic interaction between voriconazole and efavirenz at steady state in healthy subjects. **Clin. Pharmacol. Therap.**, v. 77, p. 40, 2005.
- LOCHET, P.; PEYRIERE, H.; LOTTHÉ, A.; MAUBOUSSIN, J. M.; DELMAS, B.; REYNES, J. Long-term assessment of neuropsychiatric adverse reactions associated with efavirenz. **HIV Medicine**, v.4, p. 62-66, 2003.
- LUBY, E.D.; COHEN, B.D.; ROSENBAUM, G.; GOTTLIEB, J. S.; KELLEY, R. Study of a new schizophrenomimetic drug: serenyl. **Arch. Neurol. Psychiatry**, v. 71, p. 363-369, 1959
- MAGALHÃES, K. N. **Estudo dos problemas farmacológicos em pacientes hiv+ sob terapia antiretroviral em um centro de especialidades médicas de Fortaleza-Ceará**. 2011. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2011.
- MAGANHIN, C. C.; CA R BONE L, A.A.F; HATTY, J.H.; FUCHS, L.F.P.; DE OLIVEIRA-JÚNIOR, I.S.; SIMÃO S,M.J. Efeitos da melatonina no sistema genital feminino: breve revisão. **Rev. Assoc. Med. Bras.**, São Paulo, v. 54, n. 3, June 2008.
- MAO, Q. Q.; IP, S.P.; TSAI, S.H.; CHE, C.T. Antidepressant-like effect of peony glycosides in mice. **J. Ethnopharmacol.**, v. 119, p. 272-275, 2008.
- MARGIS, R.; PICON, P.; COSNER, A.F; SILVEIRA, R.O. Relação entre estressores, estresse e ansiedade. **Psiquiatr. RS**, v. 25, supl.1, p. 65-74, 2003.
- MARINS, J. R. P.; JAMAL, L.; CHEN, S.; BARROS, M.; HUDES, E.; BARBOSA, A. Dramatic improvement in survival among adult Brazilian AIDS patient. **Aids**, v. 17, n. 11, p. 1675-1682, 2003.
- MARQUES, H. S. Avaliação crítica dos efeitos adversos do tratamento anti-retroviral no feto, recém-nascido e lactente . **Rev. Bras. Ginecol. Obstet.**, v. 28, n. 7, p. 424-430, 2006.

MARTIN, P.; MASSOL, J.; COLIN, J.N.; LACOMBLEZ, L.; PUECH, A.J. Antidepressant profile of bupropion and three metabolites in mice. **Pharmacopsychiatry**, v. 23, p. 187-194, 1990.

MARWAHA, A. Getting High on HIV Drugs in S Africa. **BBC News**, 2008. Disponível em: <<http://news.bbc.co.uk/2/hi/africa/7768059.stm>>. Acesso em: 2 Mar. 2012.

MARZOLINI, C.; TELENTI, A.; DECOSTERD, L. A.; GREUB, G.; BUCLIN, T. Efavirenz plasma levels can predict treatment failure and central nervous system side effects in HIV-1-infected patients. **AIDS**, v. 15, p. 71–75, 2001.

MELLO FILHO, A.C.; HOFFMAN, M.E; MENEGHINI, R. Cell killing and DNA damage by hydrogen peroxide are mediated by intracellular iron. **Biochem. J.**, v. 218, p. 273-275, 1983.

MISSALE, C.; NASH, S.R.; ROBINSON, S.W.; JABER, M.; CARON, M.G. Dopamine receptors: from structure to function. **Physiol. Rev.**, v. 78, p. 189-225, 1998.

MOGHADDAM, B.; ADAMS, B.; VERMA, A., DALY, D. 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.**, v. 17, p. 2921-2927, 1997.

MOGHADDAM, B.; ADAMS, B.W. Reversal of phencyclidine effects by a group II metabotropic glutamate receptor agonist in rats. **Science**, v. 281, p.1349-1352, 1998.

MONSHOUWER, M.; WITKAMP, R. F.; NIJMEIJER, S. M.; VAN AMSTERDAM, J. G.; VAN MIERT, A. S. J. P. A. M. Suppression of cytochrome P450 and UDP glucuronosyl transferase-dependent enzyme activities by proinflammatory cytokines and possible role of nitric oxide in primary cultures of pig hepatocytes. **Toxicol. Appl. Pharmacol.**, v.137, p. 237–244, 1996.

NESTLER, E. J.; BARROT, M.; DILEONE, R.J.; EISCH, A.J.; GOLD, S.J.; MONTEGGIA, L.M. Neurobiology of depression. **Neuron**, v. 34, p. 13–25, 2002

O'MAHONY, S. M.; MYINT, A.; STEINBUSCH, H.; LEONARD, B. E. Efavirenz induces depressive like behaviour, increased stress response and changes in the immune response in rats. **Neuroimmunomodulation**, v. 12, p. 293–298, 2005.

OLNEY, J. W. Endogenous excitotoxins and neuropathological disorders. In: LODGE, D. (Ed.). **Excitatory amino acids in health and disease**. London: John Wiley & Sons, 1988. p. 337-351.

PAIM, I. **Curso de psicopatologia**. Rio de Janeiro: Fundo de Cultura, 1969.

PATERSON, D. L.; SWINDELLS, S.; BRESTER, M.; VERGIS, E. N. Adherence to protease inhibitor therapy and outcomes in patients with HIV infection. **Ann. Int. Med.**, v. 133, p. 21–30, 2000.

PÉREZ-MOLINA, J. A. Safety and tolerance of efavirenz in different antiretroviral regimens: Results from a national multicenter prospective study in 1, 033 HIV-infected patients. **HIV Clin. Trials**, v. 3, p. 279–286, 2002.

PESTANA, F. M. **Avaliação comportamental e dos níveis séricos e metabolismo periférico dos hormônios tireoidianos em ratos submetidos ao estresse social seriado**. Mestrado (Medicina Veterinária) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2010.

PETIT-DEMOULIERE, B.; CHENU, F.; BOURIN, M. "Forced swimming test in mice: a review of antidepressant activity. **Psychopharmacology (Berl)**, v. 177, n. 3, p. 245–255, 2005.

PEYRIERE, H.; MAUBOUSSIN, J. M.; ROUANET, I.; FABRE, J.; REYNES, J. Management of sudden psychiatric disorders related to efavirenz. **AIDS**, v. 15, p. 1323–1324, 2001.

PHELPS, E.A; LEDOUX, J.E. Contributions of the amygdale to emotion processing: from animal models to human behavior. **Neuron**, v. 48, p. 175-187, 2005

PIACENTI, F. J. An update and review of antiretroviral therapy. **Pharmacotherapy**, v. 26, p. 1111–1133, 2006.

PIERON, H. **Dicionário de psicologia**. Porto Alegre: Globo, 1966.

PIETRASZEK, M. Significance of dysfunctional glutamatergic transmission for the development of psychotic symptoms. **Pol. J. Pharmacol.**, v. 55, p. 133-154, 2003.

PORSOLT, R. D.; ANTON, N. B.; JALFRE, M. Behavioural despair in mice: a primary screening test for antidepressants. **Arch. Int. Pharmacodynamie**, v. 229, p. 327-336, 1987.

POWERLY, W. G.; LANDAY, A.; LEDERMAN, M. M. Recovery of the immune system with antiretroviral therapy: the end of opportunism? **JAMA**, v. 280, p. 72-77, 1998.

PUSTER, R. A. **Transmissão adrenérgica**. Disponível em <<http://www.portaleducacao.com.br/farmacia/artigos/2823/transmissaoadrenergica>>. Acesso em: 06 nov. 2011.

PUZANTIAN, T. Central nervous system adverse effects with efavirenz: Case report and review. **Pharmacotherapy**, v. 22, p. 930–933, 2002.

QUEREDA, C.; CORRAL, I.; MORENO, A.; PÉRES-ELIAS, M. J.; CASADO, J. L.; DRONDA, F. et al. Effect of treatment with efavirenz on neuropsychiatric adverse events of interferon in HIV/HCV coinfecting patients. **J. Acquir. Immune Defic. Syndr.**, v. 49, p. 61–63, 2008.

RAMOS NETO, S. S. **HIV e AIDS: histórico, patologia, diagnóstico, tratamento e perspectivas sobre o mal do século.** 2004. 81 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia) – Universidade do Extremo Sul Catarinense, Criciúma, 2004.

RANG, H.P.; DALE, M.M.; RITTER, J.M.; MOORE, P. K. **Farmacologia.** 5 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2004.

RAVEL, R. **Laboratório clínico: aplicações clínicas dos dados laboratoriais.** 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1997.

REDMOND, D. E. Studies of the *nucleus locus coeruleus* in monkeys and hypotheses for neuropsychopharmacology. In: MELTZER, H.Y. **Psychopharmacology: the Third Generation of Progress.** New York: Raven Press, 1987. p. 967-975.

SCHILDKRAUT, J. J. The catecholamine hypothesis of affective disorders: a review of supporting evidence. **Am. J. Psychiatry**, v. 122, p.509-522, 1965.

RIHS, T. A.; BEGLEY, K.; SMITH, D. E.; SARANGAPANY, J.; CALLAGHAN, A.; KELLY, M., et al. Efavirenz and chronic neuropsychiatric symptoms: A cross-sectional case control study. **HIV Medicine**, v. 7, p. 544–548, 2006.

ROMÃO, P.R.T.; LEMOS, J.C.; MOREIRA, J.; DE CHAVES, G.; MORETTI, M.; CASTRO, A.A.; ANDRADE, V.M.; BOECK, C.R; QUEVEDO, J.; GAVIOLI, E.C. Anti-HIV Drugs Nevirapine and Efavirenz Affect Anxiety-Related Behavior and Cognitive Performance in Mice. **Neurotox Res.**, v. 19, p. 73-80, 2011.

ROSS, D.; MOLDEUS, P. Antioxidant defense systems and oxidative stress. In: VIGO-PELFREY, C. (Ed.). *Membrane lipid oxidation.* 1st ed. Boca Raton: CRC Press, 1991. p. 151-170.

ROSSETTI, Z. L.; LAI, M.; HMAIDAN, Y.; GESSA, G. L. Depletion of mesolimbic dopamine during behavioral despair: partial reversal by chronic imipramine. **Eur. J. Pharmacol.**, v. 242, p. 313-315, 1993.

SACKTOR, N.; LYLES, R. H.; SKOLASKY, R.; KLEEBERGER, C.; SELNES, O. A.; MILLER, E. N. et al. HIV-associated neurologic disease incidence changes: Multicenter AIDS cohort study, 1990–1998. **Neurology**, v. 56, p. 257–260, 2001.

SALUM, C. **Papel funcional da interação dopamina e óxido nítrico no sistema nervoso central.** São Paulo: Instituto de Neurociências e Comportamento, 2008. Disponível em <<http://www.inec-usp.org/cursos/cursoI.htm>>. Acesso em: 12 mar. 2012.

SANCHEZ, H. V.; GUTIERREZ, R. F. Toxicogenetics of antiretroviral treatment (II): Neurotoxicity, hepatotoxicity, lactic acidosis, kidney damage, and other adverse effects of antiretroviral drugs. **Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica**, v. 6, p. 24–33, 2008.

SANTOS, I. P. A. Sonho e alucinações visuais: propostas fenomenológicas para sua compreensão, interpretação e intervenção psicológica. **Análise Psicológica**, v. 3, n. 24, p. 343-352, 2006.

SEPKOWITZ, K. A. AIDS – the first 20 years. **N. Engl. J. Med.**, Boston, v. 344, n. 23, p. 1764-1772, 2001.

SHAN, X.; AW, T. Y.; JONES, D. P. Glutathione-dependent protection against oxidative injury. **Pharmacol. Ther.**, v. 47, p. 61-71, 1990.

SINGEWALD, N.; SHARP, T. Neuroanatomical targets of anxiogenic drugs in the hindbrain as revealed by Fos immunocytochemistry. **Neuroscience**, v. 98, p. 759-770, 2000.

SPEAR, L. P. Modeling adolescent development and alcohol use in animals. **Alcohol Res. Health**, v. 24, n. 2, p. 115-123, 2000.

SPERLING, A.; MARTIN, K. **Introdução à psicologia**. São Paulo: Pioneira Psicologia, 1999.

STONE, V. E.; JORDAN, J. P.; TOLSON, J.; MILLER, R.; PILON, T. Perspectives on adherence and simplicity for HIV-infected patients on antiretroviral therapy: self-report of the relative importance of multiple attributes of Highly. **J. Acquir. Immune Defic. Syndr.**, v. 36, n. 3, p. 808-816, 2004.

STRECK, E.L.; SCAINI, G.; REZIN, G.T.; MOREIRA, J.; FOCHESSATO, C.M.; ROMÃO, P.R.T. Effects of the HIV treatment drugs nevirapine and efavirenz on brains creatine kinase activity. **Metab. Brain Dis.**, v. 23, p. 485-492, 2008.

TENGAN, S. K.; MAIA, A. K. Psicoses, esquizofrenia, Psicoses funcionais na infância e adolescência. **J. Pediatr. (Rio J)**, v. 80, n. 2, supl., p. S3-S10, 2004.

TIMMONS, S.D.; GEISERT, E.; STEWART, A.E.; LORENZON, N.M.; FOEHRING, R.C. Alpha 2-adrenergic receptor-mediated modulation of calcium current in neocortical pyramidal neurons. **Brain Res.**, v. 1014, p. 184–196, 2004.

TREISMAN, G. J.; KAPLAN, A. I. Neurologic and psychiatric complications of antiretroviral agents. **AIDS**, v. 16, p. 1201–1215, 2002.

TREIT, D.; MENARD, J.; ROYAN, C. Anxiogenic stimuli in the elevated plus-maze. **Pharmacol. Biochem. Behav.**, v. 44, p. 463-469, 1993.

UNAIDS. **AIDS epidemic update**: December 2007. Geneva, 2007.

UNITED STATES OF AMERICA. Department of Health and Human Services. Panel on Antiretroviral Guidelines for Adult and Adolescents. **Guidelines for the use of antiretroviral agents in HIV-1-infected adults and adolescents**. 2008. 128 p. Disponível em: <<http://www.aidsinfo.nih.gov/ContentFiles/AdultandAdolescentGL.pdf>>. Acesso em: 06 Nov. 2011.

UNAIDS. **Global report**: UNAIDS report on the global AIDS epidemic 2010. Disponível em: <<http://www.unaids.org/globalreport/>>. Acesso em: 12 Nov. 2011.

VAN SIGHEM, A. et al. Life expectancy of recently diagnosed asymptomatic HIV-infected patients approaches that of uninfected individuals. In: CONFERENCE ON RETROVIRUSES AND OPPORTUNISTIC INFECTIONS, 17th, 2010, San Francisco. **Abstract**. San Francisco, 2010. n. 526.

VON GIESEN, H. J.; KOLLER, H.; THEISEN, A.; ARENDT, G. Therapeutic effects of nonnucleoside reverse transcriptase inhibitors on the central nervous system in HIV-1-infected patients. **J. Acquir. Immune Defic. Syndr.**, v. 29, p. 363–367, 2002.

WANDE, A. N. **Handbook of pharmaceutical excipients**. 2th ed. Washington, DC: American Pharmaceutical Association, 1994.

XAVIER, S. M.; ROCHA, M. R. S.; NAKAMURA, E. K. **Crise convulsiva e o serviço de atendimento móvel de emergência SAMU**. 2006. Disponível em: <<http://www.uniandrade.edu.br>>. Acesso em: 06 nov. 2011.

YEHUDA S.; MOSTOFSKY, D.I. The effects of an essential fatty acid compound and a cholecystinin-8 antagonist on iron deficiency induced anorexia and learning deficits. **Nutr. Neurosci.**, v. 7, p. 85–90, 1997.