



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

**LUIS RAFAEL LEITE SAMPAIO**

**EFEITOS ANTIPSICÓTICOS DA ASSOCIAÇÃO DE CLORPROMAZINA E  
ÁCIDO LIPÓICO EM MODELO DE ESQUIZOFRENIA INDUZIDO POR CETAMINA  
EM RATOS**

FORTALEZA-CE

2016

LUIS RAFAEL LEITE SAMPAIO

**EFEITOS ANTIPSICÓTICOS DA ASSOCIAÇÃO DE CLORPROMAZINA E  
ÁCIDO LIPÓICO EM MODELO DE ESQUIZOFRENIA INDUZIDO POR CETAMINA  
EM RATOS**

Tese apresentada como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Farmacologia da Universidade Federal do Ceará, para obtenção do título de doutor em Farmacologia.

Orientadora: Profa. Dra. Silvânia Maria Mendes de Vasconcelos.

Coorientador: Prof. Dr. Otoni Cardoso do Vale (*in memoriam*).

FORTALEZA-CE

2016

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Federal do Ceará  
Biblioteca Universitária

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

---

- S184e Sampaio, Luis Rafael Leite Sampaio.  
EFEITOS ANTIPSICÓTICOS DA ASSOCIAÇÃO DE CLORPROMAZINA E ÁCIDO  
LIPÓICO EM MODELO DE ESQUIZOFRENIA INDUZIDO POR CETAMINA EM RATOS /  
Luis Rafael Leite Sampaio Sampaio. – 2016.  
127 f. : il. color.
- Tese (doutorado) – Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Medicina, Programa  
de Pós-Graduação em Farmacologia, Fortaleza, 2016.  
Orientação: Prof. Dr. Silvânia Maria Mendes de Vasconcelos.  
Coorientação: Prof. Dr. Otoni Cardoso do Vale.
1. Esquizofrenia. 2. Hipocampo. 3. Estresse Oxidativo. 4. Eletroencefalograma. 5.  
Cetamina. I. Título.

**LUIS RAFAEL LEITE SAMPAIO**

**EFEITOS ANTIPSICÓTICOS DA ASSOCIAÇÃO DE CLORPROMAZINA E  
ÁCIDO LIPÓICO EM MODELO DE ESQUIZOFRENIA INDUZIDO POR CETAMINA  
EM RATOS**

Tese submetida à coordenação do Programa de Pós-Graduação em Farmacologia da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do título de doutor em Farmacologia.

Tese apresentada em 06/05/2016

**BANCA EXAMINADORA**

---

Profa. Dra. Silvânia Maria Mendes Vasconcelos (Orientadora)  
Universidade Federal do Ceará

---

Profa. Dra. Lissiana Magna Vasconcelos Aguiar  
Universidade Federal do Ceará

---

Profa. Dra. Gisela Costa Camarão  
Universidade Federal do Ceará

---

Profa. Dra. Danielle Macêdo Gaspar  
Universidade Federal do Ceará

---

Profa. Dra. Adriana Rolim Campos Barros  
Universidade de Fortaleza

Dedico este trabalho a Deus, pela iluminação necessária para sempre trilhar pelos caminhos do bem, justo e correto.

À minha família, por compreender minha ausência em certos momentos e, especialmente, aos meus pais, por serem o título mais precioso oferecido gratuitamente por Deus para mim.

Ao companheiro Antonio Mendonça, pela convivência e força nos momentos de dificuldades e desânimo.

Ao meu filho Antonio Neto que tanto acreditou na concretude deste trabalho.

## AGRADECIMENTOS

À **Profa. Dra. Silvânia Maria Mendes de Vasconcelos**, minha orientadora, pela qual tenho grande admiração e carinho. Obrigado por ter me oportunizado esse feito essencial em minha vida.

À memória do **Prof. Dr. Otoni Cardoso do Vale**, pela amizade, convivência marcante e sobretudo pelas orientações com a eletrofisiológica.

À **Profa. Dra. Thereza Maria Magalhães Moreira**, pelo apoio, pela confiança, amizade e, principalmente, pelo incentivo para realização deste sonho.

À **Profa. Dra. Márcia Calheiros Chaves Silva** e à **Profa. Dra. Rita Neuma Dantas de Abreu** meu sincero agradecimento, por me terem acolhido no laboratório e pelo período de convivência.

Ao **Prof. Dr. José Eduardo Ribeiro Honório Júnior**, pela gentileza de ter me orientado os primeiros passos com a pesquisa experimental.

À **Profa. Dra. Danielle Macêdo Gaspar**, pelas orientações durante a realização deste trabalho e por gentilmente ter aceitado participar da minha banca examinadora.

À **Profa. Dra. Lissiane Magna Vasconcelos de Aguiar**, por gentilmente ter aceitado participar da minha banca examinadora.

À **Profa. Dra. Gisela Costa Camarão**, por gentilmente ter aceitado participar da minha banca examinadora.

À **Profa. Dra. Adriana Rolim Campos Barros**, por gentilmente ter aceitado participar da minha banca examinadora.

Meus sinceros agradecimentos aos bolsistas de Iniciação pela ajuda nos experimentos e, especialmente ao **Lucas, Helana, Talita, Jamilly e Maurício**, sem eles este trabalho teria sido muito mais árduo.

À **Vilani e a Lena**, pela amizade e por muito colaborarem para organização do laboratório.

Às secretarias do programa, pela ajuda e amizade.

A todos os professores e funcionários do Departamento de Fisiologia e Farmacologia da Universidade Federal do Ceará.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo apoio financeiro para realização deste trabalho.

*“Às vezes, construímos sonhos em cima de grandes pessoas...  
O tempo passa... e descobrimos que grandes mesmo eram os  
sonhos e as pessoas pequenas demais para torná-los reais!”*

*(Bob Marley)*

## RESUMO

A esquizofrenia, síndrome neuropsiquiátrica caracterizada por comprometimento das funções cerebrais, apresenta, além de sintomas comportamentais, alterações eletroencefalográficas, está associada a uma desregulação das respostas imunológicas e componente oxidativo. No entanto, o papel do dano oxidativo nas alterações eletroencefalográficas presentes na esquizofrenia não está completamente esclarecido. Desta maneira, este estudo teve como objetivo avaliar os efeitos antipsicóticos da associação de clorpromazina (CP) e ácido lipóico (ALA), em modelo de esquizofrenia induzido por cetamina (KET), em ratos. Foram utilizados ratos Wistar machos (200-300 g), tratados durante 10 dias e divididos em dois protocolos experimentais. No primeiro, os animais foram divididos em quatro grupos (n = 10) e tratados com solução salina (controle) ou cetamina (10, 50 ou 100 mg/kg). No segundo, os animais foram divididos em nove grupos (n = 10), tratados com solução salina (controle), ácido lipóico (100 mg/kg), cetamina (10 mg/kg), clorpromazina (1 ou 5 mg/kg) sozinha ou associada a cetamina (CP1 ou CP5+KET) ou associada ao ácido lipóico (ALA+CP1 ou CP5+KET). Para o eletroencefalograma (EEG), os animais foram submetidos a uma cirurgia estereotáxica para implantação de um eletrodo no hipocampo direito e tratados durante 10 dias consecutivos. As ondas cerebrais foram capturadas no 1º ou 10º dia para os grupos tratados somente com cetamina sozinha e no 1º, 5º ou 10º dia para os grupos tratados com clorpromazina sozinha ou associada a cetamina com ou sem ácido lipóico. Os testes comportamentais foram realizados no 8º dia (teste de campo aberto e labirinto em Y) e 10º dia de tratamento (inibição pré-pulso – IPP e testes neuroquímicos). Os resultados mostraram que a administração de cetamina (10, 50 ou 100 mg/kg) promoveu mudanças no poder espectral médio hipocampal das bandas delta, teta, alfa, gama low e gama high após tratamento agudo ou repetido. A clorpromazina sozinha ou associada ao ALA reverteu as alterações promovidas por KET10 para as oscilações hipocampais das bandas delta, gama low e gama high. Por outro lado, cetamina induziu hiperlocomoção, alterou a memória de trabalho e aumentou IPP, sendo esses efeitos revertidos pelo pré-tratamento da clorpromazina sozinha ou associação ao ALA. Além disso, administração de cetamina diminuiu GSH, elevou nitrito, a peroxidação lipídica e a concentração da MPO. Esses efeitos de KET foram revertidos pela clorpromazina e potencializados pelo ALA quando associado a CP1. Em conclusão, o tratamento com cetamina em ratos promove mudanças eletroencefalográficas, comportamentais e oxidativas no hipocampo e estas alterações podem estar relacionadas com a hipofunção dos receptores NMDA no sistema glutamatérgico e a clorpromazina sozinha ou associada ao ácido lipóico promove a reversão destes efeitos, mostrando uma atividade benéfica, como neuroprotetores.

**PALAVRAS-CHAVE:** Esquizofrenia; Hipocampo; Estresse Oxidativo; Eletroencefalograma; Cetamina; Clorpromazina; Ácido lipóico.

## ABSTRACT

Schizophrenia, a neuropsychiatric syndrome characterized by brain functions impairment, presents besides the behavioral symptoms, electroencephalographic changes and it is associated with a dysregulation of immune responses and oxidative component. However, the role of the inflammatory and oxidative damage on the electroencephalographic alterations present in schizophrenia was not completely clarified. Thus, this study aimed to investigate the electroencephalographic, behavioural and neurochemical effects in the hippocampus of rats treated with chlorpromazine alone or associated with lipoic acid in the model of schizophrenia induced by ketamine. However, the role of oxidative damage in electroencephalographic changes present in schizophrenia is not fully understood. As a result, this study aimed to evaluate the effects of the antipsychotics association of chlorpromazine (CP) and lipoic acid (ALA) in the schizophrenia model induced by ketamine (KET) in rats. Wistar male rats (200-300 g) were tested. They were treated for 10 days and divided into two experimental protocols: At first the animals were divided into 4 groups (n = 10) and treated with saline (control) or ketamine (10, 50, or 100 mg/kg). In the second, the animals were divided into 9 groups (n = 10) treated with saline (control), lipoic acid (100mg/kg), ketamine (10mg/kg) and chlorpromazine (1 or 5 mg/kg) alone or and ketamine (CP1 and CP5+KET) or associated with lipoic acid (ALA+CP1 and CP5+KET). For the electroencephalogram (EEG), the animals underwent a stereotactic surgery for the implantation of an electrode in the right hippocampus and were treated for 10 consecutive days. The brain waves were captured at 1 or 10 days for the groups treated only with Ketamine alone and on the 1st, 5th or 10th day to the groups treated with chlorpromazine alone or in combination with ketamine with or without lipoic acid. Tests were performed on 8 day (open field test and in the Y maze) and 10 day treatment (prepulse inhibition - IPP and neurochemical tests). Our results showed that administration of ketamine (10, 50 or 100 mg/kg) induced changes in the average spectral power of hippocampal delta, theta, alpha, gamma low and gamma high bands after acute or repeated treatment. The chlorpromazine alone or associated with ALA reversed the changes promoted by KET10 for hippocampal oscillations of the delta, gamma low and gamma high bands. Moreover, ketamine induced hyper locomotion changed the working memory and increased IPP, and these effects reversed by pretreatment of chlorpromazine alone or association with ALA. Moreover, ketamine administration decreased GSH, increased nitrite, lipid peroxidation and the concentration of MPO. These effects by KET were reversed chlorpromazine and enhanced by the ALA when associated with CP1. In conclusion, treatment with ketamine in mice promotes behavioral, neurochemical, and electroencephalographic changes in the hippocampus and these changes may be related with the hypofunction of NMDA receptors in the glutamatergic system and chlorpromazine alone or associated with lipoic acid promotes the reversal of these effects, showing a beneficial activity as neuroprotective.

**KEYWORDS:** Schizophrenia; Hippocampus; Oxidative stress; Electroencephalogram; Ketamine; Chlorpromazine; Lipoic acid.

## LISTA DE FIGURAS

|    |  |    |
|----|--|----|
| 1  | Vias Centrais da Dopamina.....   | 20 |
| 2  | Funções das Vias Centrais da Dopamina.....   | 22 |
| 3  | Representação hipotética associando a hipofunção cortical (redução da atividade de receptores NMDA) e os sintomas da esquizofrenia...  | 24 |
| 4  | Estrutura química do ácido $\alpha$ -lipóico.....  | 36 |
| 5  | Representação esquemática do desenho experimental.....   | 41 |
| 6  | Representação esquemática do desenho experimental.....   | 42 |
| 7  | Representação esquemática do desenho experimental.....   | 44 |
| 8  | Poder espectral médio da banda delta no hipocampo de ratos em tratamento agudo (A) ou tratamento em doses repetidas por 10 dias (B) de cetamina (10, 50 ou 100 mg/kg).....   | 51 |
| 9  | Poder espectral médio da banda teta no hipocampo de ratos em tratamento agudo (A) ou tratamento em doses repetidas por 10 dias (B) de cetamina (10, 50 ou 100 mg/kg).....  | 53 |
| 10 | Poder espectral médio da banda alfa no hipocampo de ratos em tratamento agudo (A) ou tratamento em doses repetidas por 10 dias (B) de cetamina (10, 50 ou 100 mg/kg).....  | 55 |
| 11 | Poder espectral médio da banda gama low no hipocampo de ratos em tratamento agudo (A) ou tratamento em doses repetidas por 10 dias (B) de cetamina (10, 50 ou 100 mg/kg).....  | 57 |
| 12 | Poder espectral médio da banda gama high no hipocampo de ratos em tratamento agudo (A) ou tratamento em doses repetidas por 10 dias (B) de cetamina (10, 50 ou 100 mg/kg).....   | 59 |
| 13 | Poder espectral médio da banda delta no hipocampo de ratos em tratamento agudo (A) ou tratamento em doses repetidas por 5 dias (B) ou tratamento em doses repetidas por 10 dias (C) com solução salina (controle) ou ácido lipóico (100 mg/kg) ou cetamina (10 mg/kg) ou clorpromazina (1 ou 5 mg/kg) sozinho ou associado com cetamina com ou sem ácido lipóico.....    | 61 |
| 14 | Poder espectral médio da banda teta no hipocampo de ratos em tratamento agudo (A) ou tratamento em doses repetidas por 5 dias (B) ou tratamento em doses repetidas por 10 dias (C) com solução salina (controle) ou ácido lipóico (100 mg/kg) ou cetamina (10 mg/kg) ou clorpromazina (1 ou 5 mg/kg) sozinho ou associado com cetamina com ou sem ácido lipóico.....     | 65 |
| 15 | Poder espectral médio da banda gama low no hipocampo de ratos em tratamento agudo (A) ou tratamento em doses repetidas por 5 dias (B) ou tratamento em doses repetidas por 10 dias (C) com solução salina (controle) ou ácido lipóico (100 mg/kg) ou cetamina (10 mg/kg) ou clorpromazina (1 ou 5 mg/kg) sozinho ou associado com cetamina com ou sem ácido lipóico..... | 69 |
| 16 | Poder espectral médio da banda gama high no hipocampo de ratos em tratamento agudo (A) ou tratamento em doses repetidas por 5 dias (B) ou tratamento em doses repetidas por 10 dias (C) com  |    |

|    |  |    |
|----|--|----|
|    | solução salina (controle) ou ácido lipóico (100 mg/kg) ou cetamina (10 mg/kg) ou clorpromazina (1 ou 5 mg/kg) sozinho ou associado com cetamina com ou sem ácido lipóico. ....   | 73 |
| 17 | Efeitos na atividade locomotora pela clorpromazina (1 ou 5 mg/kg) e ácido lipóico (100 mg/kg), sozinhos ou associados ao modelo de esquizofrenia induzido pela cetamina (10 mg/kg).....  | 77 |
| 18 | Efeitos na porcentagem de acertos pela clorpromazina (1 ou 5 mg/kg) e ácido lipóico (100 mg/kg), sozinhos ou associados ao modelo de esquizofrenia induzido pela cetamina (10 mg/kg).....  | 79 |
| 19 | Efeitos na porcentagem de inibição pré-pulso (IPP) no PP70, PP75 ou PP80 pela clorpromazina (1 ou 5 mg/kg) e ácido lipóico (100 mg/kg), sozinhos ou associados ao modelo de esquizofrenia induzido pela cetamina (10 mg/kg)..... | 81 |
| 20 | Efeitos na concentração da glutatona reduzida hipocampal pela clorpromazina (1 ou 5 mg/kg) e ácido lipóico (100 mg/kg), sozinhos ou associados ao modelo de esquizofrenia induzido pela cetamina (10 mg/kg).....                 | 83 |
| 21 | Efeitos na concentração do nitrito hipocampal pela clorpromazina (1 ou 5 mg/kg) e ácido lipóico (100 mg/kg), sozinhos ou associados ao modelo de esquizofrenia induzido pela cetamina (10 mg/kg).....                            | 85 |
| 22 | Efeitos na concentração do malonildialdeido hipocampal pela clorpromazina (1 ou 5 mg/kg) e ácido lipóico (100 mg/kg), sozinhos ou associados ao modelo de esquizofrenia induzido pela cetamina (10 mg/kg).....                   | 87 |
| 23 | Efeitos na concentração da MPO hipocampal pela clorpromazina (1 ou 5 mg/kg) e ácido lipóico (100 mg/kg), sozinhos ou associados ao modelo de esquizofrenia induzido pela cetamina (10 mg/kg).....                                | 89 |

## LISTA DE QUADRO

|   |   |    |
|---|---|----|
| 1 | Distribuição e neurofisiologia das bandas de frequência. Fortaleza-Ceará, 2016..... | 34 |
|---|---|----|

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ALA – ácido lipóico  
ALE – atividade locomotora  
CMC - carboximetil celulose  
Control - controle  
CP – clorpromazina  
DSM – *diagnostic and statistical manual of mental disorders*  
DTNB - reagente de Ellman  
EEG – eletro encefalograma  
EROs - espécies reativas de oxigênio  
ERNs - espécies reativas de nitrogênio  
GABA - ácido gama-amino-butírico  
GSH - glutathiona reduzida  
GPX - glutathiona peroxidase  
GSSG - glutathiona oxidada  
H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> – peróxido de hidrogênio  
IFN  $\gamma$  - interferon gama  
IL - interleucina  
IPP - inibição Pré-pulso  
KET - cetamina  
MDA – malonildialdeido  
MPO - mieloperoxidase  
NMDA - N-metil-D-aspartato  
NO – óxido nítrico  
NOS - óxido nítrico sintetase  
NO<sup>-2</sup> - nitrito  
NO<sup>-3</sup> – nitrato  
O<sub>2</sub>• - radical superóxido  
OH • - radical hidroxila  
ONOO• - peroxinitrito  
P - pulso sozinho  
PP - pré-pulso + pulso  
SNC - sistema nervoso central

SOD – superóxido dismutase

TBARS – substancias reativas ao ácido tiobarbitúrico

TNF $\alpha$  - fator de necrose tumoral alfa

## SUMÁRIO

|            |   |           |
|------------|---|-----------|
| <b>1</b>   | <b>INTRODUÇÃO.....</b>  | <b>18</b> |
| <b>1.1</b> | <b>Esquizofrenia.....</b>   | <b>18</b> |
| 1.1.1      | Sinais Clínicos da Esquizofrenia e Alterações nos Neurotransmissores..  | 19        |
| <b>1.2</b> | <b>Fisiopatologia da Esquizofrenia.....</b>   | <b>25</b> |
| <b>1.3</b> | <b>Tratamento da Esquizofrenia.....</b>   | <b>28</b> |
| <b>1.4</b> | <b>Modelo de Esquizofrenia Induzido pela Cetamina.....</b>  | <b>29</b> |
| <b>1.5</b> | <b>Estudos Comportamentais e a Esquizofrenia.....</b>   | <b>31</b> |
| <b>1.6</b> | <b>O Eletroencefalograma na Esquizofrenia.....</b>  | <b>33</b> |
| <b>1.7</b> | <b>Ácido Lipóico e a Esquizofrenia.....</b>   | <b>35</b> |
| <b>2</b>   | <b>RELEVÂNCIA E JUSTIFICATIVA.....</b>  | <b>37</b> |
| <b>3</b>   | <b>OBJETIVOS.....</b>   | <b>38</b> |
| <b>3.1</b> | <b>Geral.....</b>   | <b>38</b> |
| <b>3.2</b> | <b>Específicos.....</b>   | <b>38</b> |
| <b>4</b>   | <b>METODOLOGIA.....</b>   | <b>39</b> |
| <b>4.1</b> | <b>Animais.....</b>   | <b>39</b> |
| <b>4.2</b> | <b>Drogas e tratamento.....</b>   | <b>39</b> |
| <b>4.3</b> | <b>Estudo Eletroencefalográfico.....</b>  | <b>47</b> |
| 4.3.1      | Cirurgia Estereotáxica e Implantação dos Eletrodos.....   | 47        |
| 4.3.2      | Procedimentos para os ratos em tratamento com cetamina (10, 50 ou 100 mg/kg).....   | 47        |
| 4.3.3      | Procedimentos para os ratos em tratamento com clorpromazina sozinha ou associada ao ácido lipóico no modelo de esquizofrenia pela cetamina..... | 48        |
| 4.3.4      | Registros do Eletroencefalograma.....   | 49        |
| <b>4.4</b> | <b>Procedimentos para os Testes Comportamentais e Neuroquímicos..</b>   | <b>43</b> |
| <b>4.5</b> | <b>Estudo Comportamental.....</b>   | <b>44</b> |
| 4.5.1      | Teste de campo aberto.....  | 44        |
| 4.5.2      | Teste do Labirinto em Y.....  | 45        |
| 4.5.3      | Inibição Pré-pulso.....   | 45        |
| <b>4.6</b> | <b>Estudo Neuroquímico.....</b>   | <b>47</b> |
| 4.6.1      | Glutathiona Reduzida (GSH).....   | 47        |
| 4.6.2      | Determinação da Concentração de Nitrito.....  | 47        |

|            |   |            |
|------------|---|------------|
| 4.6.3      | Mensuração da Peroxidação Lipídica.....   | 48         |
| 4.6.4      | Mensuração da Atividade da Mieloperoxidase (MPO).....   | 48         |
| <b>4.7</b> | <b>Análise Estatística.....</b>   | <b>48</b>  |
| <b>5</b>   | <b>RESULTADOS.....</b>  | <b>50</b>  |
| <b>5.1</b> | <b>Análise Eletroencefalográfica.....</b>   | <b>50</b>  |
| 5.1.1      | Alterações no poder espectral médio hipocampal pela cetamina.....   | 50         |
| 5.1.2      | Alterações no poder espectral médio hipocampal pela clorpomazina no modelo de esquizofrenia induzido pela cetamina..... | 60         |
| <b>5.2</b> | <b>Testes Comportamentais.....</b>  | <b>76</b>  |
| 5.2.1      | Atividade Locomotora.....   | 76         |
| 5.2.2      | Y-maze.....   | 78         |
| 5.2.3      | Inibição Pré-Pulso (IPP).....   | 80         |
| <b>5.3</b> | <b>Testes Neuroquímicos.....</b>  | <b>82</b>  |
| 5.3.1      | Determinação da Glutathiona Reduzida (GSH).....   | 82         |
| 5.3.2      | Determinação do Nitrito.....  | 84         |
| 5.3.3      | Determinação do TBARS.....  | 86         |
| 5.3.4      | Determinação do MPO.....  | 88         |
| <b>6</b>   | <b>DISCUSSÃO.....</b>   | <b>90</b>  |
| <b>7</b>   | <b>CONCLUSÃO.....</b>   | <b>106</b> |
|            | <b>REFERÊNCIAS.....</b>   | <b>107</b> |
|            | <b>APÊNDICE.....</b>  | <b>128</b> |

## 1 INTRODUÇÃO

### 1.1 Esquizofrenia

A esquizofrenia é um transtorno mental crônico, grave e incapacitante que afeta cerca de 1% da população mundial (WHO, 2015; MCGRATH et al., 2008), isto é, aproximadamente 24 milhões de pessoas em todo o mundo, principalmente na faixa etária dos 15-35 anos (WHO, 2010). Segundo a WHO (2009), a prevalência ocorre em partes iguais entre homens e mulheres, embora as mulheres com esquizofrenia possam ter melhor curso da doença do que os homens (VASKINN et al., 2015).

O termo esquizofrenia foi utilizado inicialmente pelo psiquiatra suíço, Eugen Bleuler, em 1911, aplicando-o a pacientes que apresentavam desconexão entre os processos de pensamentos e as respostas emotivas. Este veio substituir o termo de “Demência Precoce”, definido anteriormente por Kraepelin, para um quadro com psicoses associadas com perda das capacidades previamente adquiridas, ocorrendo geralmente em adultos jovens (precocemente) (VALLS, 2010).

As dificuldades metodológicas inerentes aos estudos neuropatológicos, os achados inconsistentes e o advento dos antipsicóticos, na década de 1950, fizeram com que as pesquisas passassem a focar os neurotransmissores como elementos centrais na gênese da esquizofrenia (ARARIPE NETO; BRESSAN; BUSATTO FILHO, 2007). Em 1952, os pesquisadores franceses Jean Delay e Pierre G. obtiveram resultado satisfatório com o tratamento de doenças mentais com uma substância chamada a clorpromazina, testada anteriormente por Henri-Marie Laborit, produzindo uma hibernação. A ação psicofarmacológica que reduzia a agitação motora, a atividade alucinatória e delirante, chamada de neurolepsia, inaugurou uma nova fase da psiquiatria (COSTA et al., 2015).

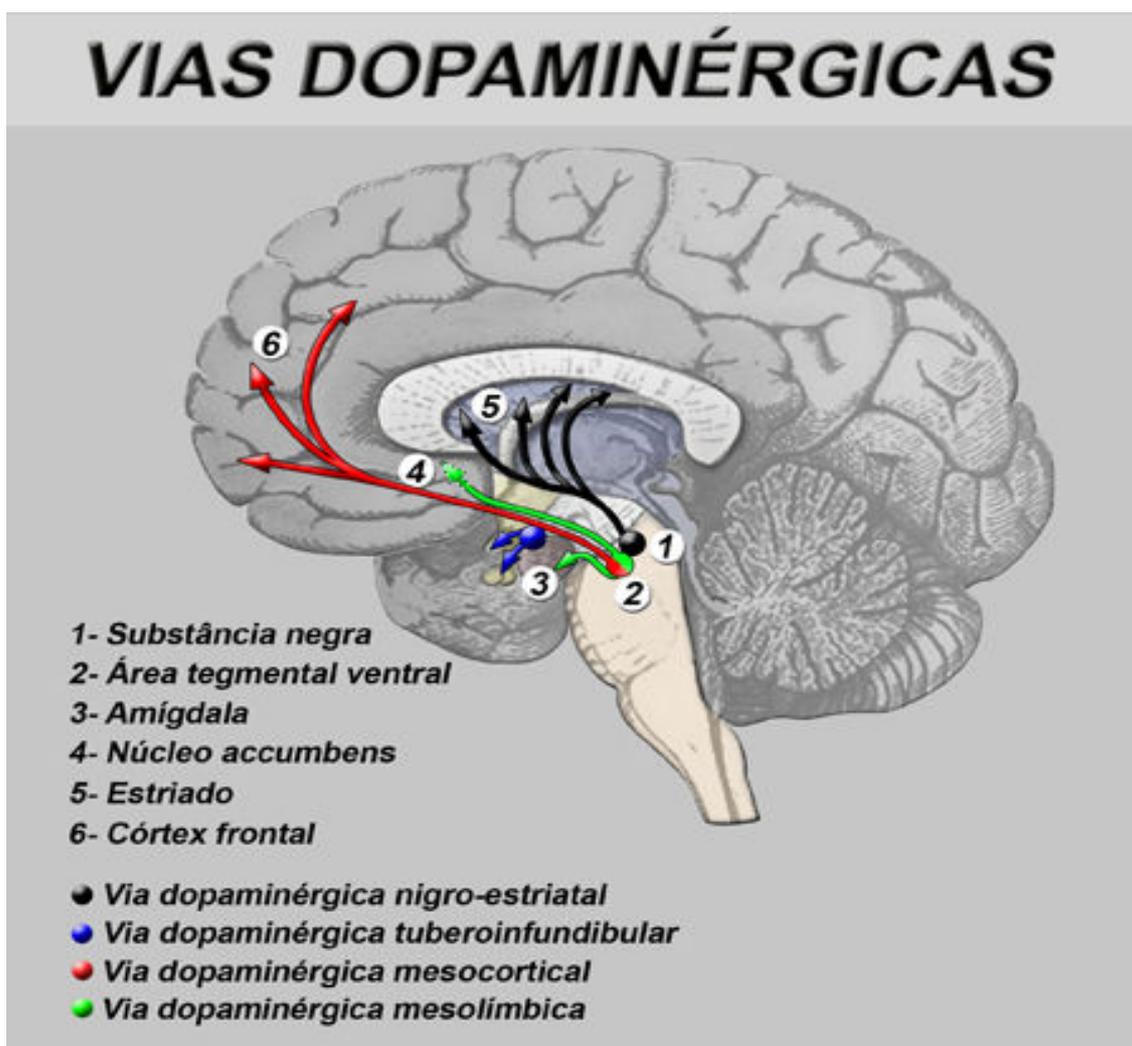
Entre as décadas de 1970 e 1990, houve grande desenvolvimento dos grupos de pesquisa em esquizofrenia, cujo enfoque era a investigação genética. Na década de 1990, os estudos focaram no primeiro episódio psicótico e em anos posteriores, o desafio foi compreender os pacientes de alto risco para o desenvolvimento da esquizofrenia (ARARIPE NETO; BRESSAN; BUSATTO FILHO, 2007). Recentemente, a visão investigativa foi ampliada para além das alterações relacionadas aos neurotransmissores e pesquisadores vêm desenvolvendo estudos

acerca do dano inflamatório (MILLER et al., 2013), oxidativo (VASCONCELOS et al., 2015; KOGA et al., 2015; MONTE et al., 2013) e da fisiopatologia da esquizofrenia (OWEN; SAWA; MORTENSEN, 2016).

### 1.1.1 Sinais Clínicos da Esquizofrenia e Alterações nos Neurotransmissores

A esquizofrenia é caracterizada por delírios, alucinações, discurso e comportamento desorganizado, e outros sintomas que causam disfunção social ou ocupacional. Para um diagnóstico, conforme critérios do DSM 5, dois dos sintomas acima especificados devem ter estado presentes durante seis meses e incluem pelo menos um mês de persistência dos sintomas. Além disso, os critérios de diagnóstico não identificam mais subtipos para esquizofrenia (AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION, 2013).

Seu quadro clínico é classificado por sintomas positivos (psicose, alucinações), sintomas negativos (retraimento social, anedonia) e disfunção cognitiva (caracterizados por déficit de atenção, aprendizagem, memória, entre outros) (BALU; COYLE, 2011). Há hipóteses de que os sintomas positivos surgem de um estado hiperdopaminérgico no circuito dopaminérgico mesolímbico (LINDENMAYER et al., 2013; ZIERHUT et al., 2010). Enquanto que os sintomas negativos e a disfunção cognitiva estão relacionados a uma hipoatividade dopaminérgica nas projeções do córtex pré-frontal (LINDENMAYER et al., 2013; BENCHERIF et al., 2012; MENEGATTI et al., 2004) (fig. 1).



**Figura 1:** Vias Centrais da Dopamina

Fonte: <http://www.inec-usp.org/cursos/cursoV/neurotransmissao.htm>.

A dopamina é uma catecolamina que exerce importantes funções no sistema nervoso (LINDENMAYER et al., 2013; BENCHERIF et al., 2012; SILVA, 2006). É encontrada no corpo estriado, no sistema límbico e hipotálamo, sintetizada por neurônios, cujos corpos localizam-se no tronco cerebral e se projetam por diferentes vias (mesolímbica, mesocortical, nigroestriatal, sistema tubero infundibular, medular-periventricular e incerto-hipotalâmica), sendo que as duas primeiras vias estão alteradas na esquizofrenia e as três últimas encontram-se normais. As vias da dopamina envolvidas com esquizofrenia e alguns dos efeitos inesperados dos antipsicóticos encontram-se ilustradas na figura 1, enquanto que as funções destas vias encontram-se descritas na figura 2 (MOREIRA; GUIMARÃES, 2007).

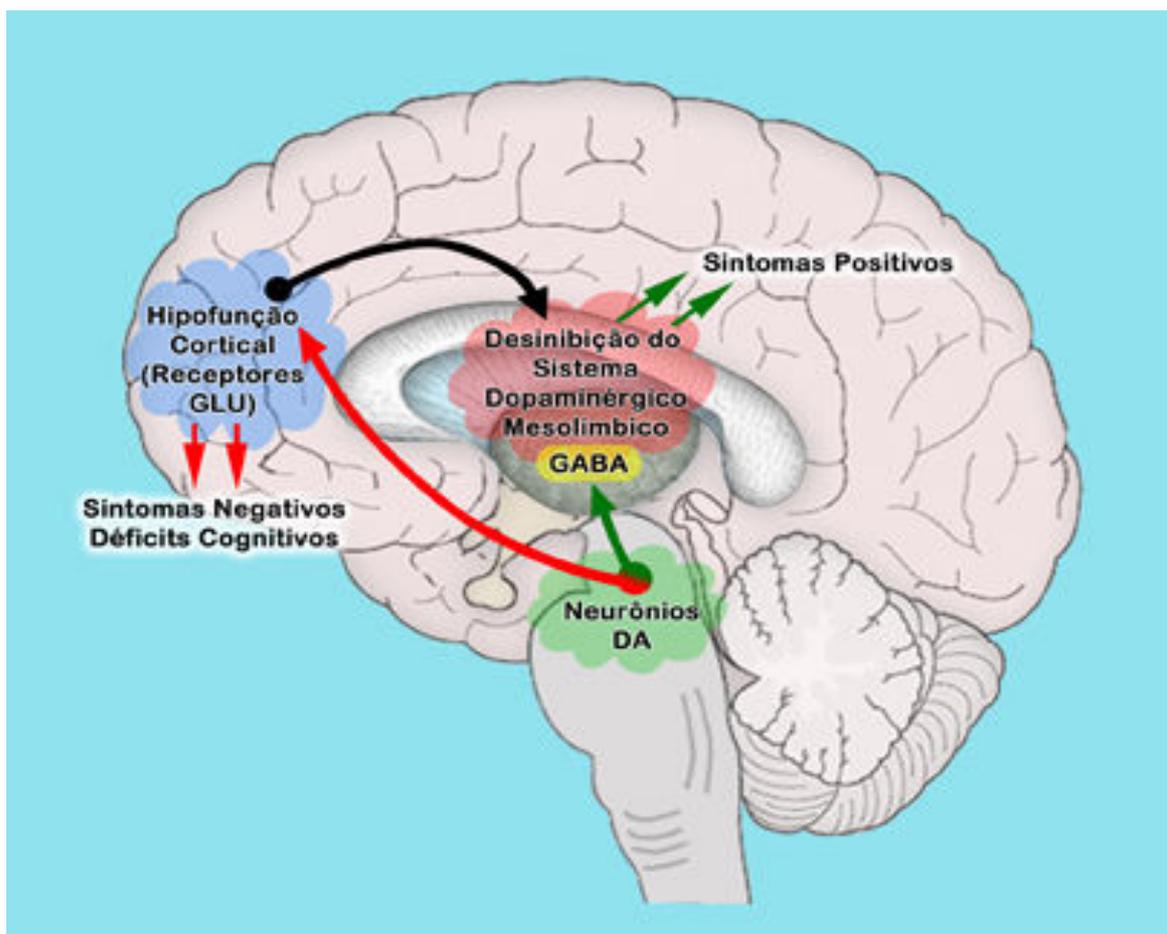
**Figura 2:** Funções das Vias Centrais da Dopamina

| VIAS                         | FUNÇÕES   |
|------------------------------|---|
| <b>Mesolímbica</b>           | Relacionada a comportamentos e emoções. Sua hiperatividade relaciona-se aos sintomas psicóticos positivos (BALU; COYLE, 2011).  |
| <b>Mesocortical</b>          | O bloqueio relaciona-se à piora dos sintomas negativos (LINDENMAYER et al., 2013).  |
| <b>Nigroestriada</b>         | Coordenação de movimentos voluntários. Seu bloqueio está associado a distúrbios motores, como acatisia, distonia, tremores, rigidez e acinesia/bradicinesia e em longo prazo pode levar a discinesia tardia (MOREIRA; GUIMARÃES, 2007). |
| <b>Tuberoinfundibular</b>    | Relacionada à inibição da secreção de prolactina. Seu bloqueio associa-se ao aumento dos níveis desse hormônio (SILVA, 2006).   |
| <b>Meduloperiventricular</b> | Relaciona-se com o comportamento alimentar (SILVA, 2006).   |

Outro neurotransmissor amplamente estudado para o entendimento do quadro clínico da esquizofrenia é o glutamato, aminoácido neurotransmissor mais abundante no cérebro de mamíferos. Seu papel crucial é mediar a transmissão sináptica excitatória por todo o cérebro e na medula espinal (LIN; LANE; TSAI, 2011).

Dentre os receptores do glutamato, o subtipo NMDA tem sido um dos mais estudados e relevantes para entender a fisiopatologia da esquizofrenia (OHNUMA; ARAI, 2011). A teoria da hipofunção dos receptores NMDA é fundamentada pela evidência de que antagonistas dos receptores NMDA, como a PCP (fenilciclidina) e a cetamina, dentre outros, induzem mudanças comportamentais, como disfunção cognitiva e psicose que se assemelham a esquizofrenia (LIN; LANE; TSAI, 2011; ARRUDA et al., 2008). Estas respostas são documentadas pela literatura com doses não anestésicas de cetamina [10 mg/kg (ARRUDA et al., 2008); 20 mg/kg (VASCONCELOS et al., 2015; MONTE et al., 2013); 25, 50 ou 75 mg/kg (CAIXETA et al., 2013), e 100 mg/kg (MOGHADDAM et al., 2014)]. Assim, a cetamina é amplamente utilizada para indução do modelo de esquizofrenia-símile em roedores (VASCONCELOS et al., 2015; MONTE et al., 2013; MOGHADDAM et al., 2014; CHATTERJEE et al., 2011; ARRUDA et al., 2008).

Vale acrescentar que a hipofunção cortical glutamatérgica (associada aos sintomas negativos e déficits cognitivos) repercute sobre o trato mesolímbico dopaminérgico (originários da área tegmental ventral do mesencéfalo e com projeções para regiões límbicas), determinando a desinibição do sistema mesolímbico e o consequente aparecimento dos sintomas positivos (fig. 3) (GUIZZO, 2009; DAVIS et al., 1991). Em conjunto, estes dados são consistentes com o modelo de indução da esquizofrenia pela cetamina, em que a hipoatividade glutamatérgica/NMDA impulsiona a hiperfunção da dopamina, podendo, desta forma, ser a base dos prejuízos fisiopatológicos característicos da esquizofrenia.



**Figura 3:** Representação hipotética associando a hipofunção cortical (redução da atividade de receptores NMDA) e os sintomas da esquizofrenia.

Fonte: <http://www.inec-usp.org/cursos/cursoV/neurotransmissao.htm>.

## 1.2 Fisiopatologia da Esquizofrenia

A compreensão da fisiopatologia da esquizofrenia avançou além da visão relacionada às alterações nos neurotransmissores, visto que outras rotas etiológicas vêm sendo estudadas atualmente como o dano inflamatório (OWEN; SAWA; MORTENSEN, 2016; MILLER et al., 2013), oxidativo (OWEN; SAWA; MORTENSEN, 2016; KOGA et al., 2015; MACÊDO et al., 2012), dentre outros.

Dessa forma, a contribuição da inflamação crônica na etiologia das principais doenças mentais tem recebido maior atenção na última década (FOND et al., 2014). Estudos anteriores demonstraram que a esquizofrenia está associada com uma desregulação de respostas imunes (MILLER et al., 2013; DREXHAGE et al., 2011; POTVIN et al., 2008) e o componente oxidativo (KOGA et al., 2015; MACÊDO et al., 2012). Além disso, alguns medicamentos anti-inflamatórios demonstraram eficácia no tratamento da esquizofrenia (KOGA et al., 2015; MACÊDO et al., 2012).

A influência da desregulação do sistema imunitário na fisiopatologia da esquizofrenia é cada vez mais reconhecida. Neste contexto, marcadores pró-inflamatórios, anti-inflamatórios e imunossupressores têm sido amplamente reconhecidos na esquizofrenia, com evidências de que pacientes esquizofrênicos podem possuir hiperatividade do sistema pró-inflamatório (KIM et al., 2009), como evidenciado pelo aumento dos níveis de TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-1 $\beta$  e IL-1 no soro desses indivíduos (LIU et al., 2010; WATANABE; SOMEYA; NAWA, 2010; KIM et al., 2009; O'BRIEN; SCULLY; DINAN, 2008); e que pacientes esquizofrênicos, durante episódios agudos, apresentam níveis reduzidos de IL-4 (uma citocina anti-inflamatória) (O'BRIEN; SCULLY; DINAN, 2008).

Níveis elevados de IL-6 podem desempenhar o papel de comprometimento cognitivo e servir como potencial biomarcador inflamatório da deterioração na esquizofrenia (FRYDECKA et al., 2014; STOJANOVIC et al., 2014). Embora mais estudos para investigar o papel exato de diferentes citocinas na fisiopatologia da esquizofrenia sejam necessários, esses mediadores surgem como alvos moleculares promissores para prevenção e tratamento.

Por outro lado, estudos mostram também que o estresse oxidativo tem papel importante na fisiopatologia da esquizofrenia (PADURARIU et al., 2010) e de outras alterações mentais, uma vez que o cérebro é particularmente vulnerável ao dano oxidativo, devido à alta utilização de oxigênio, seu alto teor de ácidos graxos

oxidáveis polinsaturados e presença de metais redox-ativos ( $\text{Cu}^{+2}$  e  $\text{Fe}^{+2}$ ) (DO et al., 2009).

O estresse oxidativo e nitrosativo são resultado de um desequilíbrio entre o excesso de produção de espécies reativas de oxigênio e espécies reativas de nitrogênio (ERNs) de um lado e a deficiência de antioxidantes enzimáticos e não-enzimática do outro lado (BERK et al., 2008; VALKO et al., 2007). Conduzindo a oxidação de lipídios, proteínas e DNA (VALKO et al., 2007) e o resultado desse processo encontra-se no dano oxidativo celular e sequelas relacionadas que variam de disfunção celular à morte celular (BERK et al., 2008).

As ROS mais importantes nos seres humanos são o peróxido de hidrogênio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), radical superóxido ( $\text{O}_2^{\bullet -}$ ), radicais hidroxila ( $\text{OH}^{\bullet}$ ). As espécies reativas de nitrogênio incluem o óxido nítrico (NO) e peroxinitrito ( $\text{ONOO}^{\bullet}$ ) (NORDBERG; ARNER, 2001; DO et al., 2009). Existem vários mecanismos celulares de defesa antioxidante existentes para compensar a produção de EROs e ERNs, incluindo vias enzimáticas e não enzimáticas (NORDBERG; ARNER, 2001). Sendo as vias enzimas compostas por superóxido dismutase, glutathione peroxidase, catalase e os antioxidantes não enzimáticas que incluem GSH, ácido ascórbico (vitamina C),  $\alpha$ -tocoferol (vitamina E), carotenóides e flavonóides (DO et al., 2009).

Como a medição direta da concentração de radicais livres não é viável por causa da meia-vida curta e em baixas concentrações, o estresse oxidativo é avaliado por meio de ensaios de metabólitos reativos (por exemplo, metabólitos do óxido nítrico), enzimas antioxidantes (por exemplo, superóxido dismutase, catalase e glutathione peroxidase), antioxidantes (por exemplo, GSH, vitaminas C e E, albumina, bilirrubina) e produtos de oxidação (produtos da peroxidação lipídica, por exemplo) (BERK et al., 2008).

Evidências apontam para uma desregulação do metabolismo dos radicais livres na esquizofrenia, detectado pela atividade anormal de enzimas com atividade antioxidante (SOD, glutathione peroxidase e redutase e catalase). Estas alterações estão sendo associadas a certos sintomas clínicos do transtorno, bem como a redução da eficácia da terapêutica utilizada. Por exemplo, os sintomas positivos estão mais correlacionados à atividade da SOD, visto que baixa atividade da SOD foi vista nos eritrócitos de pacientes não tratados, mas o tratamento com haloperidol aumentou significativamente a atividade desta enzima (FENDRI et al., 2006).

A hipótese dopaminérgica da esquizofrenia clássica postula uma hiperatividade da transmissão dopaminérgica no receptor D2. É de interesse que o metabolismo enzimático da dopamina acarrete a geração de peróxido de hidrogênio, que, através da auto-oxidação da dopamina, resulta na produção de EROs, como dopamina quinonas e superóxido (BITANHIRWE; WOO, 2011; FLECKENSTEIN et al., 2007). Estes EROs podem interagir com superóxido dismutase e glutathione, gerando redução nos níveis dos antioxidantes disponíveis (BITANHIRWE; WOO, 2011).

Já a hipótese glutamatérgica da esquizofrenia refere-se a uma hipofunção dos receptores NMDA. Este defeito no receptor NMDA pode estar relacionado ao estado redox de pacientes com esquizofrenia (BITANHIRWE; WOO, 2011). Estudos mostraram que doses subanestésicas da cetamina induziram estresse oxidativo e alterações nas defesas antioxidantes cerebrais (SILVA et al., 2010; OLIVEIRA et al., 2009).

De forma inesperada, o efeito exato induzido por diferentes antipsicóticos típicos ou atípicos nas enzimas antioxidantes superóxido desmutase (SOD) e Glutathione peroxidase (GPX) e a concentração de peroxidação lipídica ainda não está bem elucidado (ZHANG et al., 2006). Estudo com pacientes esquizofrênicos e indivíduos saudáveis mostrou que os antipsicóticos, incluindo clorpromazina, haloperidol, risperidona e clozapina, não alteraram significativamente o nível sérico de TBARS após quatro semanas de tratamento (HUANG; LIOU; LIN, 2010).

Entretanto, outra investigação com pacientes esquizofrênicos antes e após o tratamento com risperidona, olanzapina e flupenthixol por três meses, em comparação aos controles saudáveis, apresentaram significativamente concentrações mais elevadas de neopterina, nitritos e concentrações significativamente mais baixas de antioxidantes antes do tratamento. Após o tratamento com antipsicóticos, houve diminuição significativa nos níveis de neopterina e aumento significativo dos níveis de antioxidantes. Observando-se, então, aumento do estresse oxidativo em esquizofrenia, que melhora com antipsicóticos, sendo que o mecanismo pelo qual os antipsicóticos pode diminuir o estresse oxidativo, podendo envolver modulação de regulação molecular na expressão de enzimas antioxidantes (CHITTIPROL et al., 2010).

Neste contexto, o uso do modelo farmacológico da esquizofrenia induzido pela cetamina torna-se relevante para o entendimento do mecanismo de ação dos

antipsicóticos típicos, bem como elucidar a participação do estresse oxidativo na fisiopatologia da esquizofrenia.

### **1.3 Tratamento da Esquizofrenia**

O tratamento da esquizofrenia implica múltiplas abordagens, incluindo medicamentos e intervenções psicossociais. Os objetivos gerais do tratamento são reduzir a mortalidade e morbidade da doença, diminuindo a frequência e severidade dos episódios de exacerbação psicótica; e melhorar a capacidade funcional e a qualidade de vida dos indivíduos afetados pela doença (TANDON; NASRALLAH; KESHAVAN, 2010).

Os medicamentos antipsicóticos são a primeira linha farmacoterapêutica para o tratamento da esquizofrenia (MOLTENI et al., 2009). Esses medicamentos são importantes para o tratamento desta enfermidade, podendo não apenas interferir nas manifestações aguda da doença, como também na normalização das funções do cérebro, através de mecanismos complexos que levarão o paciente à estabilização (MOLTENI et al., 2009).

Esses fármacos são classificados em antipsicóticos típicos ou de primeira geração e antipsicóticos atípicos ou de segunda geração (KEEFE et al., 2007). Os antipsicóticos de primeira geração são classificados em fenotiazinas (como exemplo clorpromazina), butirofenonas, difenilbutilpiperidinas, tioxantenos e benzamidas substituídas. Já os antipsicóticos de segunda geração incluem amisulprida, clozapina, aripirazol, olanzapina, risperidona, quetiapina, ziprasidona, sertindol e zotepina (BRUNTON; CHABNER; KNOLLMAN, 2012).

Os antipsicóticos típicos e atípicos parecem ser eficazes para o tratamento dos sintomas positivos, via inibição do sistema mesolímbico dopaminérgico. Esses fármacos são diferentes no que dizem respeito à ocorrência de efeitos colaterais neurológicos. Entretanto, os atípicos parecem ser mais eficazes nos sintomas negativos e déficits cognitivos (KEEFE et al., 2007).

A clorpromazina é uma fenotiazina alifática, é um dos fármacos antipsicóticos típicos amplamente utilizados. A clorpromazina é de confiança pela sua eficácia e um dos fármacos antipsicóticos de primeira geração mais testados. Ela tem sido usada como padrão ouro para comparar a eficácia de drogas antipsicóticas novas e antigas (SAHA et al., 2016). Segundo Saha et al. (2016), a clorpromazina é

amplamente disponível, compatível com novos antipsicóticos e relativamente barata. Apesar de sua propensão para causar efeitos secundários, é provável que se mantenha um dos antipsicóticos de referência.

À semelhança de outros antipsicóticos típicos, clorpromazina bloqueia seletivamente neurônios dopaminérgicos pós-sinápticos (PEUSKENS et al., 2014), que parece estar relacionada com a ocorrência de efeitos secundários neurológicos, incluindo anormalidades eletroencefalográficas (MOMCILOVIĆ-KOSTADINOVIĆ et al., 2013; ERBAS; YILMAZ, 2013; FINK, 2010), como a evolução de uma atividade epilética (MOMCILOVIĆ-KOSTADINOVIĆ et al., 2013).

Além disso, clorpromazina induz estresse oxidativo, ativando várias espécies reativas que acarretam danos ao tecido (DEJANOVIC et al., 2016). Estudo de Pillai et al. (2007) relatou que 180 dias de tratamento com clorpromazina em animais causou lesão celular neural e estresse oxidativo aumentado, como elevação na concentração da peroxidação lipídica, diminuição das enzimas antioxidantes manganês superóxido dismutase (MnSOD), cobre-zinco superóxido dismutase (CuZnSOD) e catalase no cérebro de rato tratado com este antipsicótico por longo prazo.

Portanto, pelos antipsicóticos típicos serem ainda amplamente utilizados em países em desenvolvimento, trabalhos envolvendo estes medicamentos podem ser muito úteis no planejamento do uso destes fármacos no tratamento da esquizofrenia e pela possibilidade de estudo da melhora da resposta terapêutica pela combinação como outras substâncias, como os agentes antioxidantes, visto que as drogas das novas gerações são caras e comercializadas no mundo inteiro, como melhor tratamento para a esquizofrenia, mas isso pode não ser o caso investimentos em pesquisa para melhoria de fármacos de baixo custo e alto valor terapêutico, como a clorpromazina.

#### **1.4 Modelo de Esquizofrenia Induzido pela Cetamina**

Um modelo é definido como uma preparação experimental para estudar condições particulares ou fenômenos na mesma ou em diferentes espécies e é ferramenta poderosa na descoberta da fisiopatologia das doenças (HILL, 2015; GEYER; MOGHADDAM, 2002). Podendo ser desenvolvido em humanos, animais de laboratório ou mesmo em culturas de células e até em simulações matemáticas no

computador. Nos modelos de transtornos mentais, o efeito produzido lembra apenas distante ou, de maneira indireta, o que acontece no indivíduo (SALGADO et al., 2006).

Embora nenhum modelo animal possa replicar todos os aspectos das complexidades de distúrbios neuropsiquiátricos humanos, como a esquizofrenia, estes podem ser desconstruídos em endofenótipos mais simplificados que incorporam os principais domínios sintomas (EYLES et al., 2012; VAN DEN BUUSE, 2010).

Desse modo, diversos modelos experimentais, como o desenvolvimental, genético, gene  $\times$  ambiente, lesão e modelos induzidos por drogas (KOENIG; CARPENTER, 2015) são utilizados para se investigar as bases neuroquímicas e neurofisiológicas dos sintomas da esquizofrenia, assim como dos efeitos colaterais dos antipsicóticos (CHINDO et al., 2012; SALUM et al., 2008). O modelo induzido por drogas, como a cetamina, consiste na hiperatividade da transmissão de dopamina por uma deficiência na função dos receptores de glutamato, resultando em sintomas positivos da esquizofrenia (KOENIG; CARPENTER, 2015; BECKER et al., 2003).

Dentre os modelos induzidos por drogas, a indução de esquizofrenia pela cetamina tem sido amplamente estudada. Este fármaco trata-se de um derivado da fenciclidina, clinicamente usada como um anestésico intravenoso e analgésico crônico (CRAVEN, 2007; VISSER; SCHUG, 2006). Devido à sua grande disponibilidade no mercado como um agente anestésico dissociativo, o uso da cetamina seria um método econômico para simular domínios específicos dos sintomas deste transtorno em roedores para triagem de drogas antipsicóticas (CHATTERJEE; GANGULY et al., 2011). Seu uso altera o comportamento em humanos e animais e induz esquizofrenia-like (CHATTERJEE et al., 2011; COYLE, 2004). Seus efeitos sistêmicos ocorrem, principalmente, devido ao bloqueio dos receptores glutamatérgicos NMDA (VASCONCELOS et al., 2015; MOGHADDAM et al., 2014). Oliveira et al. (2009) e Arruda et al. (2008) demonstraram que doses sub-anestésicas de cetamina (4 e 10 mg/kg) aumentaram a peroxidação lipídica, produto que contribui para instalação do estresse oxidativo. Por outro lado, pesquisadores (KIM et al., 2015; STONE; MORRISON; PILOWSKY, 2006; NEWCOMER, 1999) demonstraram que uma única dose de cetamina induz um estado no cérebro caracterizada por um aumento na força e na frequência de oscilações do EEG

cerebral. Análise espectral mostrou aumento no poder absoluto após doses de cetamina de 9 ou 30 mg / kg, com o maior aumento a ser alcançado nas bandas delta, beta e gama bandas, a partir de eletrodos implantados no córtex frontal, parietal e temporal (PÁLENÍČEK et al., 2011).

### **1.5 Estudos Comportamentais e a Esquizofrenia**

Um dos modelos comportamentais mais utilizados para a avaliação dos sintomas da esquizofrenia é o modelo da inibição pré-pulso (IPP) do sobressalto, que oferece medida operacional do filtro sensorio-motor, refletida pela capacidade de inibição de um reflexo de sobressalto, quando um estímulo sensorial é precedido por outro de menor intensidade (HOFFMAN; ISON, 1980). A habilidade de discriminar estímulos externos de relevância fisiológica ou cognitiva, fornecida pelo filtro sensorio-motor, está comprometida em indivíduos com determinados transtornos psiquiátricos (SALUM et al., 2008).

A IPP é uma forma de plasticidade do reflexo do sobressalto, caracterizada por uma redução normal do sobressalto em resposta a um estímulo auditivo intenso (pulso), quando este é precedido imediatamente (30-500 ms) por um estímulo mais fraco (pré-pulso) (WEISS; FELDON, 2001).

O reflexo de sobressalto é uma resposta natural de defesa, que envolve rápida contração dos músculos da face e do corpo, e ocorre em resposta a um estímulo intenso e inesperado. Esta reação é uma resposta incontrolável e espontânea que pode ser eliciada por diferentes modalidades de estímulos (auditivo, visual ou tátil). A ativação de processos cerebrais é aumentada em resposta ao estímulo fraco, impedindo a responsividade a eventos sensoriais subsequentes durante uma breve janela temporal. Este período protege a informação contida no estímulo inicial, para que seja adequadamente processado, durante o qual, apenas estímulos suficientemente salientes serão capazes de ultrapassar este filtro protetor (GIAKOUMAKI, 2012).

A inibição pré-pulso ocorre naturalmente em humanos e na maioria dos animais experimentais, mas é diminuída ou ausente em esquizofrênicos (MANSBACH; GEYER; BRAFF, 1988). Drogas que induzem sintomas da esquizofrenia em humanos, como a fenciclidina, cetamina, anfetamina, cocaína e a apomorfina, reduzem a IPP. Este efeito pode ser revertido pelo tratamento com

antipsicóticos típicos e atípicos, mas nem sempre é abolido (ISSY; SALUM; DEL BEL, 2009). Existem trabalhos mostrando os déficits da IPP em pacientes esquizofrênicos não medicados (MOLINA et al., 2011; SWERDLOW et al., 2008; BRAFF; GEYER; SWERDLOW, 2001), além de pacientes com transtornos psiquiátricos, como mania psicótica aguda no transtorno bipolar (PERRY et al., 2001) e transtorno de déficit de atenção e hiperatividade (HAWK et al., 2003).

Issy e colaboradores (2009) mostraram que a diminuição da IPP em camundongos Swiss provocada pelo metilfenidato, um estimulante leve do sistema nervoso central e estruturalmente relacionado com as anfetaminas, foi bloqueada pelos antagonistas dopaminérgicos haloperidol e clozapina. Outra pesquisa indicou que antipsicóticos típico (haloperidol) e atípico (clozapina) foram capazes de aumentar as respostas de IPP de ratos que naturalmente apresentam baixos níveis de IPP. A olanzapina e risperidona efetivamente melhoraram a IPP em pacientes esquizofrênicos (MARTINEZ-GRAS et al., 2009; WYNN et al., 2007). Assim, a IPP tem sido sugerida como útil endofenótipo em potencial para esquizofrenia.

Além do teste de IPP, a hiperlocomoção farmacologicamente induzida é um importante indicador dos sintomas positivos associados à esquizofrenia (BUBENÍKOVÁ-VALESOVÁ et al., 2008; VAN DEN BUUSE, 2010). Na sua forma mais simples, o conceito de teste para hiperatividade locomotora baseia-se na premissa de que a atividade dopaminérgica em roedores resulta na atividade motora aumentada (PAULUS; GEYER, 1991). Assim, o objetivo do teste de campo aberto é medir mudanças comportamentais quando os animais são colocados em um novo ambiente como no meio de um espaço aberto. À medida que os animais sentem ansiedade, medo ou têm problemas de adaptação em um novo ambiente, as atividades exploratórias tendem a diminuir (TSUCHIE et al., 2013).

Na esquizofrenia, a disfunção cognitiva não é global e generalizada, mas sim específica e seletiva, incluindo problemas de atenção e percepção, resolução de problemas, memória de curto e longo prazo e, em particular, a memória de trabalho (BÉGOU et al., 2008). O labirinto em Y é um teste para medir a memória de trabalho espacial (memória de curto prazo) e é baseado na tendência inata de roedores de explorar novos ambientes (DELLU et al., 2000). Desta forma, o teste do labirinto em Y foi utilizado no presente estudo para verificar os sintomas cognitivos da esquizofrenia, mais especificamente na memória de trabalho.

## 1.6 O Eletroencefalograma na Esquizofrenia

O Eletroencefalograma (EEG) é o registro gráfico da atividade elétrica do encéfalo (TOTH et al., 2005; DRINGENBERG; PETER, 2002). Baseia-se em um processo matemático denominado de transformada rápida de Fourier (FFT), que separa uma onda sinusoidal complexa para uma soma de formas de frequência e de tensão específica de ondas simples (CONSTANT; SABOURDIN, 2012).

Para Başar (2013), o termo oscilações cerebral ou neural refere-se ao ritmo e/ou atividade elétrica repetitiva gerada espontaneamente ou em resposta a estímulos do tecido neuronal no sistema nervoso central. Moran e Hong (2011) afirmam que as oscilações neurais são importantes para uma ampla gama de funções sensoriais e cognitivas.

Estas oscilações podem ser mensuráveis em diferentes frequências (MORAN; HONG, 2011) e são tipicamente descritos como bandas de baixa frequência, como delta (<4 Hz), teta (4-8 Hz), alfa (8-13 Hz), beta (13-30 Hz) e bandas de altas frequências, como gama que vai desde aproximadamente gama low (30-50 Hz) para gama high (50 -100 Hz) (MAGNI et al., 2007). A distribuição e neurofisiologia destas bandas de frequência encontram-se descritas no Quadro 1.

**Quadro 01:** Distribuição e neurofisiologia das bandas de frequência. Fortaleza-Ceará, 2016.

| Bandas       | Neurofisiologia das Bandas de Frequência   |
|--------------|--|
| <b>Delta</b> | Aprendizagem, consolidação da memória e flexibilidade comportamental (CASSEL et al., 2013).  |
| <b>Teta</b>  | Processo de codificação e recrutamento da memória (LIEBE et al., 2012); Exploração espacial, sono REM (MORAN; HONG, 2011).   |
| <b>Alfa</b>  | Resultado da interação cortical com a rede talâmica (processos inibitórios descendentes) (CONSTANT; SABOURDIN, 2012); Reflete estado de repouso (MORAN; HONG, 2011).                             |
| <b>Beta</b>  | Atividade cortico-cortical de sujeito alerta, acordado que está ativamente pensando (CONSTANT; SABOURDIN, 2012);   |
| <b>Gama</b>  | Sintomas negativos e positivos da esquizofrenia (CONSTANT; SABOURDIN, 2012). Papel crítico nas funções cognitivas e está sujeita a modulações de atenção e memória seletiva (MORAN; HONG, 2011). |

Portanto, os ritmos cerebrais são biomarcadores fisiológicos e patológicos dos estados de repouso e ativo. Há amplas evidências de que as funções cognitivas, de acordo com a coordenação da distribuição de respostas neurais, estão associadas com a atividade oscilatória sincronizada, sugerindo mecanismo funcional das oscilações neurais em redes corticais. Além de seu papel no funcionamento normal do cérebro, há crescentes evidências de que a atividade oscilatória alterada pode estar associada a certos distúrbios neuropsiquiátricos, como a esquizofrenia, que envolvem cognição e comportamento disfuncional (UHLHAAS, 2011).

Pacientes com esquizofrenia apresentam prejudicadas atividades oscilatórias neurais durante estímulos sensoriais e cognitivas (JALILI; KNYAZEVA, 2011; MORAN; HONG, 2011). O que parece está associada com amplitude anormal e sincronia da atividade oscilatória. Estas anomalias podem ser observadas durante a

atividade neuronal relacionada com uma tarefa ou espontânea que deve ser importante para compreensão da fisiopatologia da síndrome (UHLHAAS; SINGER, 2013).

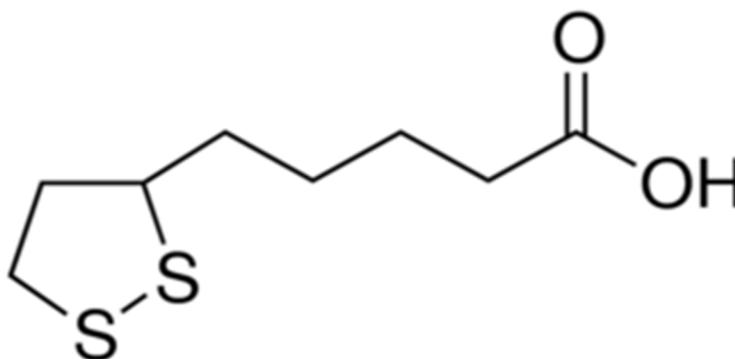
Dose não anestésica de cetamina induz disfunção cognitiva e psicose e agrava os sintomas da esquizofrenia (BOEIJINGA et al., 2007; ADLER et al., 1998). Única administração de cetamina induz a um estado no cérebro caracterizado por um aumento no poder e na frequência intrínseca de oscilações gama (HETEM et al., 2008; STONE et al., 2008; NEWCOMER et al., 1999; KRYSTAL et al., 1994).

Este efeito da cetamina sobre as oscilações gama é um evento importante para o estudo da fisiopatologia da esquizofrenia, visto que a esquizofrenia é caracterizada por disfunções em muitas das regiões superiores do cérebro, conhecidas por estarem ligadas as oscilações gama (LEE et al., 2003). Somado a isto, vale destacar que os sintomas negativos, tais como afastamento social e emocional, correlacionam-se com uma diminuição nas oscilações gama, enquanto que os sintomas positivos, tais como alucinações, parecem estar associados a um aumento na oscilação gama (MULERT et al., 2011; LEE et al., 2010; HERRMANN; DEMIRALP, 2005).

Mediante o exposto, o uso do modelo farmacológico da esquizofrenia induzido por baixas doses de cetamina é importante para o entendimento dos principais mecanismos de oscilações neurais de regulação glutamatérgica e, portanto, estas oscilações neurais poderão fornecer interface animal-clínica no estudo da disfunção glutamatérgica da esquizofrenia, através da avaliação eletroencefalográfica de ratos após administração da cetamina. Assim como avaliar os efeitos da clorpromazina sozinha ou associada ao ácido lipóico sobre as alterações no EEG promovidas pela cetamina.

## **1.7 Ácido Lipóico e a Esquizofrenia**

O ácido lipóico (ALA) é um componente natural de membranas biológicas de plantas e animais, também conhecido como 1,2-ditiolano-3-pentanóico, é um dissulfureto de oito carbonos que contém um centro quirál (fig. 4) (ARAÚJO et al., 2011; LATEEF et al., 2005). Contém um átomo de carbono assimétrico (fig. 4) e, assim, tem dois isómeros ópticos possíveis.



**Figura 4:** Estrutura química do ácido  $\alpha$ -lipóico.

Fonte: <http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sigma/t5625?lang=pt&region=BR>

Estes são designados como ácido R-lipóico (R-ALA) e ácido S-lipóico (S-ALA). O que ocorre naturalmente é a configuração R, ligada a uma proteína que funciona como um cofator essencial para vários complexos enzimáticos mitocôndrias envolvidos na produção de energia e no catabolismo de alfa-cetoácidos e aminoácidos (ALTERNATIVE MEDICINE REVIEW, 2006). Sua atividade antioxidante foi descrita pela primeira vez como um cofator essencial para conversão de piruvato em acetil-coenzima A, um passo crítico na respiração celular (SALINTHONE et al., 2008).

Devido ao forte efeito antioxidante e anti-inflamatório, o potencial terapêutico de ácido lipóico foi recentemente estudado em distúrbios neuropsiquiátricos (SILVA et al., 2016; SOUSA et al., 2015; VASCONCELOS et al., 2015; DESLAURIERS et al., 2014; SILVA et al., 2014; SILVA et al., 2013; ARAÚJO et al., 2013). Assim, considerando que a esquizofrenia tem componentes oxidativos e inflamatórios em sua fisiopatologia, ALA tem sido investigada como alternativa terapêutica para a esquizofrenia (VASCONCELOS et al., 2015; MACÊDO et al., 2012). Entretanto, suas ações na esquizofrenia e como adjuvante na terapêutica com antipsicóticos não foram completamente esclarecidas.

Portanto, o presente estudo foi desenhado para investigar os efeitos da clorpromazina sozinha ou associado ao ácido lipoico sobre as alterações comportamentais, neuroquímicas ou eletroencefalográficas promovidas pela cetamina em ratos.

## 2 RELEVÂNCIA E JUSTIFICATIVA

O estudo da esquizofrenia não tem sido fácil para os pesquisadores em neuropsicofarmacologia. Isto se deve ao fato da esquizofrenia ser um transtorno multimediado e ter uma fisiopatologia complexa. Além disso, os sintomas em humanos são diferentes em roedores. Contudo, a utilização do modelo de esquizofrenia induzido por cetamina em animais é fundamentado para o entendimento da hipótese glutamatérgica da esquizofrenia, na qual relaciona a hipofunção do receptor de NMDA ao aparecimento de sintomas compatíveis com a esquizofrenia. A partir deste modelo, é possível avaliar as respostas aos testes comportamentais, análises neuroquímicas e eletroencefalográfica após tratamento com antipsicóticos, como clorpromazina um fármaco ainda muito utilizado em países em desenvolvimento para o tratamento da esquizofrenia (SAHA et al., 2016).

Com objetivo de melhorar a eficácia do tratamento antipsicótico com clorpromazina e diminuir seus efeitos colaterais, várias medicações coadjuvantes têm sido propostas. Entre estas, o ácido lipóico tem recebido destaque, por apresentar efeitos neuroprotetores em doenças relacionadas ao sistema nervoso central, como esquizofrenia, depressão e ansiedade (SILVA et al., 2016; SOUSA et al., 2015; VASCONCELOS et al., 2015; DESLAURIERS et al., 2014; SILVA et al., 2014; SILVA et al., 2013; ARAÚJO et al., 2013).

De tal modo, propôs-se realizar um estudo acerca dos efeitos comportamentais, neuroquímicos e eletroencefalográficos após administração em doses repetidas da clorpromazina sozinha ou associada com ácido lipóico, no modelo de esquizofrenia induzido pela cetamina. Desta forma, estudar os possíveis mecanismos envolvidos nas ações farmacológicas destas drogas, sozinhas ou associadas, e compreendendo, assim, o envolvimento entre os sistemas glutamatérgico e dopaminérgico na esquizofrenia.

### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 Geral

Avaliar os efeitos antipsicóticos da associação de clorpromazina e ácido lipóico em modelo de esquizofrenia induzido por cetamina em ratos.

#### 3.2 Específicos

- ✓ Avaliar as alterações no poder espectral média do hipocampo de ratos submetidos ao tratamento com cetamina;
- ✓ Analisar os efeitos da clorpromazina sozinha ou associada ao ácido lipóico sobre as alterações no poder espectral médio do hipocampo induzida pela cetamina no modelo farmacológico da esquizofrenia em ratos;
- ✓ Verificar as alterações neurocomportamentais, provocadas pela administração de clorpromazina sozinha ou associada ao ácido lipóico, no modelo de esquizofrenia induzido pela cetamina em ratos, através dos testes comportamentais: teste de campo aberto, labirinto em Y e inibição pré-pulso;
- ✓ Averiguar os efeitos antioxidantes hipocampal da clorpromazina sozinha ou associada ao ácido lipóico, no modelo de esquizofrenia induzido pela cetamina em ratos.

## **4 METODOLOGIA**

### **4.1 Animais**

Os experimentos foram realizados em ratos Wistar machos (200-300 gramas). Os animais foram mantidos em uma sala com temperatura controlada ( $23 \pm 1$  °C), com um ciclo de 12 horas de claro/escuro e acesso livre à comida e água. Todos os procedimentos experimentais foram realizados de acordo com o guia para o cuidado e uso de animais de laboratório do conselho nacional de controle e experimentação animal e, em conformidade, com o parecer do comitê de ética da Universidade Federal do Ceará (N. 92/2009).

### **4.2 Drogas e tratamento**

Cloridrato de cetamina (Ketalar - ampola de 50 mg/ml, Lab. Parke-Davis, Brasil) e clorpromazina (Longactil - ampola 5 mg/ml, Lab. Cristália) foram dissolvidas em solução salina 0,9% e administrados por via intraperitoneal (i.p), em volumes de 10 ml/kg de peso corporal. O Ácido alfa-lipóico foi administrado por gavagem (Sigma-Aldrich, St. Louis, EUA, ALA 100 mg/kg) e dissolvido em 5% de carboximetil celulose (CMC). As doses de KET [10 (ARRUDA et al., 2008), 50 (CAIXETA et al., 2013; RAO et al., 2012) ou 100 (MA; TAI; LEUNG, 2009; MOGHADDAM et al., 2014)], CP [1 (LLADÓ-PELFORT et al., 2016) ou 5 mg/kg (MA; TAI; LEUNG, 2009)] e ALA (MACÊDO et al., 2012) foram baseadas em estudos anteriores.

### **4.3 Estudo Eletroencefalográfico**

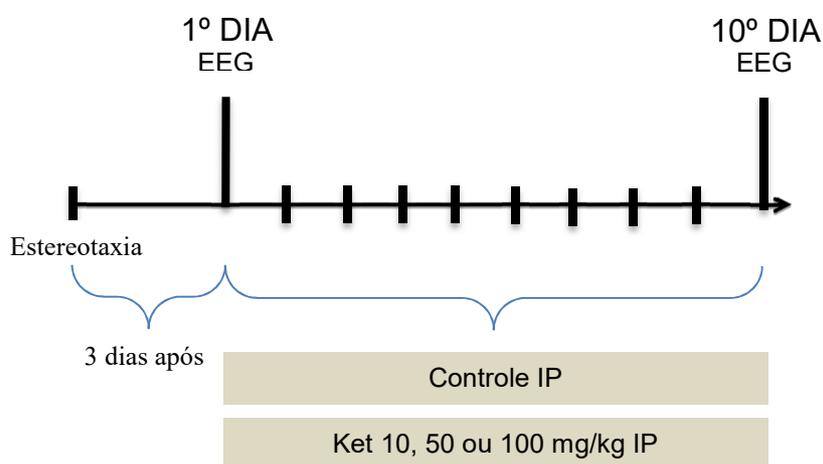
#### **4.3.1 Cirurgia Estereotáxica e Implantação dos Eletrodos**

Os ratos foram anestesiados com cetamina (100 mg / kg, ip) e xilazina (10 mg / kg, IP), elétrodos bipolares de fio de NiCr (diâmetro 150  $\mu$ m) foram torcidos e implantados no hipocampo, por meio de dispositivo de estereotaxia (Stoelting ®, EUA) (PAXINOS; WATSON, 1997). Um parafuso adicional foi colocado na cavidade do osso frontal, tal como o elétrodo de referência. Os

elétrodos foram fixados ao crânio com acrílico dental. A localização correta dos elétrodos implantados foi verificada em seções usando um micrótomo criostato (típico CM1850 Leica®, Alemanha), coradas com violeta Cresyl e examinadas por microscópio de luz (Nikon®, Japão), adaptado de Magni et al. (2007) e Magni et al. (2011).

#### 4.3.2 Procedimentos para os ratos em tratamento com cetamina (10, 50 ou 100 mg/kg)

Três dias após a implantação dos elétrodos (MAGNI et al., 2007), os animais foram divididos aleatoriamente em quatro grupos (n = 10) e foram tratados durante 10 dias consecutivos com solução salina (controle) ou Ket (10, 50 ou 100 mg / kg). A cetamina foi utilizada em três doses diferentes para rastrear a melhor dose para os efeitos da Ket no EEG (esquizofrenia-símile) e, conseqüentemente, ser utilizada nos grupos das associações com clorpormazina e ácido lipóico. Estas doses foram selecionadas conforme estudos anteriores, indicando indução de esquizofrenia-*like* [10 mg / kg (ARRUDA et al., 2008); 50 mg / kg (CAIXETA et al., 2013; RAO et al., 2012) ou 100 mg / kg (MOGHADDAM et al., 2014)]. Ondas cerebrais foram capturadas no 1º ou 10º dia para os tratamentos agudos ou em doses repetidas, respectivamente (fig. 5).

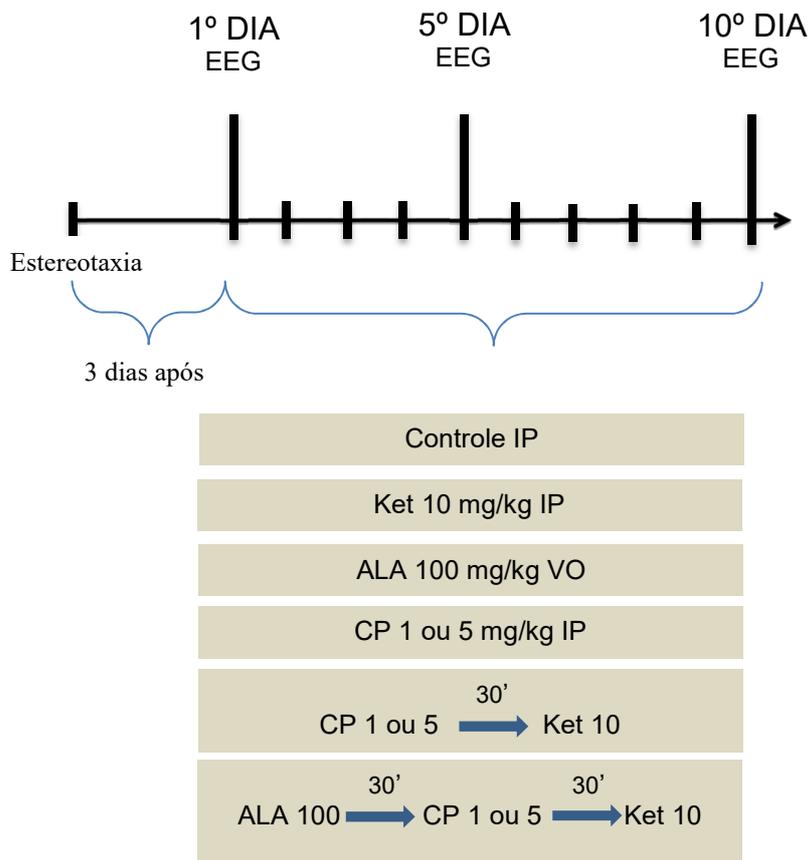


**Figura 5:** Representação esquemática do desenho experimental.

#### 4.3.3 Procedimentos para os ratos em tratamento com clorpromazina sozinha ou associada ao ácido lipóico no modelo de esquizofrenia pela cetamina

Três dias após a implantação dos eletrodos (MAGNI et al., 2007), os animais foram divididos aleatoriamente em oito grupos ( $n = 10$ ) e foram tratados durante 10 dias consecutivos, conforme divisão: sendo G0 (grupo controle: solução salina 0,9%), G1 (grupo cetamina: 10 mg/kg), G2 (grupo clorpromazina: 1 mg/kg), G3 (grupo clorpromazina: 5 mg/kg), G4 (grupo clorpromazina 1 mg/kg e após 30 minutos foi administrada cetamina 10 mg/kg), G5 (grupo clorpromazina 5 mg/kg e após 30 minutos foi administrada cetamina 10 mg/kg), G6 (grupo ácido lipóico 100 mg/kg e após 30 minutos foi administrado clorpromazina 1 mg/kg e após 30 minutos foi administrada cetamina 10 mg/kg), G7 (grupo ácido lipóico 100 mg/kg e após 30 minutos foi administrada clorpromazina 5 mg/kg e após 30 minutos foi administrada cetamina 10 mg/kg), em que cada grupo foi tratado por 10 dias. Ondas

cerebrais foram capturadas no 1º, 5º ou 10º dia de tratamento, diretamente no hipocampo de animais *in vivo* (fig. 6).



**Figura 6:** Representação esquemática do desenho experimental.

#### 4.3.4 Registros do Eletroencefalograma

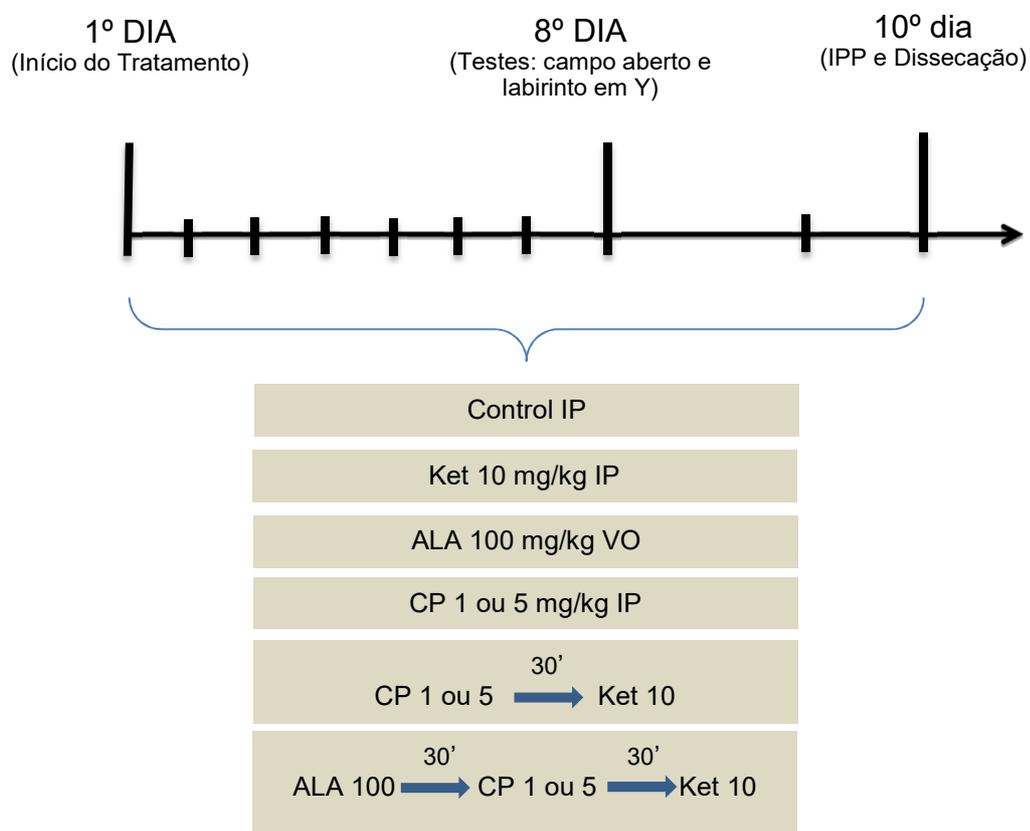
O EEG quantitativo foi registrado através de um sistema de polígrafo digital (PowerLab 4/30 device e LabChart Pro software) (MIN et al., 2011). Os sinais foram amplificados em 20.000x e filtrados (0,5-30 Hz), em uma taxa de amostragem de 256 Hz e gravados utilizando a versão 3.2 do *software* de aquisição *ACQ-Knowledge Acquisition Software*. O EEG foi registrado individualmente em uma caixa de vidro (0,3 × 0,5 × 0,4 m), com o chão coberto com serragem, por um período de 20 minutos. O cabo de aquisição foi ligado a um micro conector sobre a cabeça do animal, com os sinais elétricos de atividade a serem capturados pelo PowerLab®. As gravações de ECG foram analisadas pelo LabChart 8 Add-Ons versão 8.0. Os valores de potência apresentados para cada frequência foram agrupados em bandas representadas por delta (0-4 Hz), theta (> 4-8 Hz), alfa (> 8-13 Hz), gama low (> 30-50 Hz) e gama high (> 50-100 Hz) (MAGNI et al., 2007).

#### 4.4 Procedimentos para os Testes Comportamentais e Neuroquímicos

Os animais foram divididos em oito grupos, sendo G0 (grupo controle: solução salina 0,9%), G1 (grupo cetamina: 10 mg/kg), G2 (grupo clorpromazina: 1 mg/kg), G3 (grupo clorpromazina: 5 mg/kg), G4 (grupo clorpromazina 1 mg/kg e após 30 minutos foi administrada cetamina 10 mg/kg), G5 (grupo clorpromazina 5 mg/kg e após 30 minutos foi administrada cetamina 10 mg/kg), G6 (grupo ácido lipóico 100 mg/kg e após 30 minutos foi administrado clorpromazina 1 mg/kg e após 30 minutos foi administrada cetamina 10 mg/kg), G7 (grupo ácido lipóico 100 mg/kg e após 30 minutos foi administrada clorpromazina 5 mg/kg e após 30 minutos foi administrada cetamina 10 mg/kg), em que cada grupo foi tratado por 10 dias.

No 8º dia de tratamento, imediatamente após as aplicações das drogas, os animais foram submetidos aos testes comportamentais, primeiramente campo aberto e, em seguida, o labirinto em Y. No 10º dia de tratamento e imediatamente após a última administração de cetamina, a inibição pré-pulso foi registrada. Em seguida, os ratos foram sacrificados por decapitação e o

hipocampo dissecado, rapidamente congelado e armazenado a - 70 °C até a realização dos testes de estresse oxidativo (fig. 7).



**Figura 7:** Representação esquemática do desenho experimental.

## 4.5 Estudo Comportamental

### 4.5.1 Teste de campo aberto

A atividade locomotora espontânea (ALE) foi avaliada através do teste de campo aberto (ARCHER, 1973). Este teste foi realizado em um campo (30 cm × 30 cm x 45 cm), dividido em quatro partes iguais. O aparelho foi colocado em uma sala com luz vermelha, os animais foram cuidadosamente colocados no centro do campo e permitido que eles explorassem livremente o cenário por 1 minuto (período de habituação). O parâmetro observado foi o número de quadrados cruzados (com as quatro patas) por um período de 5 minutos.

#### 4.5.2 Teste do Labirinto em Y

A memória de trabalho foi avaliada por meio do teste de Labirinto em Y, que permite avaliar o comportamento cognitivo exploratório. O labirinto consiste em 3 braços idênticos de 40 cm de comprimento, 25 cm de altura e 6 cm de largura cada convergindo a um ângulo igual. Cada rato foi colocado na extremidade de um braço e deixado para explorar o ambiente por 8 minutos. A sequência dos braços em que os animais entraram foi então anotada e as informações analisadas, de forma a determinar o número de entradas no braço sem repetição. Uma sequência foi considerada correta se o animal visitou um novo braço e não retornou ao braço anteriormente visitado. Assim, a porcentagem das alternações foi calculada como a razão entre as alternações corretas (n) e o número de visitas realizadas durante o período de observação (n-2), multiplicado por 100 (DALL'IGNA et al., 2007; YAMADA et al., 1996).

#### 4.5.3 Inibição pré-pulso

Inibição pré-Pulso é caracterizada pela redução do reflexo de sobressalto a um estímulo acústico intenso (pulso), quando imediatamente precedido por um estímulo de menor intensidade (pré-pulso) (SWERDLOW et al., 2008; HOFFMAN; ISON, 1980). A reação corporal dos ratos a um estímulo acústico, no presente trabalho, foi monitorada em uma câmara (INSIGHT equipamentos científicos – Brasil modelo EP-175), conectada a um tubo (diâmetro 8,2 cm, comprimento 20 cm), montada em uma caixa fechada ventilada.

Os ratos foram colocados em um contensor (125 x 90 x 255 cm), consistido de barras de aço inoxidável de 3,0 mm de diâmetro com espaçamento de 0,8 centímetros de distância. O contensor foi mantido preso sobre uma balança, chamada de plataforma de resposta, através de quatro miniaturas parafusos. Um alto-falante localizado a 15 cm do contensor foi usado para fornecer os estímulos de pulso, pré-pulso e ruído de fundo. O contensor, a plataforma e o alto-falante foram localizados dentro de uma câmara acústica ventilada (64 x 60 x 40 cm). Procedimentos de calibração

foram realizados antes dos experimentos para garantir sensibilidades equivalentes das plataformas de resposta ao longo do período de teste.

A sessão de testes começou ao colocar um animal no contensor para a aclimação, este procedimento consistiu em uma exposição de 5 minutos ao ruído de fundo (65 dB). Após o período de aclimação, os ratos foram apresentados a uma série de 10 estímulos de treino (pulso sozinho - 120 dB, 50 ms de duração), com um ensaio de inter-intervalo de 20s. O objetivo desta fase foi permitir a habituação da resposta de sobressalto do animal. Posteriormente, a modulação IPP de sobressalto foi testada no seguinte protocolo: consiste de 74 ensaios pseudorandomizados, divididos em oito categorias diferentes, apresentados com um intervalo inter-estímulos de 20s: 20 apresentações de pulso sozinho (120 dB, 50 ms de duração), oito apresentações de cada intensidade de pré-pulso sozinho (70, 75 e 80 dB, frequência 3000 Hz, 20 ms de duração), 10 apresentações de cada intensidade de pré-pulso + intensidade de pulso (com intervalo de 50ms entre pré-pulso e pulso) e ausência de estímulo, neste bloco o animal apenas recebe o estímulo de ruído de fundo (LEVIN et al., 2011). Foram utilizadas três intensidades de pré-pulso diferentes para que o teste tivesse maior veracidade, como se o mesmo fosse feito em triplicata.

A média da amplitude de resposta de sobressalto aos ensaios de pulso sozinho (P) e pré-pulso + pulso (PP + P) foi calculada para cada animal. O nível de IPP em cada rato foi definido como a porcentagem da redução da amplitude do sobressalto nos ensaios de PP + P, em comparação com a amplitude do sobressalto nos ensaios de P, de acordo com a seguinte fórmula:  $\% \text{ PPI} = 100 - [100 \times (\text{PP} + \text{P} / \text{P})]$ . Usando esta fórmula, um valor de IPP de 0% denota que não houve diferença entre a amplitude da resposta de sobressalto do pulso sozinho e do pré-pulso + pulso, conseqüentemente, não há IPP (LEVIN et al., 2011).

## 4.6 Estudo Neuroquímico

### 4.6.1 Determinação da Concentração da Glutathiona Reduzida (GSH)

O método é baseado na reação de reagente de Ellman (DTNB), com grupos tiol livres. As áreas do cérebro foram diluídas em tampão de 0,02 M de EDTA (10% w / v) e adicionadas a uma solução de ácido tricloroacético a 50%. Após centrifugação (3000 rpm/15 min), o sobrenadante do homogeneizado foi recolhido e a concentração de GSH determinada (SEDLAK; L'HANUS, 1982). Resumidamente, as amostras foram misturadas com 0,4 M de tampão tris-HCl, pH 8,9 e 0,01 M de DTNB. Níveis de GSH foram determinados por espectrofotometria a 412 nm, calculada com base em uma curva padrão de glutathiona e expressos como ng de GSH/g de tecido úmido.

### 4.6.2 Determinação da Concentração de Nitrito

Para avaliar os efeitos de tratamentos com as respectivas drogas na produção de NO, foi determinada a concentração de nitrito em homogenato do hipocampo dos ratos imediatamente após a decapitação em todos os grupos. Após centrifugação (800 × g/10 min), o sobrenadante do homogeneizado foi coletado e a produção determinada com base na reação de Griess (RADENOVIC; SELAKOVIC, 2005; GREEN; GOLDMAN, 1981). Para esse experimento 100 µL do reativo de Griess (sulfanilamida a 1% / cloridrato de N-(1-naftil)- etilenediamina 0.1% / ácido fosfórico a 5% / água destilada, na proporção de 1:1:1:1), foi adicionado a 100 µL do sobrenadante do homogenato tecidual e incubado a temperatura ambiente por 10 min. A curva padrão foi elaborada com várias concentrações de NaNO<sub>2</sub> (variando de 0,75 a 100 mM), sob as mesmas condições. Os brancos foram preparados pela adição de 100 µL do reativo de Griess a 100 µL do tampão usado para o homogenato e a absorbância foi medida em leitor de microplacas em 560 nm, expressa em nM de nitrito/g de tecido úmido.

#### 4.6.3 Mensuração da Peroxidação Lipídica

A peroxidação lipídica foi analisada, determinando-se a concentração de malonildialdeído, uma das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), em homogenatos (HUONG et al., 1998). As amostras foram adicionadas a um sistema catalisador de formação de radicais livres (FeSO<sub>4</sub> 0,01 mM e ácido ascórbico 0,1 mM). A reação foi interrompida pela adição de ácido tricloroacético 10%, posteriormente as amostras foram centrifugadas (4°C, 14000 rpm, 15 min), sendo o sobrenadante retirado e acrescido de ácido tiobarbitúrico 0,8%, sendo colocado depois em banho-maria por 30 minutos. Após resfriamento, foi medida a absorbância em 535nm. A peroxidação lipídica foi expressa em µg de malonildialdeído (MDA)/mg tecido.

#### 4.6.4 Mensuração da Atividade da Mieloperoxidase (MPO)

Amostras de hipocampo foram removidas e imediatamente congeladas em azoto líquido. Foram homogeneizados em uma solução de 0,5% de brometo de hexadeciltrimetilamônio (HTAB) em 50 mM de tampão de fosfato de pH 6,0 (1 mL por 50 mg de tecido) e centrifugados a 4000 rpm durante 15 min a 4 °C. A quantidade de enzima no sobrenadante (30 µL) foi analisada por espectrofotometria após adição de 200 µL de tampão de fosfato (50 mM, pH 6), contendo 0,167 mg/ml de dicloridrato de  $\theta$ -dianisidina e peróxido de hidrogénio a 0,0005%. A absorvância a 470 nm foi medida no tempo 0 e de 3 min (BRADLEY et al., 1982).

### 4.7 Análise Estatística

Todas as análises foram realizadas por meio da análise de variância (ANOVA), usando o *software* Prism 5.0. versão para Windows, GraphPad Software (San Diego, CA, EUA). Para avaliação da significância, comparações múltiplas foram feitas com ANOVA e Two Way Anova, usando como *test post hoc* Tukey (testes de comportamento: campo aberto e Y maze, estresse oxidativo) ou Bonferroni (teste de comportamento de IPP e teste

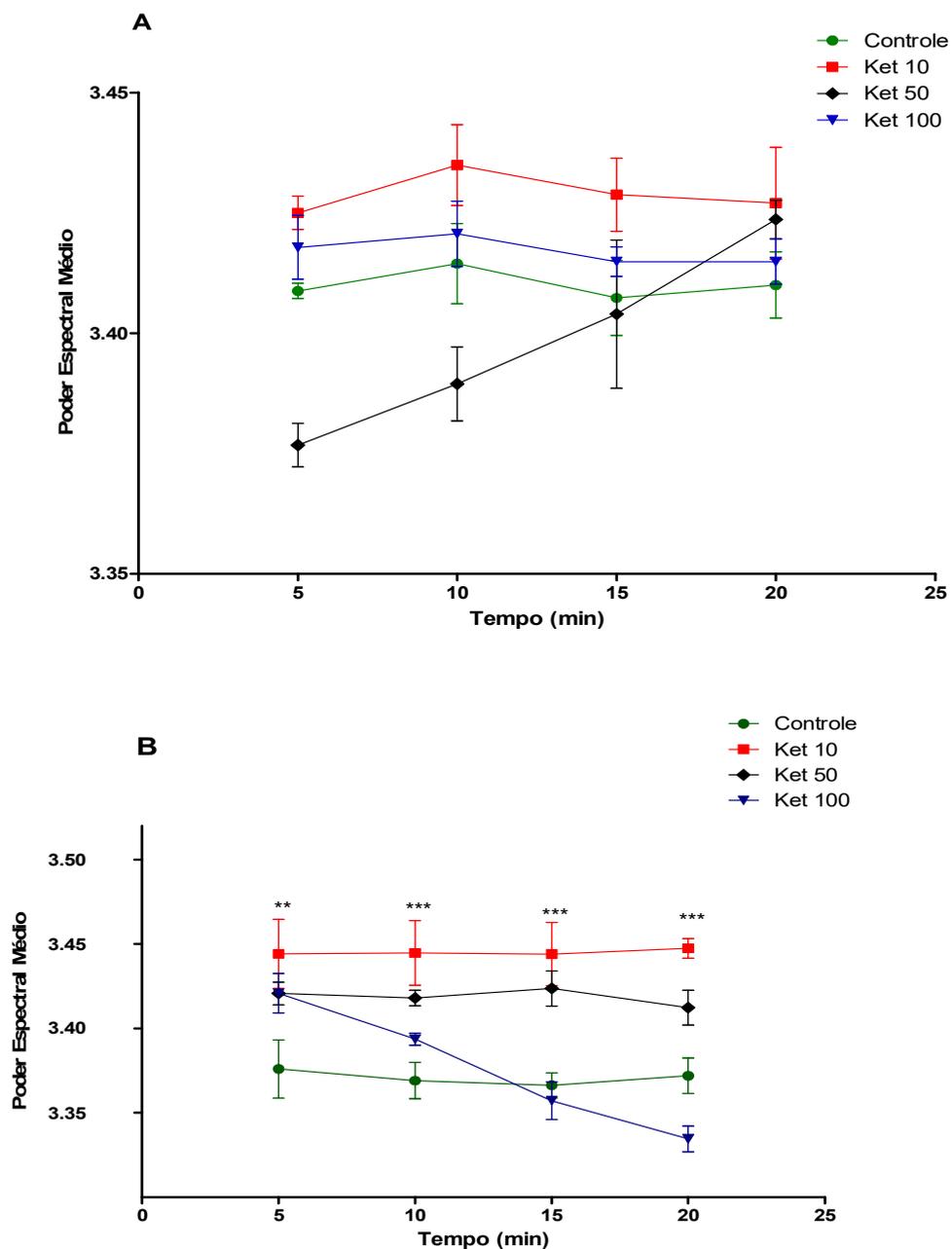
eletroencefalográfico), respectivamente. Os resultados foram considerados significativos para  $p < 0,05$  e apresentados como média  $\pm$  EPM.

## 5 RESULTADOS

### 5.1 Análise Eletroencefalográfica

#### 5.1.1 Alterações no poder espectral médio hipocampal pela cetamina

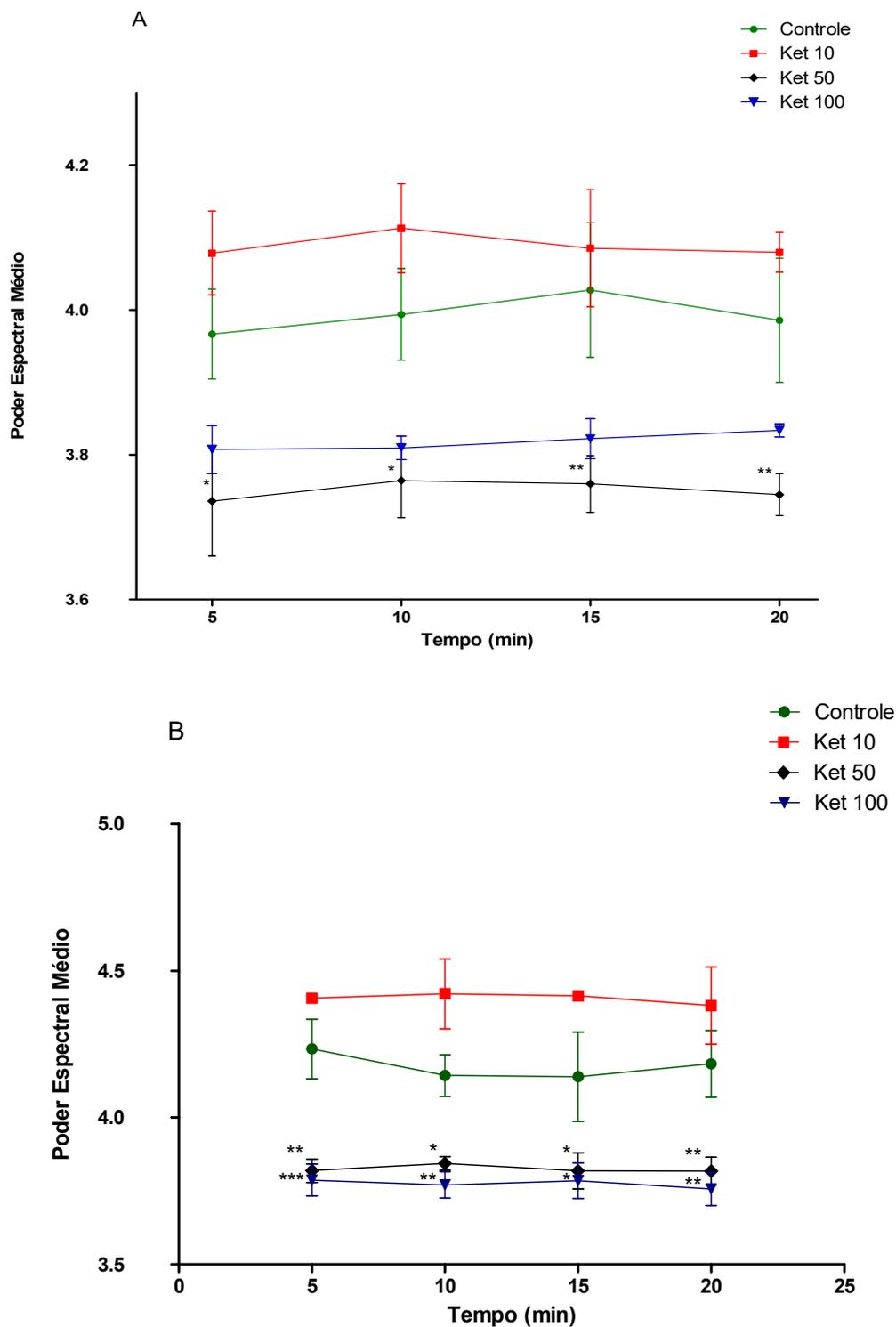
A partir da análise dos resultados, observou-se que a administração de cetamina apenas com a dose mais baixa (10 mg/kg) promoveu aumento do poder espectral média na banda delta para o tratamento em doses repetidas por 10 dias. Este aumento foi observado no quinto (KET 10:  $3.43 \pm 0.02$ ), décimo (KET 10:  $3.40 \pm 0.03$ ), décimo quinto (KET 10:  $3.42 \pm 0.02$ ) e vinte minutos (KET 10:  $3.42 \pm 0.01$ ), em relação ao grupo controle (5min:  $3.37 \pm 0.01$ ; 10min:  $3.36 \pm 0.01$ ; 15min:  $3.36 \pm 0.00$ ; 20 min:  $3.37 \pm 0.01$ ) [ $F(4,24) = 54.54$ ,  $p < 0.0001$ ] (fig. 8B).



**Figura 8: Poder espectral médio da banda delta no hipocampo de ratos em tratamento agudo (A) ou tratamento em doses repetidas por 10 dias (B) de cetamina (10, 50 ou 100 mg/kg).** Cada barra representa a média  $\pm$  SEM. Para todas as análises,  $p < 0.05$  foi considerado significativo. Two-way ANOVA, seguido do teste de Bonferroni como post hoc.

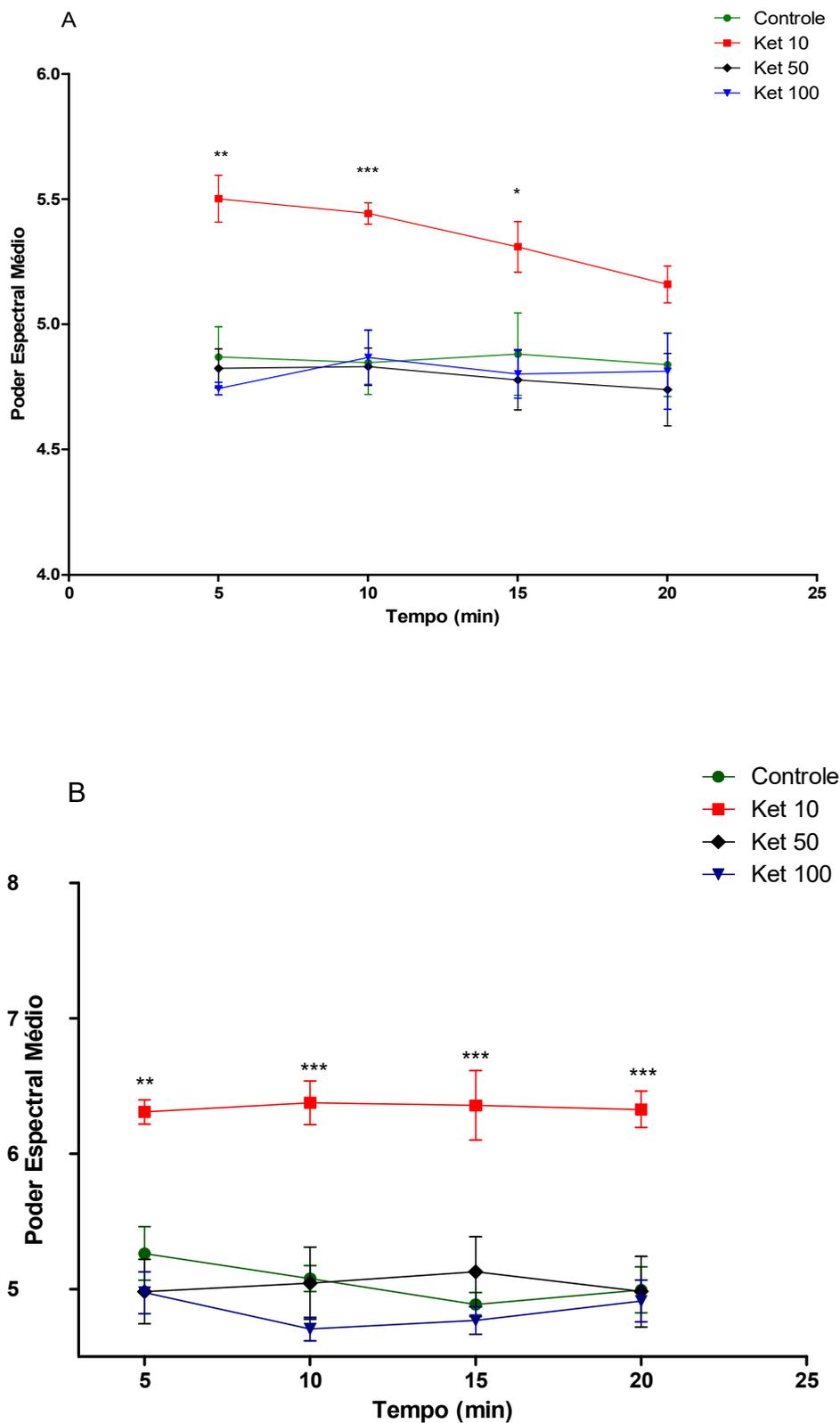
Para a banda teta, cetamina, apenas com a dose de 50 mg/kg, diminuiu seu poder espectral média no 1º dia de tratamento (5 min:  $3.73 \pm 0.07$ , 10 min:  $3.76 \pm 0.05$ ; 15 min:  $3.76 \pm 0.03$ ; 20 min:  $3.74 \pm 0.02$ ), quando

comparado ao grupo controle (5 min:  $3.96 \pm 0.06$ ; 10 min:  $3.99 \pm 0.06$ ; 15 min:  $4.02 \pm 0.09$ ; 20 min:  $3.98 \pm 0.08$ ) [ $F(4.64) = 24.85$ ,  $p < 0.0001$ ]. Foi observado efeito semelhante após o tratamento com doses repetidas de cetamina por 10 dias, tanto no KET 50 como KET 100 grupos (5 min: KET 50:  $3.81 \pm 0.04$ ; KET 100:  $3.78 \pm 0.05$ ; 10 min: KET 50:  $3.84 \pm 0.02$ ; KET 100:  $3.77 \pm 0.04$ ; 15 min: KET 50:  $3.81 \pm 0.06$ ; KET 100:  $3.78 \pm 0.06$ ; 20 min: KET 50:  $3.81 \pm 0.04$ ; KET 100:  $3.75 \pm 0.05$ ), quando comparado com o grupo controle (5 min:  $4.23 \pm 0.10$ ; 10 minutos:  $4.14 \pm 0.07$ ; 15 minutos:  $4.00 \pm 0.08$ ; 20 minutos:  $4.18 \pm 0.11$ ) [ $F(4.77) = 42.36$ ,  $p < 0.0001$ ] (fig. 9).



**Figura 9: Poder espectral médio da banda teta no hipocampo de ratos em tratamento agudo (A) ou tratamento em doses repetidas por 10 dias (B) de cetamina (10, 50 ou 100 mg/kg). Cada barra representa a média  $\pm$  SEM. Para todas as análises,  $p < 0.05$  foi considerado significativo. Two-way ANOVA, seguido do teste de Bonferroni como post hoc.**

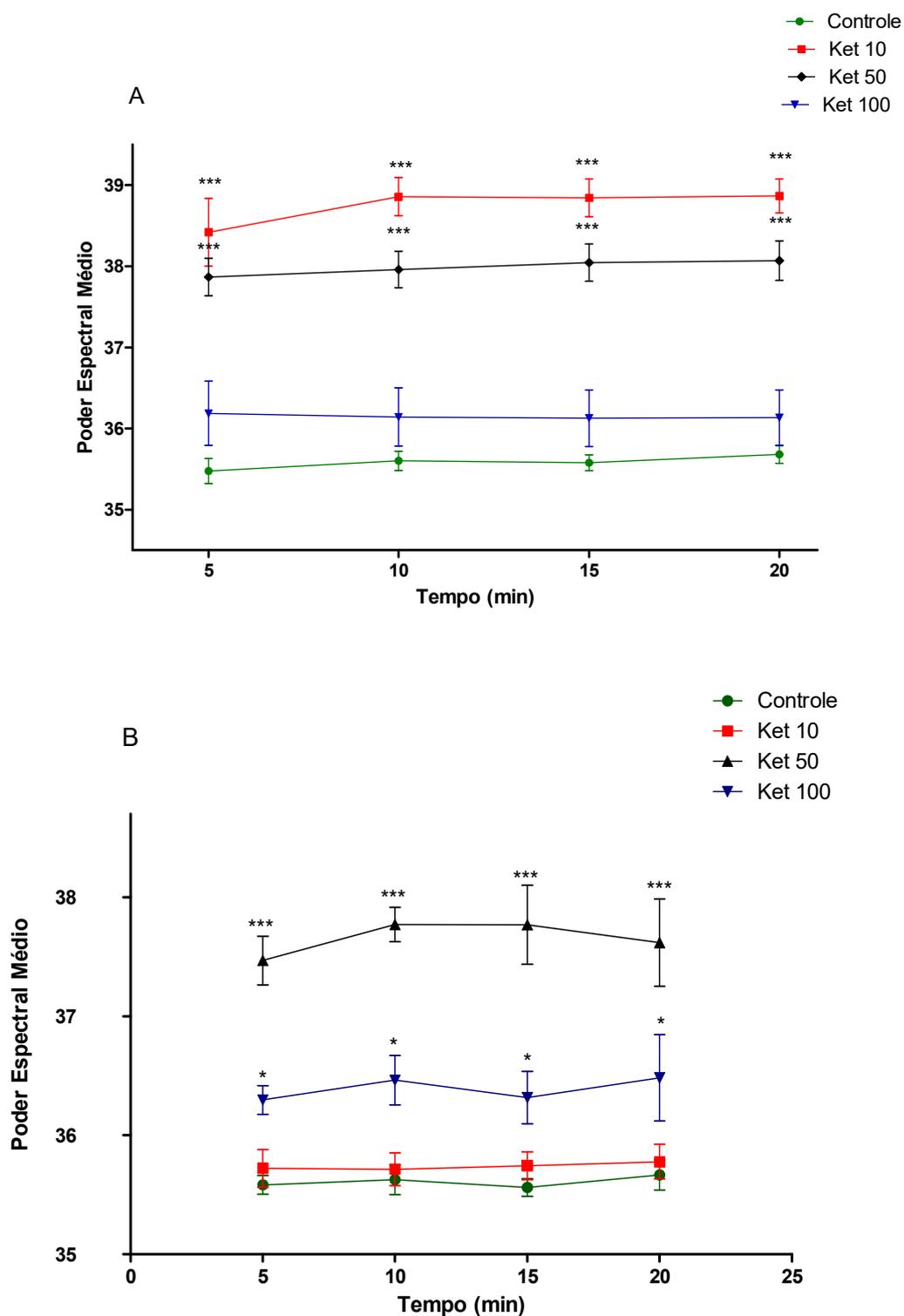
Aumento do poder espectral médio da banda alfa foi evidenciado pela administração de cetamina apenas com a menor dose, tanto no 1º dia (5 min:  $5.50 \pm 0.09$ ; 10 min:  $5.44 \pm 0.04$ ; 15 min:  $5.30 \pm 0.10$ ) como no 10º dia de tratamento (5 min:  $6.30 \pm 0.08$ ; 10 min:  $6.37 \pm 0.16$ ; 15 min:  $6.35 \pm 0.25$ ; 20 min:  $6.32 \pm 0.13$ ), quando comparado ao grupo controle no 1º dia (5 min:  $4.87 \pm 0.12$ ; 10 min:  $4.84 \pm 0.12$ ; 15 min:  $4.88 \pm 0.16$  [ $F(4.73) = 23.63$ ,  $p < 0.0001$ ]) ou 10º dia (5 min:  $5.26 \pm 0.19$ ; 10 min:  $5.07 \pm 0.09$ ; 15 min:  $4.88 \pm 0.08$ ; 20 min:  $4.99 \pm 0.16$  [ $F(4.79) = 41.70$ ,  $p < 0.0001$ ]) (fig. 10).



**Figura 10: Poder espectral médio da banda alfa no hipocampo de ratos em tratamento agudo (A) ou tratamento em doses repetidas por 10 dias (B) de cetamina (10, 50 ou 100 mg/kg). Cada barra representa a média  $\pm$  SEM. Para todas as análises,  $p < 0.05$  foi considerado significativo. Two-way ANOVA, seguido do teste de Bonferroni como post hoc.**

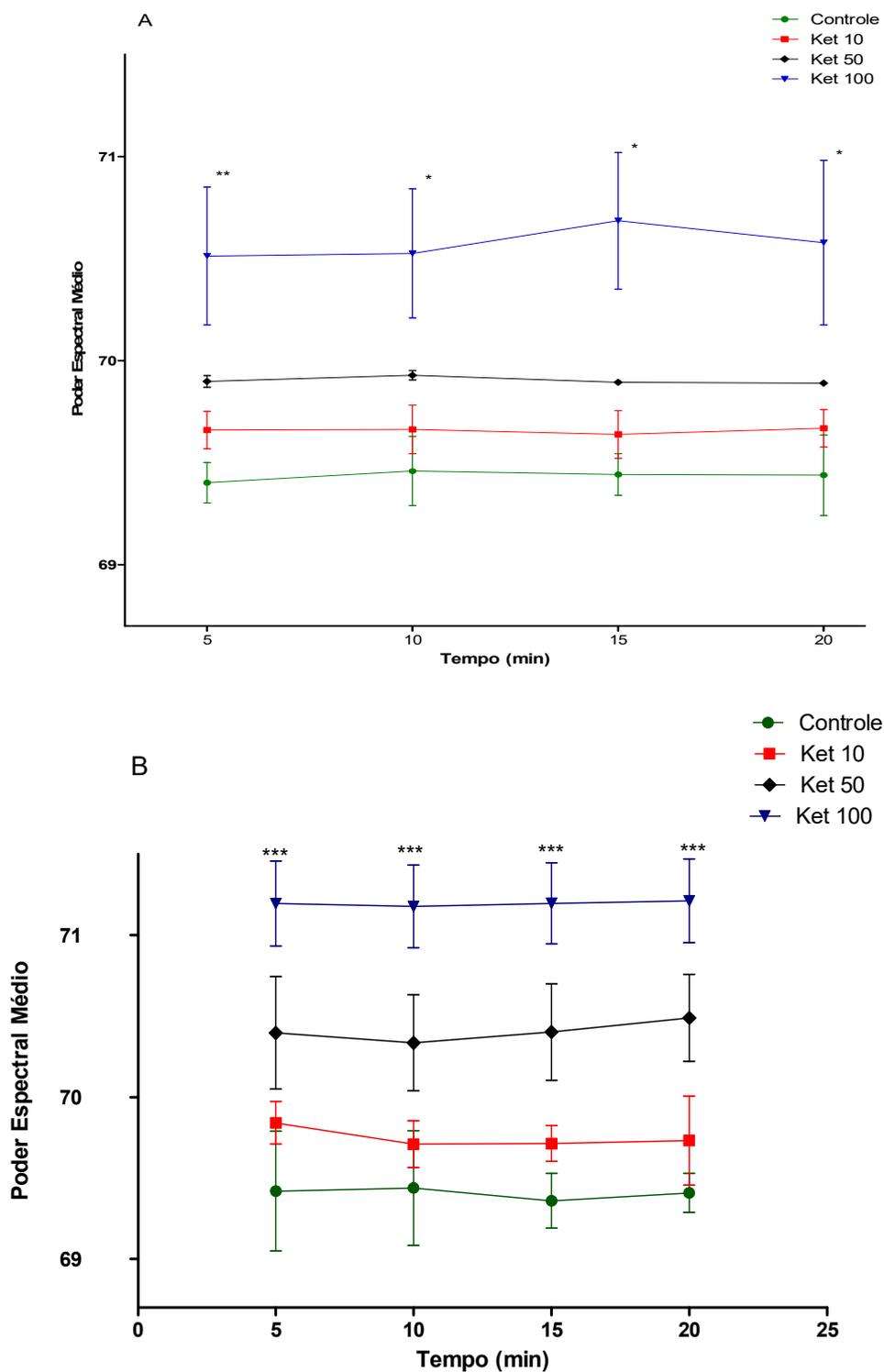
A banda gama low foi aumentada após a administração aguda de cetamina nas doses de 10 ou 50 mg/kg (5 min: KET 10:  $38.42 \pm 0.41$ ; KET 50:  $37.87 \pm 0.23$ ; 10 min: KET 10:  $38.86 \pm 0.23$ ; KET 50:  $37.96 \pm 0.22$ ; 15 min: KET 10:  $38.84 \pm 0.23$ ; KET 50:  $38.04 \pm 0.22$ ; 20 min: KET 10:  $38.87 \pm 0.21$ ; KET 50:  $38.07 \pm 0.24$ ), quando comparado ao grupo controle (5 min:  $35.48 \pm 0.15$ ; 10 min:  $35.60 \pm 0.11$ ; 15 min:  $35.58 \pm 0.09$ ; 20 min:  $35.68 \pm 0.10$ ) [ $F(4.66) = 109.29$ ,  $p < 0.0001$ ] (fig. 11A).

Observou-se efeito semelhante após o tratamento com cetamina em doses repetidas, mas nas doses de 50 ou 100 mg/kg (5 min: KET 50:  $37.47 \pm 0.20$ ; KET 100:  $36.30 \pm 0.12$ ; 10 min: KET 50:  $37.77 \pm 0.14$ ; KET 100:  $36.46 \pm 0.20$ ; 15 min: KET 50:  $37.77 \pm 0.33$ ; KET 100:  $36.32 \pm 0.21$ ; 20 min: KET 50:  $37.62 \pm 0.36$ ; KET 100:  $36.48 \pm 0.36$ ), quando comparado ao grupo controle (5 min:  $35.58 \pm 0.07$ ; 10 min:  $35.63 \pm 0.12$ ; 15 min:  $35.56 \pm 0.07$ ; 20 min:  $35.67 \pm 0.12$ ) [ $F(4.57) = 105.72$ ,  $p < 0.0001$ ] (fig. 11B).



**Figura 11: Poder espectral médio da banda gama low no hipocampo de ratos em tratamento agudo (A) ou tratamento em doses repetidas por 10 dias (B) de cetamina (10, 50 ou 100 mg/kg).** Cada barra representa a média  $\pm$  SEM. Para todas as análises,  $p < 0.05$  foi considerado significativo. Two-way ANOVA, seguido do teste de Bonferroni como post hoc.

Na banda gama high, os resultados do poder espectral médio foram aumentados por tratamento agudo ou em doses repetidas com cetamina apenas com a maior dose (100 mg/kg) [1º dia (5 min:  $70.48 \pm 0.35$ , 10 min:  $70.53 \pm 0.31$ ; 15 min:  $70.69 \pm 0.33$ ; 20 min:  $70.58 \pm 0.40$ ); 10º dia (5 min:  $71.20 \pm 0.26$ ; 10 min:  $71.18 \pm 0.25$ ; 15 min:  $71.20 \pm 0.25$ ; 20 min:  $71.21 \pm 0.25$ )], quando comparados ao grupo controle no 1º dia (5 min:  $69.40 \pm 0.09$ ; 10 min:  $69.46 \pm 0.16$  ; 15 min:  $69.44 \pm 0.10$ ; 20 min:  $69.44 \pm 0.19$  [ $F(4.81) = 37.04$ ,  $p < 0.0001$ ]) ou 10º dia (5 min:  $69.42 \pm 0.36$ ; 10 min:  $69.44 \pm 0,35$ ; 15 min:  $69.36 \pm 0.16$ ; 20 min:  $69.41 \pm 0.12$  [ $F(4.71) = 36.67$ ,  $p < 0.0001$ ]) (fig. 12).

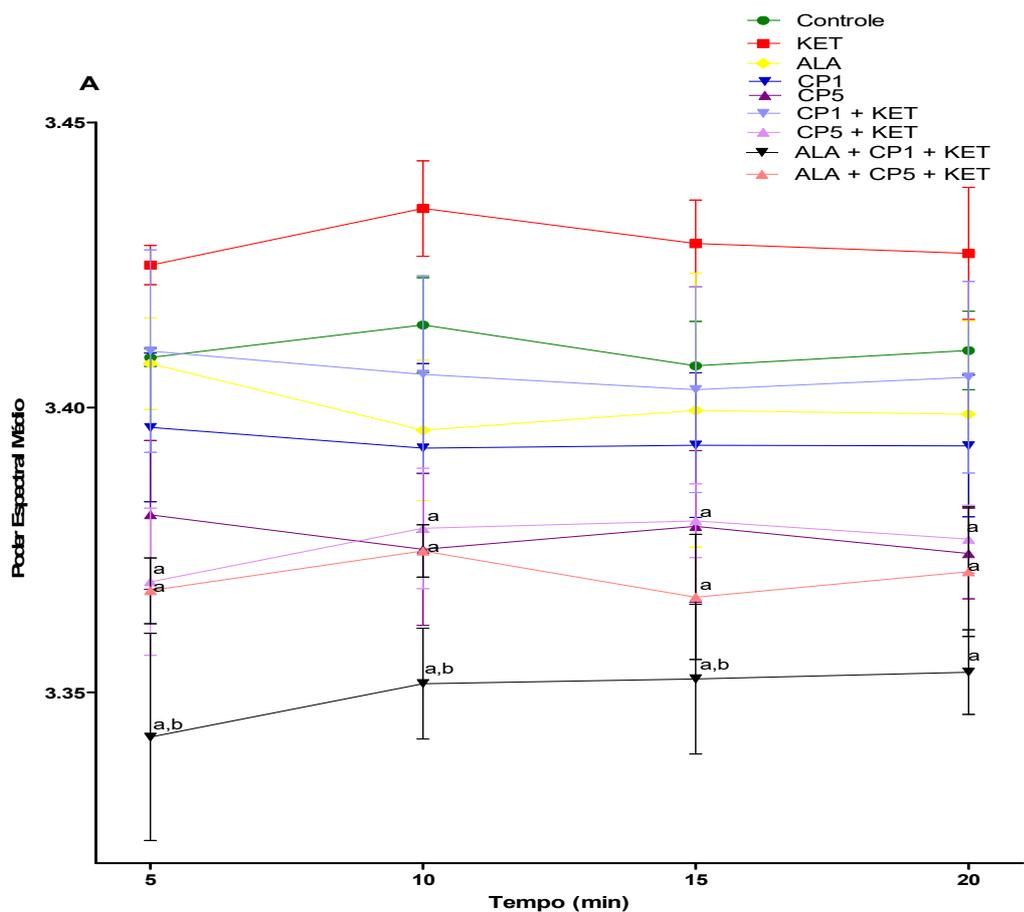


**Figura 12: Poder espectral médio da banda gama high no hipocampo de ratos em tratamento agudo (A) ou tratamento em doses repetidas por 10 dias (B) de cetamina (10, 50 ou 100 mg/kg).** Cada barra representa a média  $\pm$  SEM. Para todas as análises,  $p < 0.05$  foi considerado significativo. Two-way ANOVA, seguido do teste de Bonferroni como post hoc.

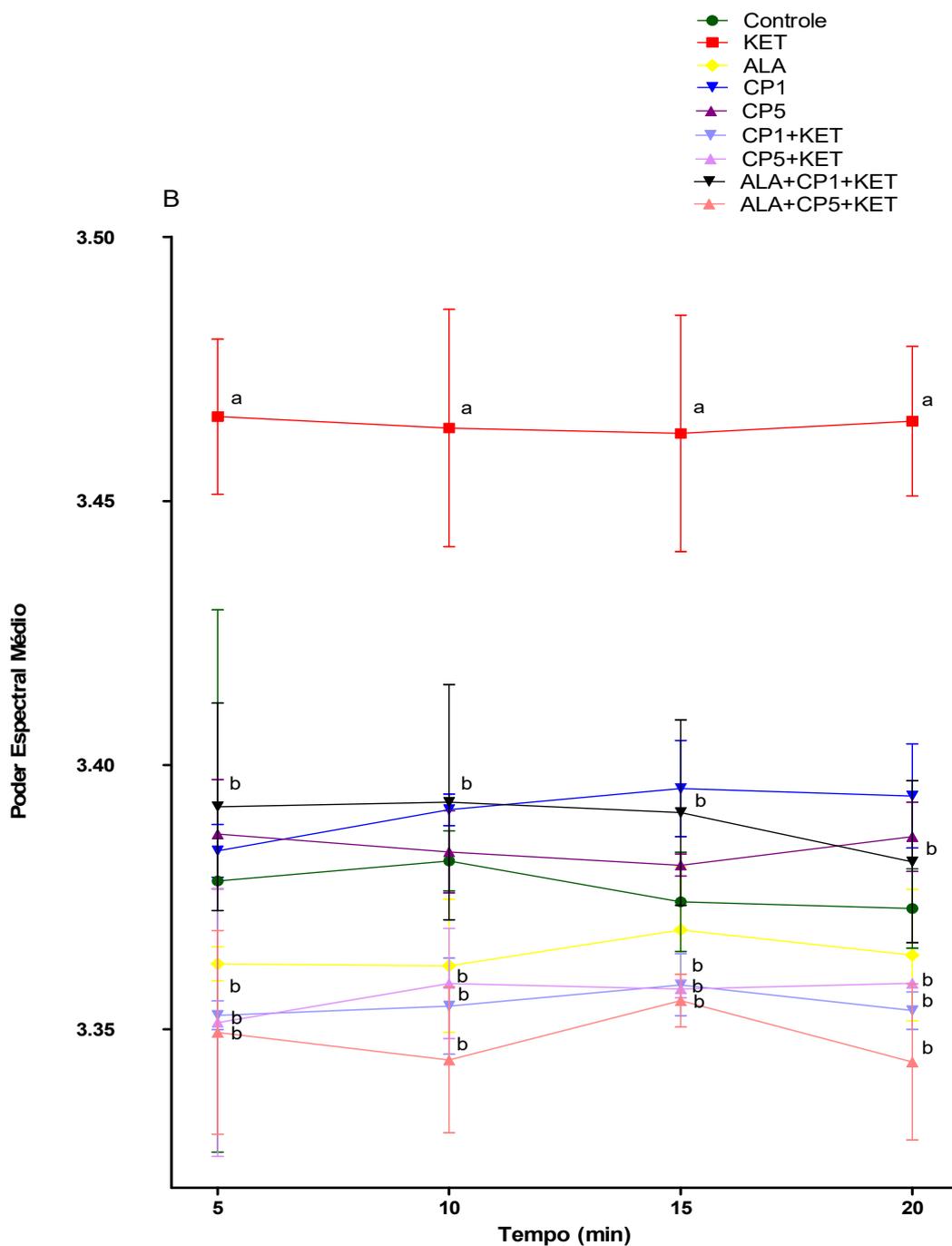
### 5.1.2 Alterações no poder espectral médio hipocampal pela clorpromazina no modelo de esquizofrenia induzido pela cetamina

Os resultados mostraram diminuição no poder espectral média de banda delta após o tratamento agudo de CP5+KET, em todos os tempos observados (5 min:  $3.36 \pm 0.01$ ; 10 min:  $3.37 \pm 0.01$ ; 15 min:  $3.38 \pm 0.00$ ; 20 min:  $3.37 \pm 0.00$ ), quando comparada com o grupo tratado com KET (5 min:  $3.42 \pm 0.00$ ; 10 min:  $3.43 \pm 0.00$ ; 15 min:  $3.42 \pm 0.00$ ; 20 min:  $3.42 \pm 0.01$ ) [ $F(9.24) = 13.10$ ,  $p < 0.0001$ ]. Achados semelhantes também foram observados para a banda delta no CP1 [ALA+CP1+KET: 5 min:  $3.34 \pm 0.01$ ; 10 min:  $3.35 \pm 0.00$ ; 15 min:  $3.35 \pm 0.01$ ; 20 min:  $3.35 \pm 0.00$ ] ou CP5 [ALA+CP5+KET: 5 min:  $3.36 \pm 0.00$ ; 10 min:  $3.37 \pm 0.00$ ; 15 min:  $3.36 \pm 0.01$ ; 20 min:  $3.37 \pm 0.01$ ]. No entanto, redução no poder espectral média de banda delta promovido pela associação de CP1 com ALA (ALA+CP1+KET) foi menor do que com o grupo CP1 sem ALA (CP1+KET) no quinto, décimo e décimo quinto minuto (fig. 13A).

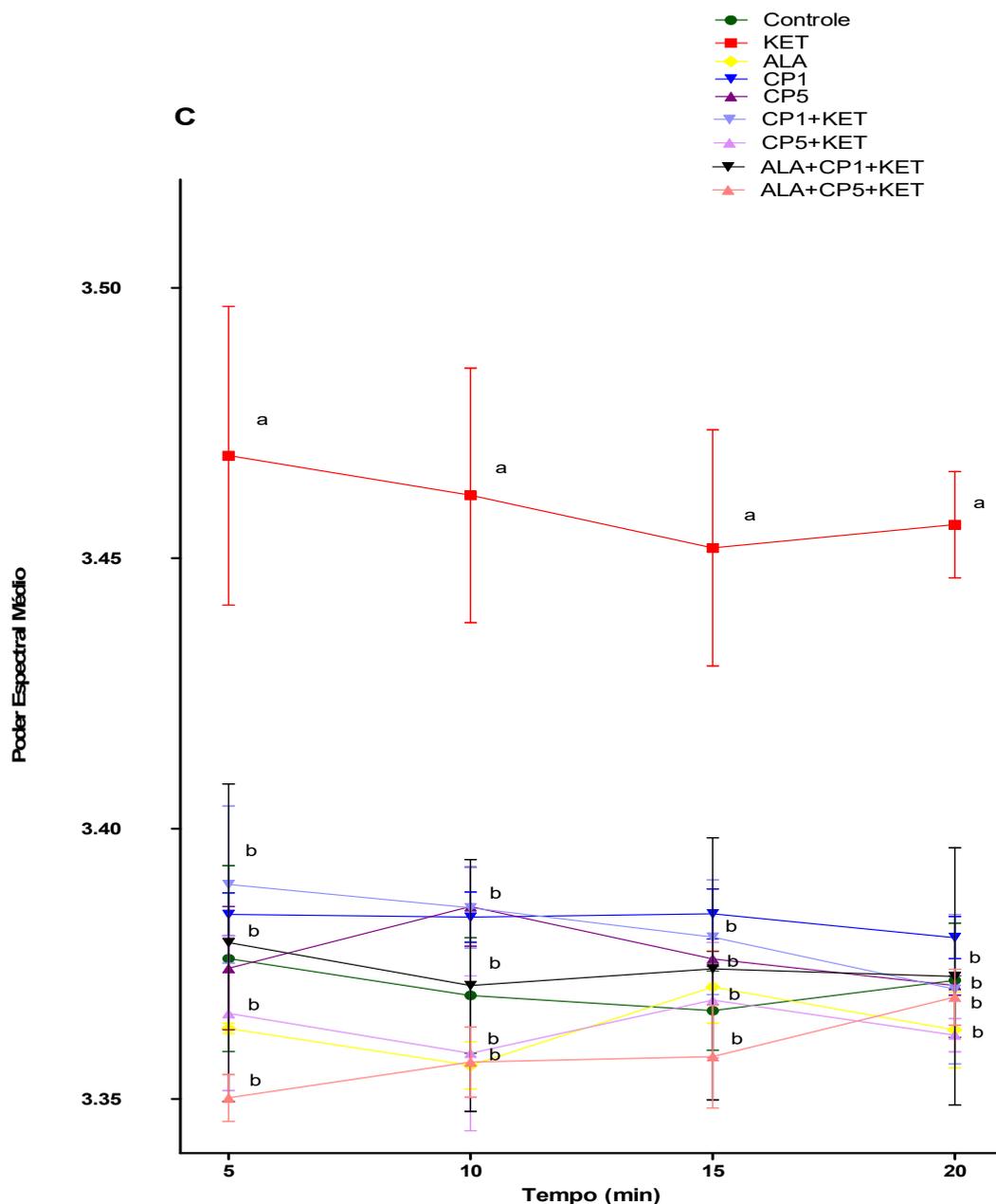
Na administração por 5 ou 10 dias, KET promoveu aumento no poder espectral médio da banda delta em todos os tempos estudados [5º dia (5 min:  $3.46 \pm 0.01$ ; 10 min:  $3.46 \pm 0.02$ ; 15 min:  $3.46 \pm 0.02$ ; 20 min:  $3.46 \pm 0.01$ ) ou 10º dia (5 min:  $3.46 \pm 0.02$ ; 10 min:  $3.46 \pm 0.02$ ; 15 min:  $3.45 \pm 0.02$ ; 20 min:  $3.45 \pm 0.00$ )], quando comparado ao grupo controle (5º [ $F(9.24) = 20.99$ ,  $p < 0.0001$ ] ou 10º dia [ $F(9.24) = 14.09$ ,  $p < 0.0001$ ]) (Fig. 20B e 20C). Esse aumento promovido pela cetamina (5º ou 10º dia) foi revertido pelas associações, de maneira semelhante, CP1+KET; CP5+KET; ALA+CP1+KET; ALA+CP5+KET em todos os tempos observados (fig. 13B e 13C).



**Figura 13A: Poder espectral médio da banda delta no hipocampo de ratos em tratamento agudo com solução salina (controle) ou ácido lipóico (100 mg/kg) ou cetamina (10 mg/kg) ou clorpromazina (1 ou 5 mg/kg) sozinho ou associado com cetamina com ou sem ácido lipóico.** Cada barra representa a média  $\pm$  SEM. a, b, quando comparado aos grupos KET e CP1+KET, respectivamente. Para todas as análises,  $p < 0.05$  foi considerado significativo. Two-way ANOVA, seguido do teste de Bonferroni como post hoc.

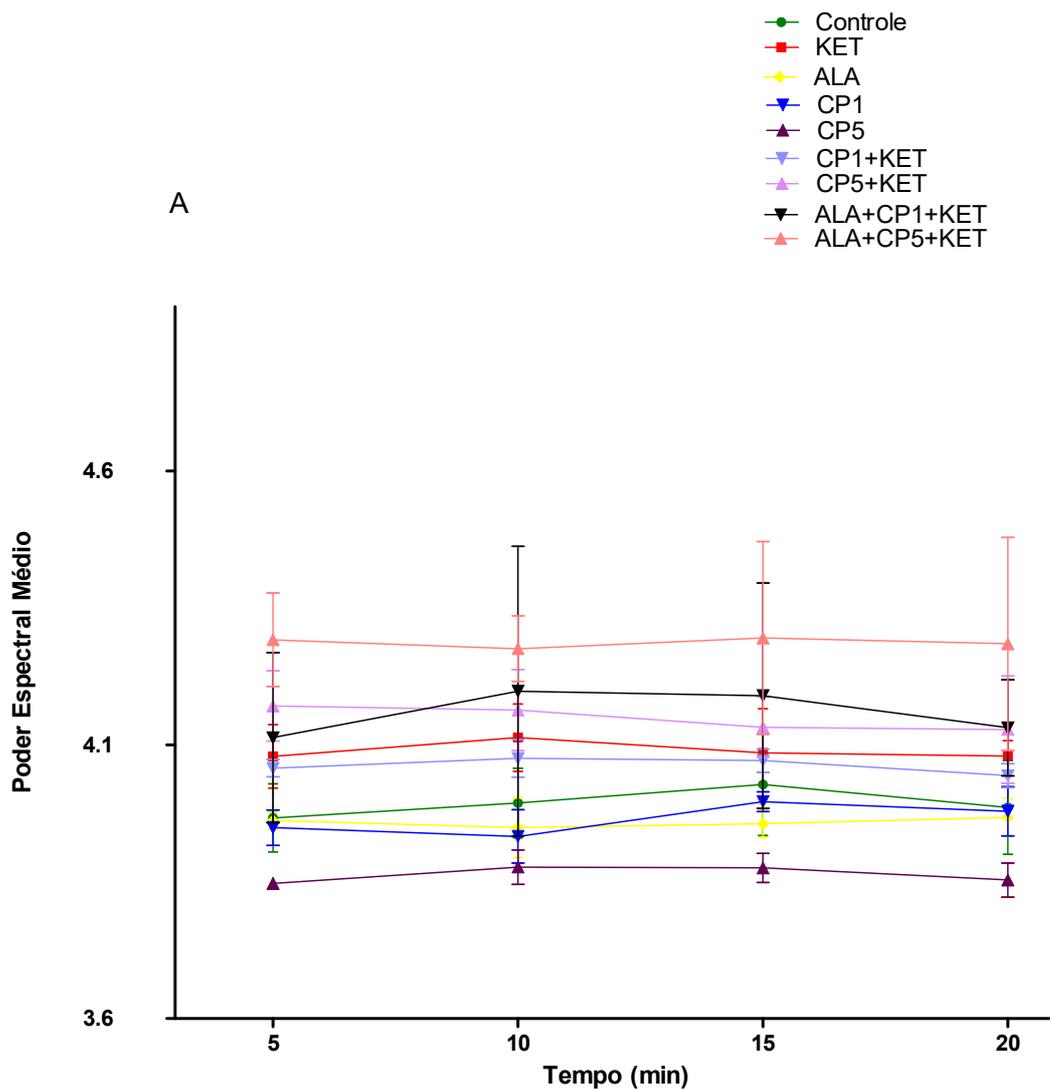


**Figura 13B: Poder espectral médio da banda delta no hipocampo de ratos em tratamento com doses repetidas por 5 dias com solução salina (controle) ou ácido lipóico (100 mg/kg) ou cetamina (10 mg/kg) ou clorpromazina (1 ou 5 mg/kg) sozinho ou associado com cetamina com ou sem ácido lipóico. Cada barra representa a média  $\pm$  SEM. . a, b, quando comparado aos grupos controle e KET, respectivamente. Para todas as análises,  $p < 0.05$  foi considerado significativo. Two-way ANOVA, seguido do teste de Bonferroni como post hoc.**



**Figura 13C: Poder espectral médio da banda delta no hipocampo de ratos em tratamento com doses repetidas por 10 dias com solução salina (controle) ou ácido lipóico (100 mg/kg) ou cetamina (10 mg/kg) ou clorpromazina (1 ou 5 mg/kg) sozinho ou associado com cetamina com ou sem ácido lipóico. Cada barra representa a média  $\pm$  SEM. a, b, quando comparado aos grupos controle e KET, respectivamente. Para todas as análises,  $p < 0.05$  foi considerado significativo. Two-way ANOVA, seguido do teste de Bonferroni como post hoc.**

Não foram observados efeitos no poder espectral médio da banda teta em qualquer grupo estudado, no 1º ou 5º ou 10º dia de tratamento (fig. 14A, 14B e 14C). Com exceção de um aumento observado no quinto dia para ALA+CP5+KET (5 min:  $4.86 \pm 0.21$ ; 10 min:  $4.92 \pm 0.17$ ; 15 min:  $4.95 \pm 0.11$ ; 20 min:  $4.89 \pm 0.07$ ), comparado ao grupo KET [ $F(9.24) = 39.15$ ,  $p < 0.0001$ ] (fig. 14B).



**Figura 14A: Poder espectral médio da banda teta no hipocampo de ratos em tratamento agudo com solução salina (controle) ou ácido lipóico (100 mg/kg) ou cetamina (10 mg/kg) ou clorpromazina (1 ou 5 mg/kg) sozinho ou associado com cetamina com ou sem ácido lipóico.** Cada barra representa a média  $\pm$  SEM. Para todas as análises,  $p < 0.05$  foi considerado significativo. Two-way ANOVA, seguido do teste de Bonferroni como post hoc.

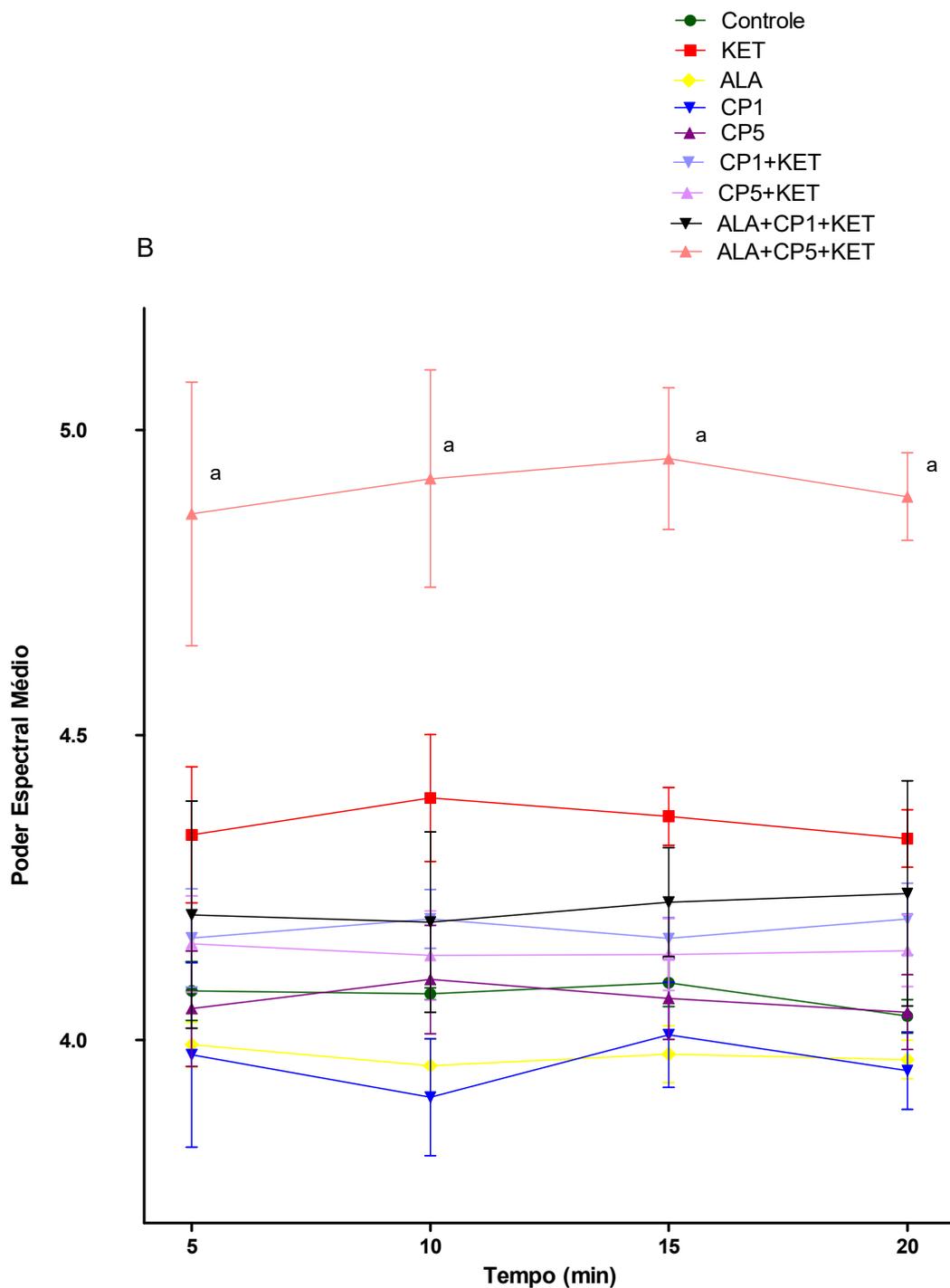
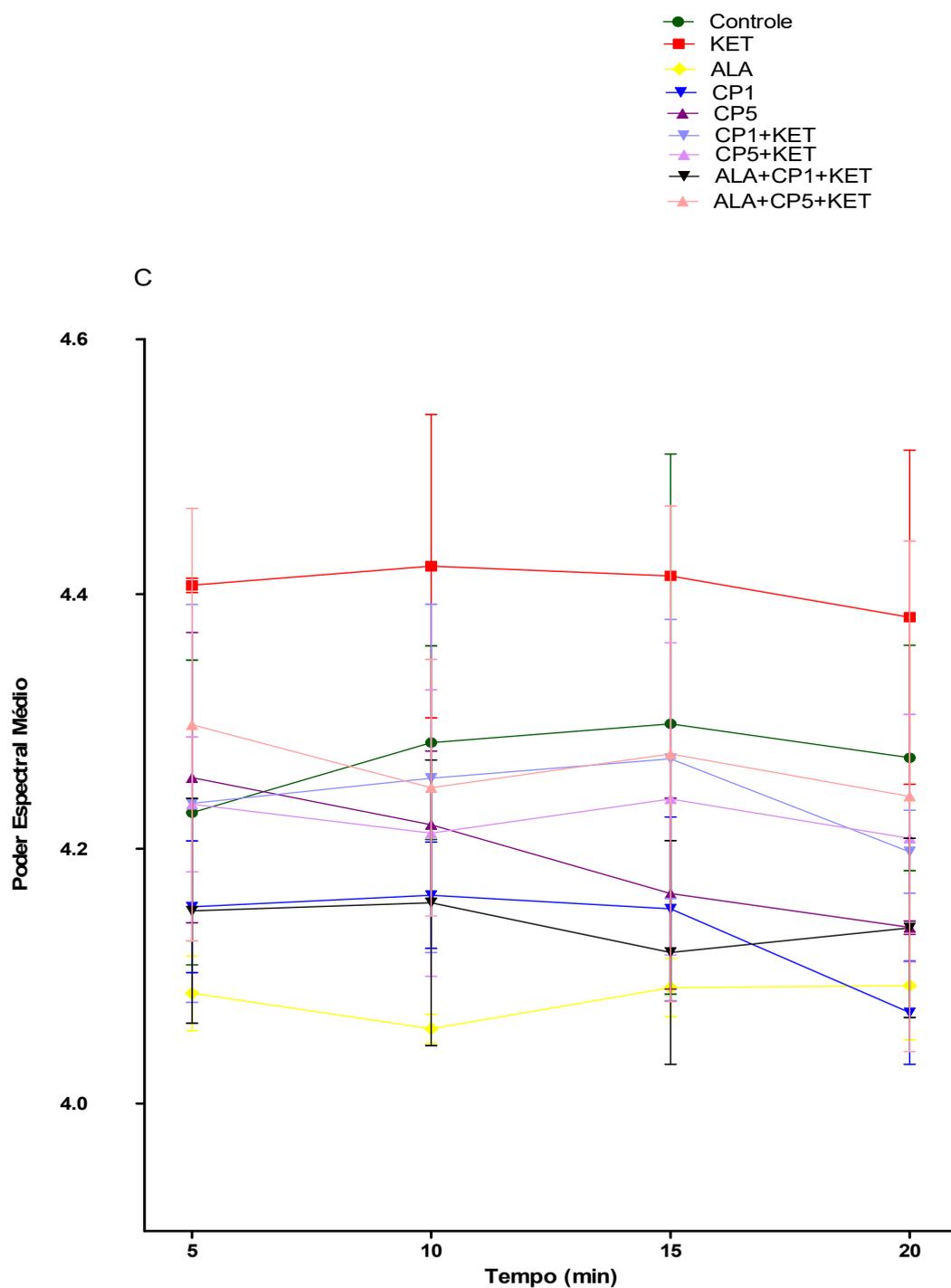


Figura 14B: Poder espectral médio da banda teta no hipocampo de ratos em tratamento com doses repetidas por 5 dias com solução salina (controle) ou ácido lipóico (100 mg/kg) ou cetamina (10 mg/kg) ou clorpromazina (1 ou 5 mg/kg) sozinho ou associado com cetamina com ou sem ácido lipóico. Cada barra representa a média  $\pm$  SEM. a quando comparado ao grupo KET. Para todas as análises,  $p < 0.05$  foi considerado significativo. Two-way ANOVA, seguido do teste de Bonferroni como post hoc.

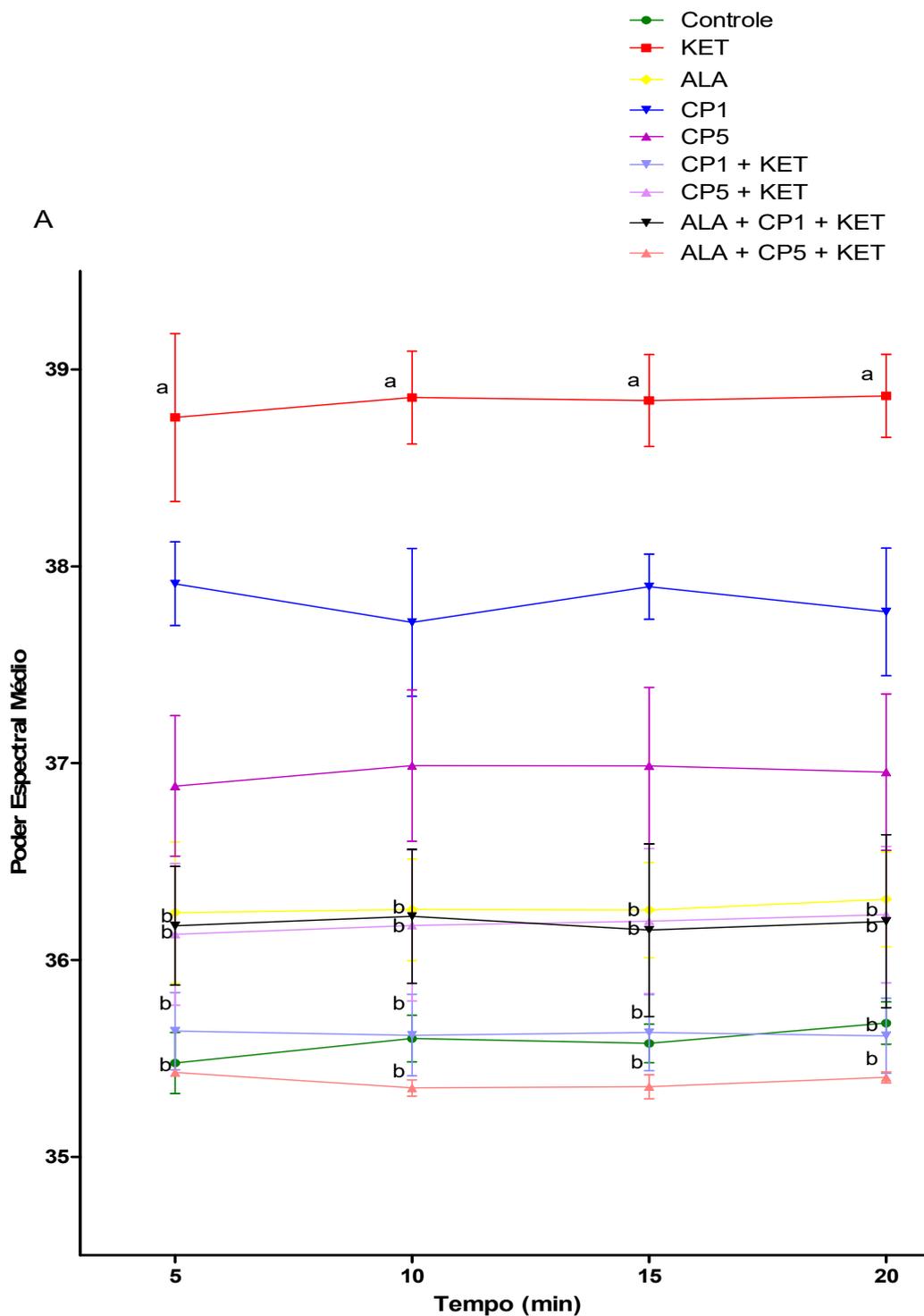


**Figura 14C: Poder espectral médio da banda teta no hipocampo de ratos em tratamento com doses repetidas por 10 dias com solução salina (controle) ou ácido lipóico (100 mg/kg) ou cetamina (10 mg/kg) ou clorpromazina (1 ou 5 mg/kg) sozinho ou associado com cetamina com ou sem ácido lipóico. Cada barra representa a média  $\pm$  SEM. Para todas as análises,  $p < 0.05$  foi considerado significativo. Two-way ANOVA, seguido do teste de Bonferroni como post hoc.**

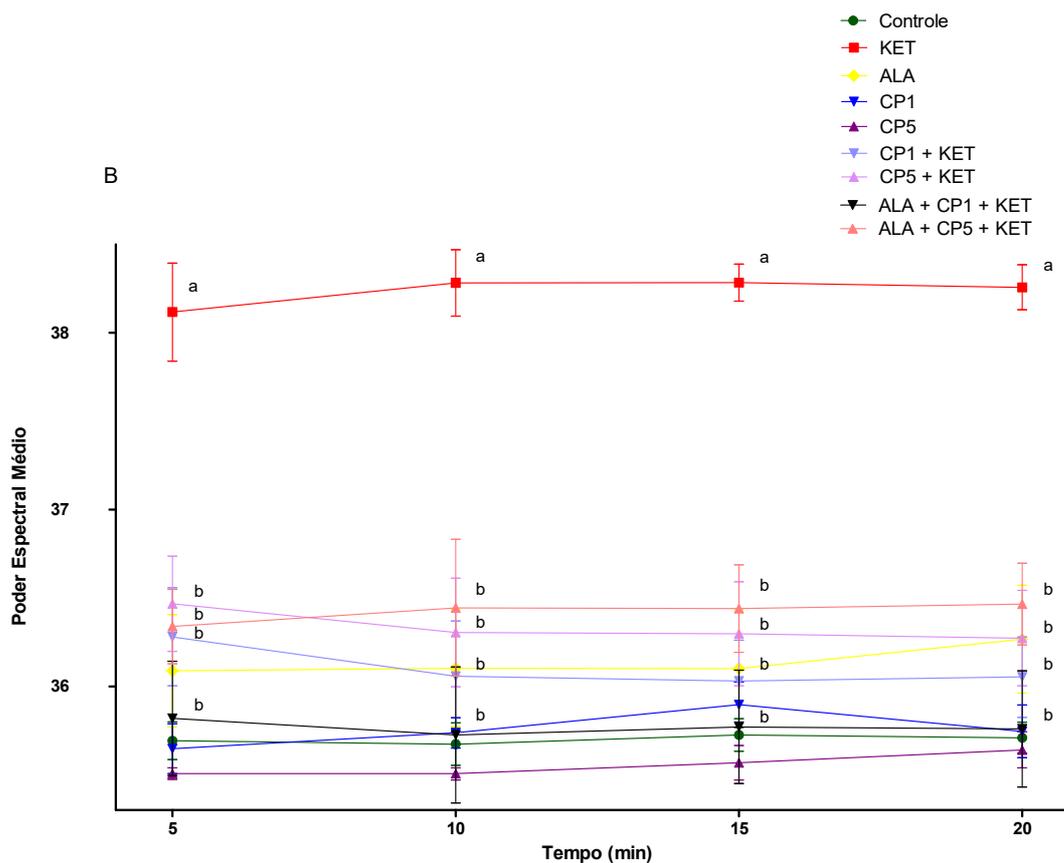
O poder espectral média da banda gama low foi aumentado após a administração de cetamina no 1º (5 min:  $38.76 \pm 0.42$ ; 10 min:  $38.86 \pm 0.23$ ; 15 min:  $38.84 \pm 0.23$ ; 20 min:  $38.87 \pm 0.21$ ), 5º (5 min:  $38.12 \pm 0.27$ ; 10 min:  $38.28 \pm 0.18$ ; 15 min:  $38.28 \pm 0.10$ ; 20 min:  $38.26 \pm 0.12$ ) ou 10º dia (5 min:  $38.54 \pm 0.72$ ; 10 min:  $38.43 \pm 0.70$ ; 15 min:  $38.48 \pm 0.72$ ; 20 min:  $38.74 \pm 0.64$ ), em relação ao grupo controle no 1º [ $F(9.24) = 40.53$ ,  $p < 0.0001$ ] ou 5º [ $F(9.24) = 39.58$ ,  $p < 0.0001$ ] ou 10º dia [ $F(9.24) = 72.32$ ,  $p < 0.0001$ ] (fig. 15A, 15B e 15C).

O aumento promovido pela cetamina foi revertido pela associação de clorpromazina com cetamina, em ambas as doses estudadas no 1º dia [CP1+KET (5 min:  $35.64 \pm 0.19$ ; 10 min:  $35.62 \pm 0.20$ ; 15 min:  $35.63 \pm 0.19$ ; 20 min:  $35.61 \pm 0.19$ ) ou CP5+KET (5 min:  $36.13 \pm 0.35$ ; 10 min:  $36.18 \pm 0.38$ ; 15 min:  $36.20 \pm 0.36$ ; 20 min:  $36.23 \pm 0.34$ )], 5º dia [CP1+KET (5 min:  $36.28 \pm 0.27$ ; 10 min:  $36.06 \pm 0.31$ ; 15 min:  $36.03 \pm 0.23$ ; 20 min:  $36.05 \pm 0.22$ ) ou CP5+KET (5 min:  $36.47 \pm 0.26$ ; 10 min:  $36.30 \pm 0.30$ ; 15 min:  $36.30 \pm 0.29$ ; 20 min:  $36.27 \pm 0.27$ )] ou 10º dia de tratamento [CP1+KET (5min:  $37.55 \pm 0.17$ ; 15 min:  $37.42 \pm 0.18$ ; 20 min:  $37.44 \pm 0.20$ ) ou CP5+KET (5 min:  $35.56 \pm 0.07$ ; 10 min:  $35.56 \pm 0.08$ ; 15 min:  $35.57 \pm 0.09$ ; 20 min:  $35.57 \pm 0.08$ )].

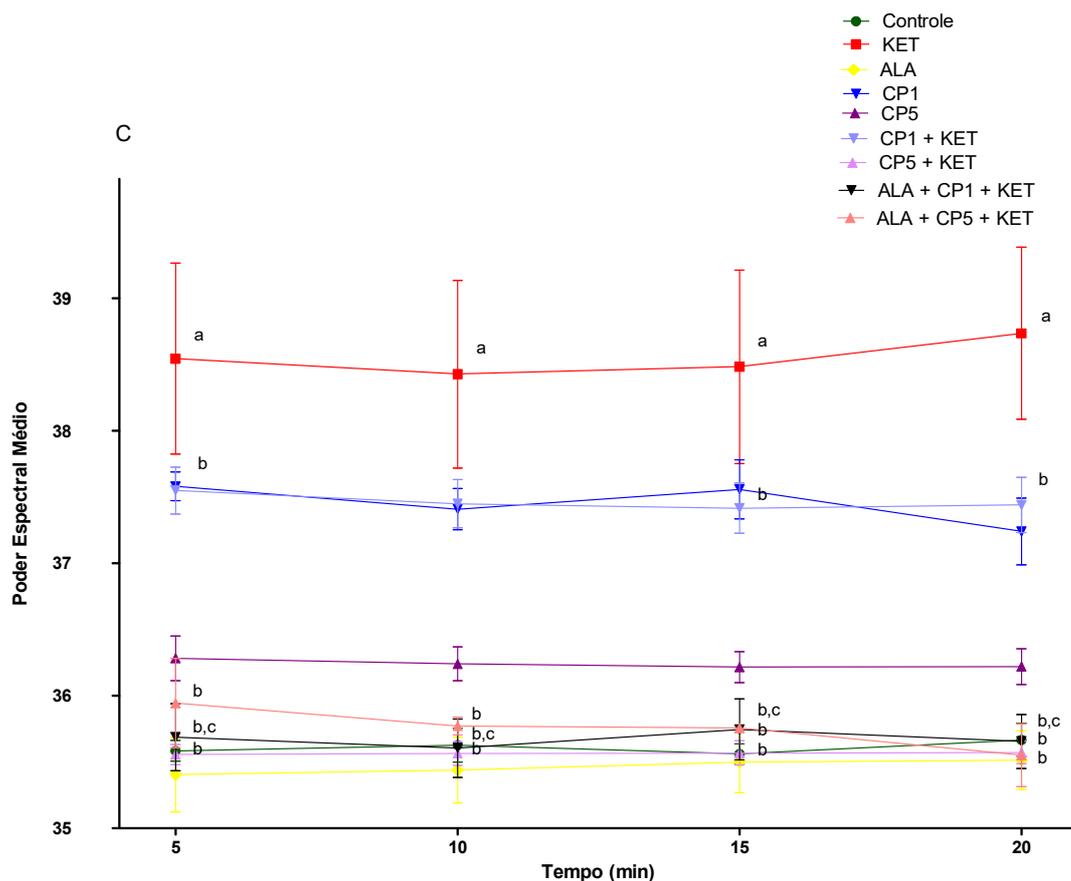
Foi observado efeito semelhante na associação de ácido lipóico, clorpromazina (1 ou 5 mg/kg) e cetamina no 1º dia [ALA+CP1+KET (5 min:  $36.17 \pm 0.30$ ; 10 min:  $36.22 \pm 0.34$ ; 15 min:  $36.15 \pm 0.43$ ; 20 min:  $36.20 \pm 0.43$ ) ou ALA+CP5+KET (5 min:  $35.43 \pm 0.01$ ; 10 min:  $35.35 \pm 0.04$ ; 15 min:  $35.36 \pm 0.06$ ; 20 min:  $35.40 \pm 0.02$ )], 5º dia [ALA+CP1+KET (5 min:  $35.82 \pm 0.32$ ; 10 min:  $35.72 \pm 0.38$ ; 15 min:  $35.77 \pm 0.32$ ; 20 min:  $35.76 \pm 0.32$ ) ou ALA+CP5+KET (5 min:  $36.34 \pm 0.21$ ; 10 min:  $36.44 \pm 0.38$ ; 15 min:  $36.44 \pm 0.24$ ; 20 min:  $36.46 \pm 0.23$ )] ou 10º dia de tratamento [ALA+CP1+KET (5 min:  $35.69 \pm 0.25$ ; 10 min:  $35.61 \pm 0.22$ ; 15 min:  $35.75 \pm 0.22$ ; 20 min:  $35.66 \pm 0.20$ ) ou ALA+CP5+KET (5 min:  $35.94 \pm 0.33$ ; 10 min:  $35.77 \pm 0.06$ ; 15 min:  $35.76 \pm 0.00$ ; 20 min:  $35.55 \pm 0.23$ )]. A diminuição no poder espectral médio da banda gama low no 10º dia de tratamento, promovido pela associação de ALA+CP1+KET, foi inferior ao observado por CP1+KET (fig. 15A, 15B e 15C).



**Figura 15A: Poder espectral médio da banda gama low no hipocampo de ratos em tratamento agudo com solução salina (controle) ou ácido lipóico (100 mg/kg) ou cetamina (10 mg/kg) ou clorpromazina (1 ou 5 mg/kg) sozinho ou associado com cetamina com ou sem ácido lipóico.** Cada barra representa a média  $\pm$  SEM. a, b quando comparado aos grupos controle e KET, respectivamente. Para todas as análises,  $p < 0.05$  foi considerado significativo. Two-way ANOVA, seguido do teste de Bonferroni como post hoc.



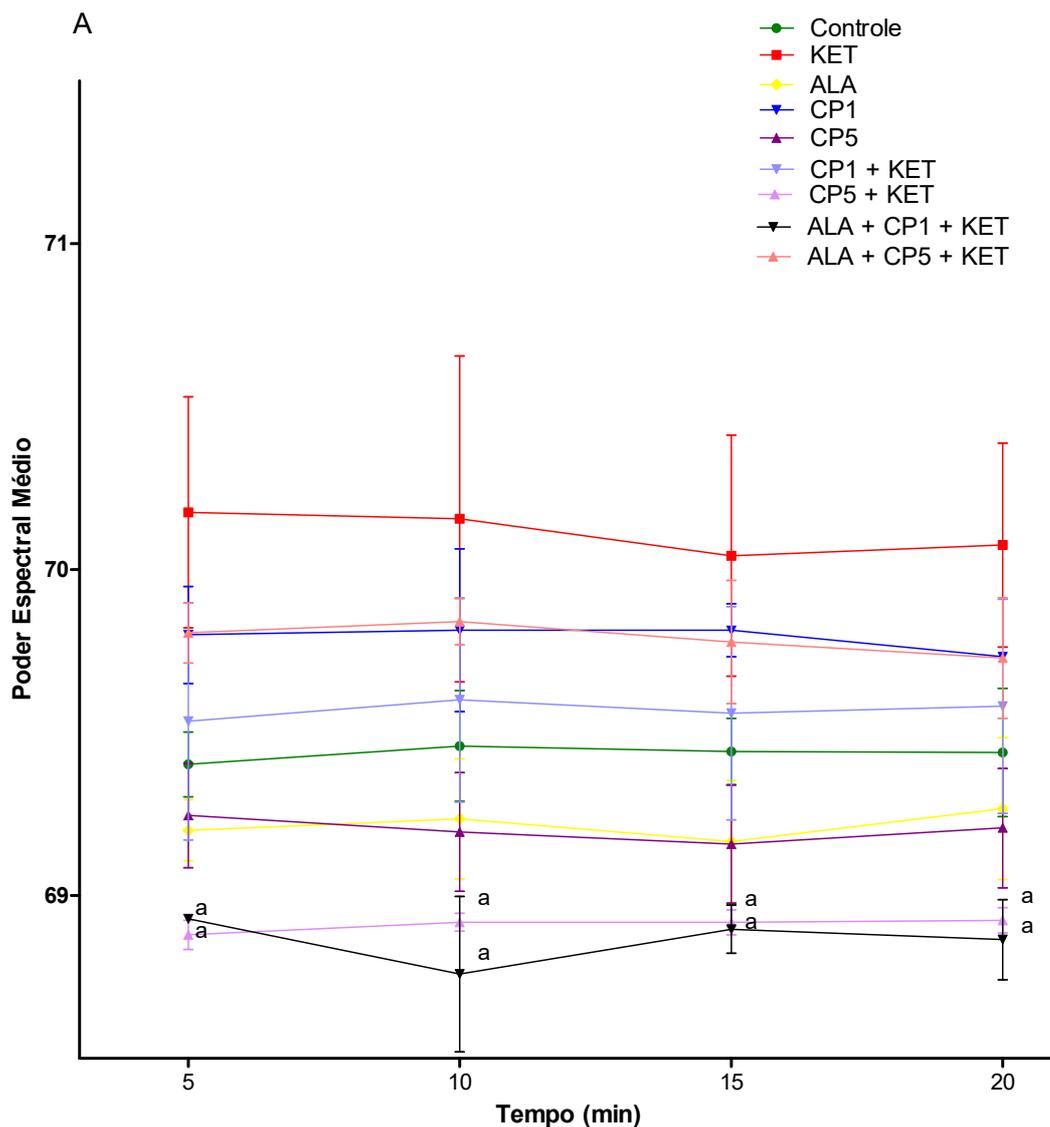
**Figura 15B: Poder espectral médio da banda gama low no hipocampo de ratos em tratamento com doses repetidas por 5 dias com solução salina (controle) ou ácido lipóico (100 mg/kg) ou cetamina (10 mg/kg) ou clorpromazina (1 ou 5 mg/kg) sozinho ou associado com cetamina com ou sem ácido lipóico. Cada barra representa a média  $\pm$  SEM. a, b, quando comparado aos grupos controle, KET, respectivamente. Para todas as análises,  $p < 0.05$  foi considerado significante. Two-way ANOVA, seguido do teste de Bonferroni como post hoc.**



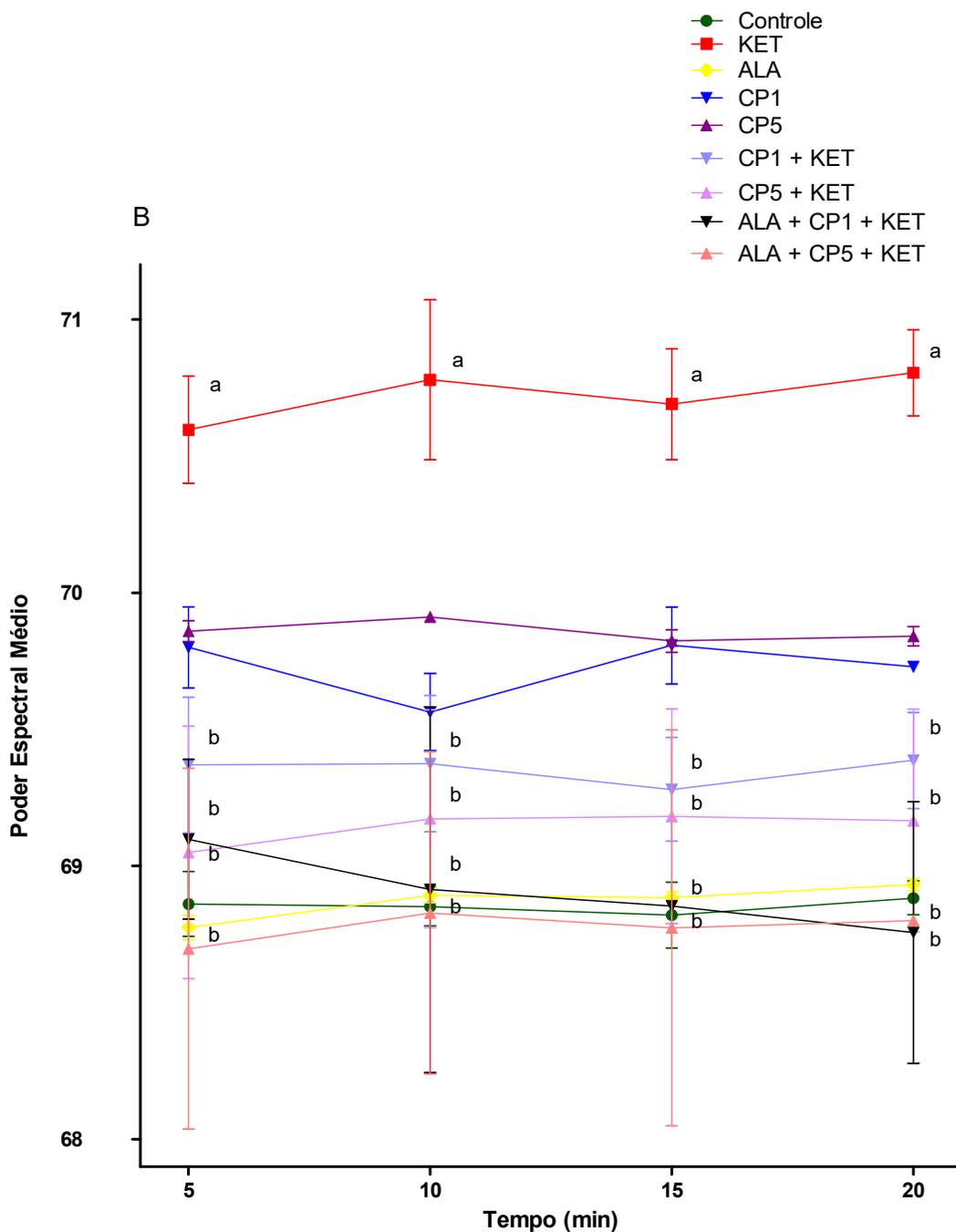
**Figura 15C: Poder espectral médio da banda gama low no hipocampo de ratos em tratamento com doses repetidas por 10 dias com solução salina (controle) ou ácido lipóico (100 mg/kg) ou cetamina (10 mg/kg) ou clorpromazina (1 ou 5 mg/kg) sozinho ou associado com cetamina com ou sem ácido lipóico. Cada barra representa a média  $\pm$  SEM. a, b, c, quando comparado aos grupos controle, KET, CP1+KET respectivamente. Para todas as análises,  $p < 0.05$  foi considerado significativo. Two-way ANOVA, seguido do teste de Bonferroni como post hoc.**

Para banda gama high, houve redução no poder espectral médio no primeiro dia de tratamento com CP5+KET (5 min:  $68.88 \pm 0.04$ ; 10 min:  $68.92 \pm 12.02$ ; 15 min:  $68.92 \pm 0.03$ ; 20 min:  $68.92 \pm 0.03$ ) ou ALA+CP1+KET (5 min:  $68.93 \pm 0.00$ ; 10 min:  $68.76 \pm 0.23$ ; 15 min:  $68.90 \pm 0.07$ ; 20 min:  $68.86 \pm 0.12$ ) em relação ao grupo KET [ $F(9.24) = 11.16$ ,  $p < 0.0001$ ] (fig. 16A). No entanto, aumento na oscilação da banda gama high foi obtido com administração de KET em doses repetidas no 5º dia (5 min:  $70.60 \pm 12.19$ ; 10 min:  $70.78 \pm 12.29$ ; 15 min:  $70.69 \pm 0.20$ ; 20 min:  $70.80 \pm 0.15$ ) ou 10º dia (5 min:  $70.56 \pm 0.19$ ; 10 min:  $70.50 \pm 0.29$ ; 15 min:  $70.60 \pm 0.20$ ; 20 min:  $70.73 \pm 0.15$ ), em relação ao grupo controle no 5º [ $F(9.24) = 18.97$ ,  $p < 0.0001$ ] ou 10º dia [ $F(9.24) = 9.28$ ,  $p < 0.0001$ ] (fig. 16B e 16C). Este aumento promovido pela cetamina foi revertido pela associação de clorpromazina com cetamina no 5º [CP1+KET (5 min:  $69.37 \pm 0.24$ ; 10 min:  $69.37 \pm 0.24$ ; 15 min:  $69.28 \pm 0.18$ ; 20 min:  $69.39 \pm 0.17$ ) ou CP5+KET (5 min:  $69.05 \pm 12.46$ ; 10 min:  $69.17 \pm 12.39$ ; 15 min:  $69.18 \pm 0.39$ ; 20 min:  $69.17 \pm 0.40$ )] ou 10º dia de tratamento [CP1+KET (5min:  $69.37 \pm 0.24$ ; 10 min:  $69.37 \pm 0.24$ ; 15 min:  $69.28 \pm 0.18$ ; 20 min:  $69.39 \pm 0.17$ )] (fig. 16A, 16B e 16C).

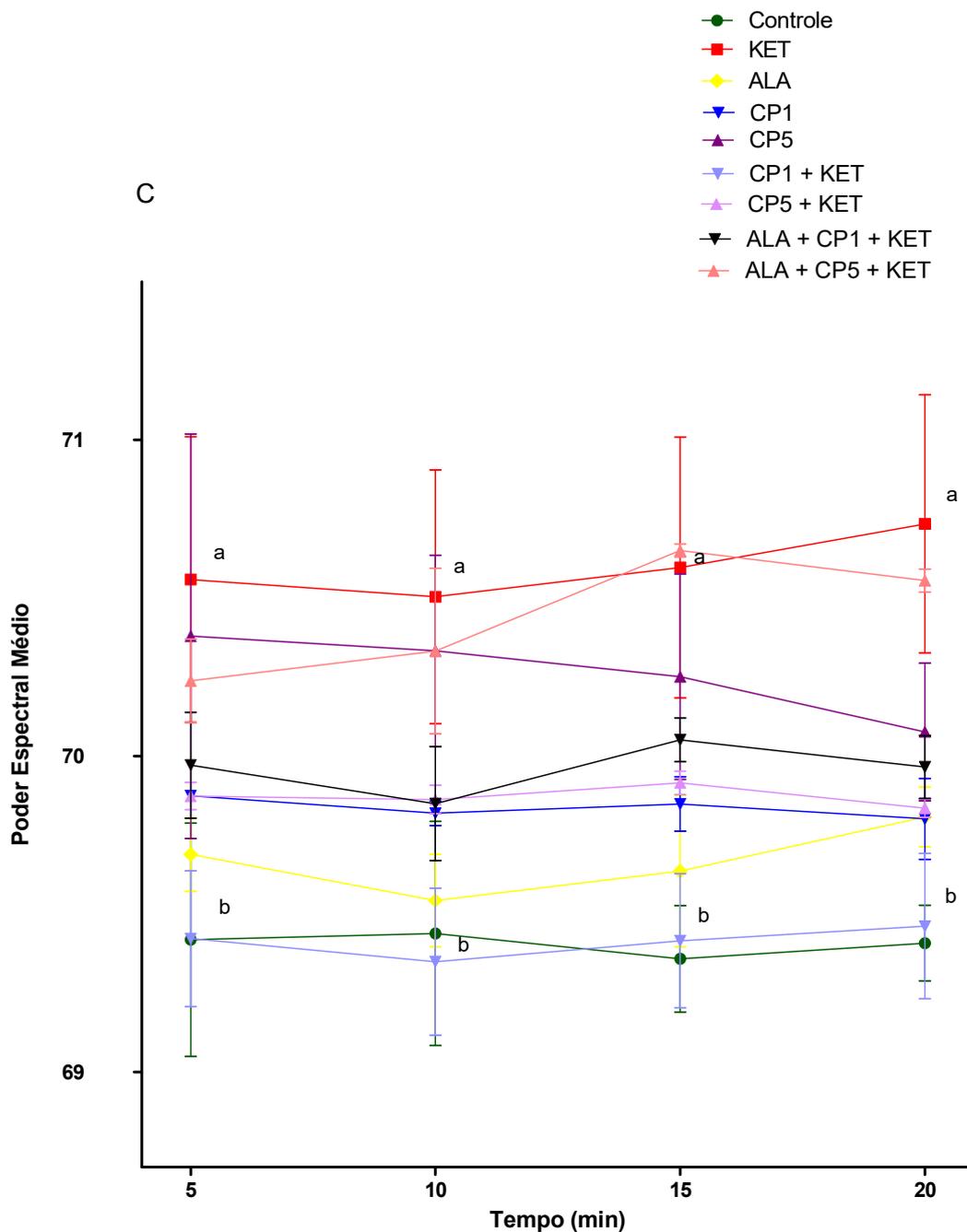
Foi observado efeito semelhante na associação de ácido lipóico, clorpromazina e cetamina apenas no 5º dia [ALA+CP1+KET (5 min:  $69.10 \pm 0.29$ ; 10 min:  $68.91 \pm 0.66$ ; 15 min:  $68.85 \pm 0.01$ ; 20 min:  $68.76 \pm 0.47$ ) ou ALA+CP5+KET (5 min:  $68.70 \pm 0.65$ ; 10 min:  $68.83 \pm 0.58$ ; 15 min:  $68.77 \pm 0.72$ ; 20 min:  $68.80 \pm 0.00$ )], em comparação com o grupo KET (fig. 16B).



**Figura 16A:** Poder espectral médio da banda gama high no hipocampo de ratos em tratamento agudo com solução salina (controle) ou ácido lipóico (100 mg/kg) ou cetamina (10 mg/kg) ou clorpromazina (1 ou 5 mg/kg) sozinho ou associado com cetamina com ou sem ácido lipóico. Cada barra representa a média  $\pm$  SEM. a, quando comparado ao grupo KET. Para todas as análises,  $p < 0.05$  foi considerado significativo. Two-way ANOVA, seguido do teste de Bonferroni como post hoc.



**Figura 16B:** Poder espectral médio da banda gama high no hipocampo de ratos em tratamento com doses repetidas por 5 dias com solução salina (controle) ou ácido lipóico (100 mg/kg) ou cetamina (10 mg/kg) ou clorpromazina (1 ou 5 mg/kg) sozinho ou associado com cetamina com ou sem ácido lipóico. Cada barra representa a média  $\pm$  SEM. a, b, quando comparado aos grupos controle, KET, respectivamente. Para todas as análises,  $p < 0.05$  foi considerado significativo. Two-way ANOVA, seguido do teste de Bonferroni como post hoc.



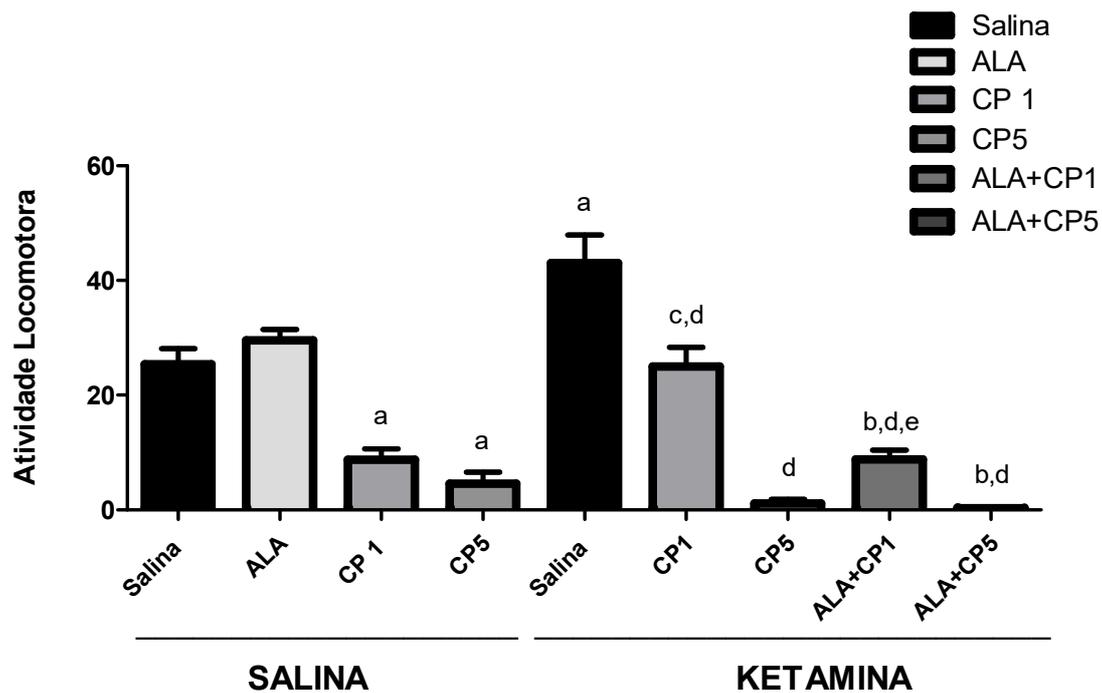
**Figura 16C: Poder espectral médio da banda gama high no hipocampo de ratos em tratamento com doses repetidas por 10 dias com solução salina (controle) ou ácido lipóico (100 mg/kg) ou cetamina (10 mg/kg) ou clorpromazina (1 ou 5 mg/kg) sozinho ou associado com cetamina com ou sem ácido lipóico. Cada barra representa a média  $\pm$  SEM. a, b, quando comparado aos grupos controle, KET, respectivamente. Para todas as análises,  $p < 0.05$  foi considerado significativo. Two-way ANOVA, seguido do teste de Bonferroni como post hoc.**

## 5.2 Testes Comportamentais

### 5.2.1 Atividade Locomotora

Diminuição da atividade locomotora dos animais foi observada após administração da clorpromazina sozinha, tanto na dose de 1 mg/kg ( $8.71 \pm 1.89$ ) quanto na dose de 5 mg/kg ( $4.60 \pm 1.96$ ), quando comparado ao grupo controle ( $25.38 \pm 2.77$ ) [ $F(9.64) = 35.33$ ,  $p < 0.0001$ ]. Por outro lado, administração de KET apresentou efeito oposto, elevando a ALE ( $43.00 \pm 4.96$ ). O efeito de KET foi revertido pelo pré-tratamento com clorpromazina em ambas as doses [CP1+KET ( $25.00 \pm 3.30$ ) ou CP5+KET ( $1.14 \pm 0.70$ )] ou pela associação ALA com clorpromazina [ALA+CP1+KET ( $8.75 \pm 1.65$ ) ou ALA+CP5+KET ( $0.25 \pm 0.25$ )] (fig. 17).

Interessantemente, a associação do ALA ao grupo CP1+KET melhorou a redução da ALE observada com o grupo CP1+KET sem ALA, quando comparado ao grupo KET sozinho (fig. 17).



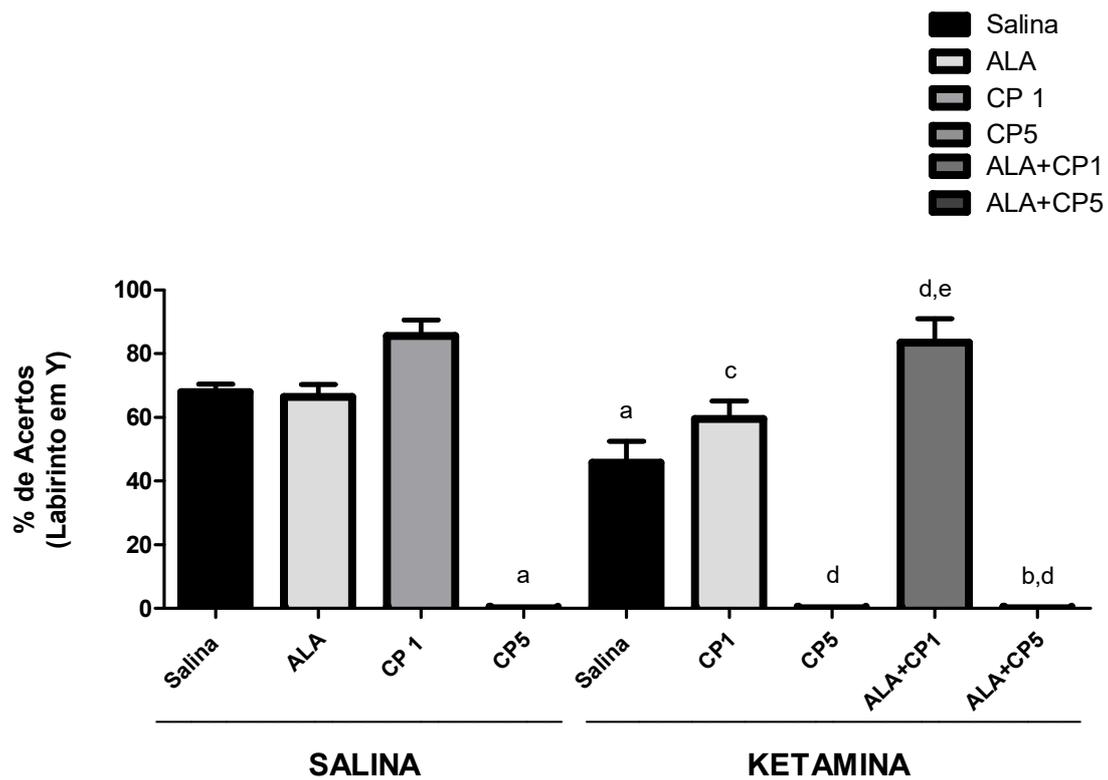
**Figura 17: Efeitos na atividade locomotora pela clorpromazina (1 ou 5 mg/kg) e ácido lipóico (100 mg/kg), sozinhos ou associados ao modelo de esquizofrenia induzido pela cetamina (10 mg/kg).** Cada barra representa a média  $\pm$  SEM. a, b, c, d, e, quando comparado aos grupos controle, ALA, CP1, KET, CP1+KET, respectivamente.  $P < 0.05$  usando Two-way ANOVA e teste de Tukey como post hoc.

### 5.2.2 Y-maze

A percentagem de acertos no labirinto em Y dos animais tratados por oito dias com clorpromazina na dose de 5 m/kg ( $0.11 \pm 0.11$ ) foi diminuída quando comparado ao grupo controle ( $67.84 \pm 2.66$ ) [ $F(9.61) = 83.55$ ,  $p < 0.0001$ ]. Efeito semelhante foi observado após administrações repetidas de KET ( $45.82 \pm 6.66$ ), quando comparado ao grupo controle (fig. 18).

Nos grupos associados, a presença da clorpromazina na maior dose (CP5) diminuiu o número de acertos, tanto na associação KET+CP5 ( $0.12 \pm 0.12$ ) quanto na presença de ALA ( $0.11 \pm 0.11$ ), se comportando de maneira semelhante ao CP5 sozinho (fig. 18).

Quanto ao CP na menor dose, foi observada diferença da CP associada ao KET ( $59.53 \pm 5.58$ ), quando comparada ao grupo KET. Por outro lado, a adição do ALA a este grupo ( $83.43 \pm 7.49$ ) aumentou a percentagem de acertos, quando comparado ao grupo KET sozinho ou KET+CP1 (fig. 18).



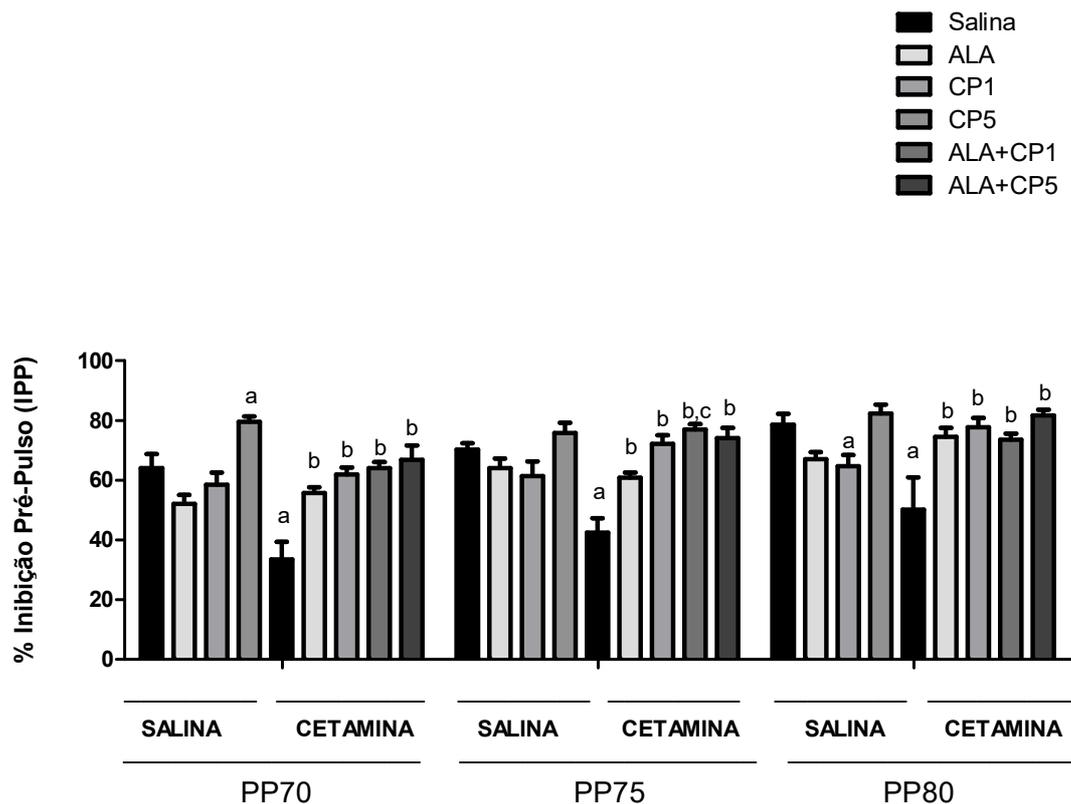
**Figura 18: Efeitos na porcentagem de acertos pela clorpromazina (1 ou 5 mg/kg) e ácido lipóico (100 mg/kg), sozinhos ou associados ao modelo de esquizofrenia induzido pela cetamina (10 mg/kg).** Cada barra representa a média  $\pm$  SEM. a, b, c, d, e, quando comparado aos grupos controle, ALA, CP1, KET, CP1+KET, respectivamente.  $P < 0.05$  usando Two-way ANOVA e teste de Tukey como post hoc.

### 5.2.3 Inibição pré-pulso (IPP)

Os resultados mostraram que a administração em doses repetidas de cetamina, por 10 dias, diminuiu o percentual de redução da amplitude no PP70 ( $33.58 \pm 5.80$ ), quando comparado ao grupo controle ( $64.15 \pm 4.66$ ) [ $F(9.61) = 10.51$ ,  $p < 0.0001$ ]. Entretanto, essa redução do IPP foi revertida pelo pré-tratamento de clorpromazina [CP1+KET:  $55.82 \pm 1.79$ ; CP5+KET:  $61.95 \pm 2.37$ ] ou ALA associado à CP [ALA+CP1+KET:  $64.09 \pm 2.06$ ; ALA+CP5+KET:  $66.88 \pm 4.77$ ] (fig. 19).

Efeito semelhante foi observado para amplitude no PP75. KET ( $42.47 \pm 4.82$ ) reduziu esse parâmetro em relação ao controle ( $70.25 \pm 2.12$ ) [ $F(9.61) = 7.98$ ,  $p < 0.0001$ ]. As associações de CP+KET [CP1+KET:  $60.86 \pm 1.67$ ; CP5+KET:  $72.23 \pm 2.90$ ] ou ALA+CP+KET [ALA+CP1+KET:  $77.03 \pm 1.79$ ; ALA+CP5+KET:  $74.15 \pm 3.43$ ] reverteram esse efeito da KET sozinha (fig.19).

Da mesma forma, a administração de KET ( $50.23 \pm 10.70$ ) por 10 dias reduziu o IPP no PP80, quando comparada ao grupo controle ( $78.62 \pm 3.65$ ) [ $F(9.67) = 5.65$ ,  $p < 0.0001$ ]. Esse efeito foi revertido tanto pela clorpromazina [CP1+KET:  $74.58 \pm 2.90$ ; CP5+KET:  $77.72 \pm 3.18$ ] quanto pelo ALA+CP [ALA+CP1+KET:  $73.60 \pm 2.00$ ; ALA+CP5+KET:  $81.67 \pm 1.91$ ] (fig. 19).

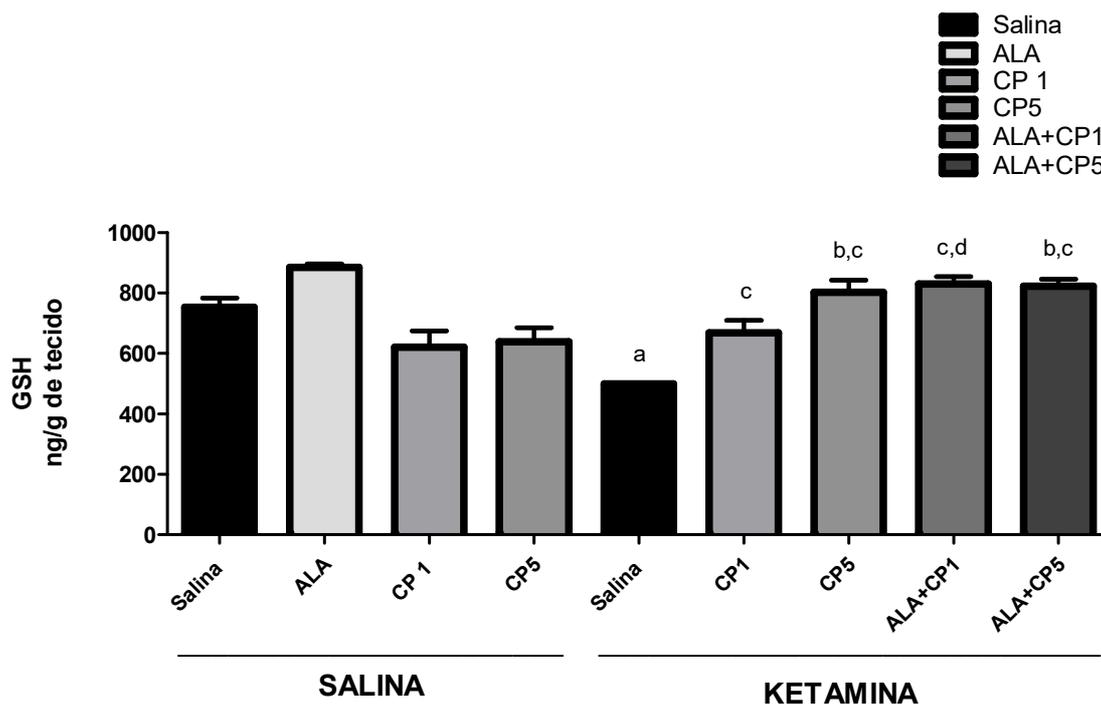


**Figura 19: Efeitos na porcentagem de inibição pré-pulso (IPP) no PP70, PP75 ou PP80 pela clorpromazina (1 ou 5 mg/kg) e ácido lipóico (100 mg/kg), sozinhos ou associados ao modelo de esquizofrenia induzido pela cetamina (10 mg/kg).** Cada barra representa a média  $\pm$  SEM. a, b, c, quando comparado aos grupos controle, KET, CP1+KET, respectivamente.  $P < 0.05$  usando Two-way ANOVA e teste de Bonferroni como post hoc.

### 5.3 Testes Neuroquímicos

#### 5.3.1 Determinação da Glutathiona Reduzida (GSH)

A administração de KET, por 10 dias ( $499.50 \pm 2.40$ ), reduziu a concentração do GSH, quando comparado ao grupo controle ( $753.20 \pm 30.83$ ) [ $F(9.70) = 13.56$ ,  $p < 0.0001$ ]. Esta redução foi revertida pelo pré-tratamento com clorpromazina [CP1+KET:  $668.80 \pm 41.14$ ; CP5+KET:  $803.10 \pm 39.66$ ] ou ALA+CP [ALA+CP1+KET:  $830.00 \pm 24.63$ ; ALA+CP5+KET:  $822.80 \pm 23.15$ ]. Contudo, na presença do ALA, foi observada intensificação da ação da clorpromazina na menor dose sobre a concentração de GSH, quando comparada ao grupo CP1+KET, em relação à concentração de GSH no hipocampo (fig. 20).

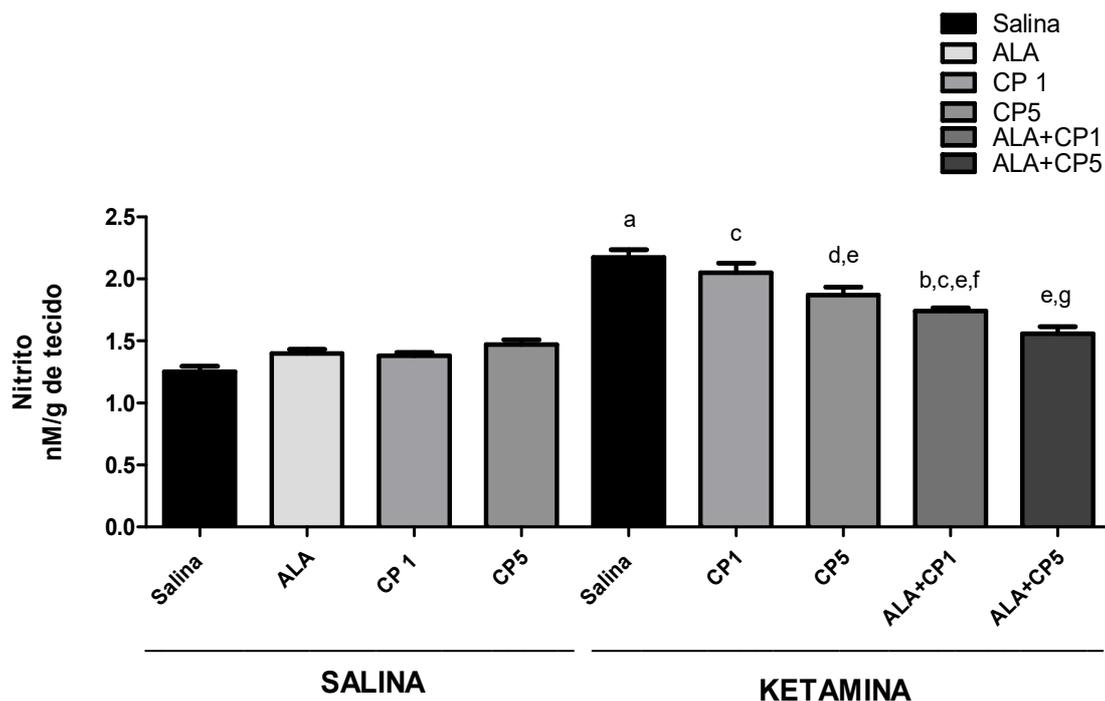


**Figura 20:** Efeitos na concentração da glutathiona reduzida hipocampal pela clorpromazina (1 ou 5 mg/kg) e ácido lipóico (100 mg/kg), sozinhos ou associados ao modelo de esquizofrenia induzido pela cetamina (10 mg/kg). Cada barra representa a média  $\pm$  SEM. a, b, c, d, quando comparado aos grupos controle, CP5, KET, CP1+KET, respectivamente.  $P < 0.05$  usando Two-way ANOVA e teste de Tukey como post hoc.

### 5.3.2 Determinação do Nitrito

A concentração de nitrito do hipocampo foi elevada após tratamento em doses repetidas de KET ( $2.17 \pm 0.06$ ), por 10 dias, quando comparada ao grupo controle ( $1.25 \pm 0.04$ ) [ $F(9.66) = 40.70$ ,  $p < 0.0001$ ]. Este efeito da KET foi revertido pelo pré-tratamento com CP5 ( $1.86 \pm 0.06$ ) e nas associações com ALA [ALA+CP1+KET ( $1.74 \pm 0.02$ ); ALA+CP5+KET ( $1.55 \pm 0.05$ )] (fig. 21).

Na presença do ALA, houve intensificação da ação da CP, em ambas as doses, quando comparada aos grupos CP1+KET e CP5+KET (fig. 21).

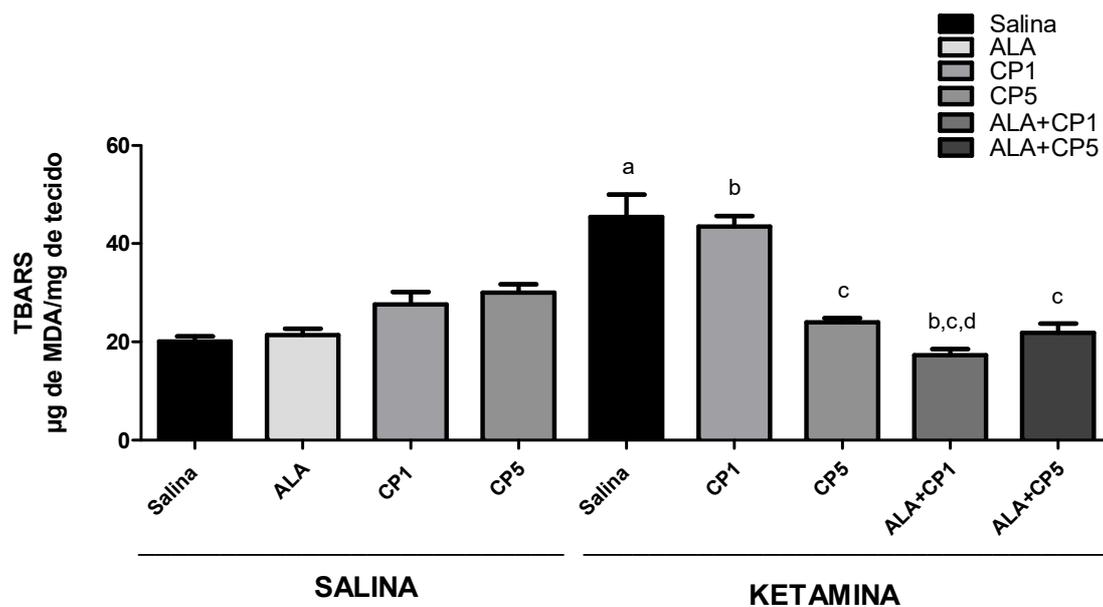


**Figura 21: Efeitos na concentração do nitrito hipocampal pela clorpromazina (1 ou 5 mg/kg) e ácido lipóico (100 mg/kg), sozinhos ou associados ao modelo de esquizofrenia induzido pela cetamina (10 mg/kg).** Cada barra representa a média  $\pm$  SEM. a, b, c, d, e, f, g quando comparado aos grupos controle, ALA, CP1, CP5, KET, CP1+KET, CP5+KET, respectivamente.  $P < 0.05$  usando Two-way ANOVA e teste de Tukey como post hoc.

### 5.3.3 Determinação do TBARS

A administração de KET, por 10 dias, ( $45.47 \pm 4.52$ ) aumentou a concentração de malonildialdeído hipocampal, quando comparada ao grupo controle ( $20.10 \pm 1.04$ ) [ $F(9.68) = 22.77$ ,  $p < 0.0001$ ]. Contudo, o pré-tratamento com CP sozinha, somente na maior dose (CP5+KET:  $23.96 \pm 0.88$ ), ou associada ao ALA [ALA+CP1+KET:  $17.34 \pm 1.16$ ; ALA+CP5+KET:  $21.87 \pm 1.83$ ], reverteu esse aumento observado com KET sozinho (fig. 22).

Por outro lado, a associação do ALA à CP, apenas na menor dose, acentuou a diminuição na concentração de malonildialdeído hipocampal, observada com o grupo CP1+KET (fig. 22).

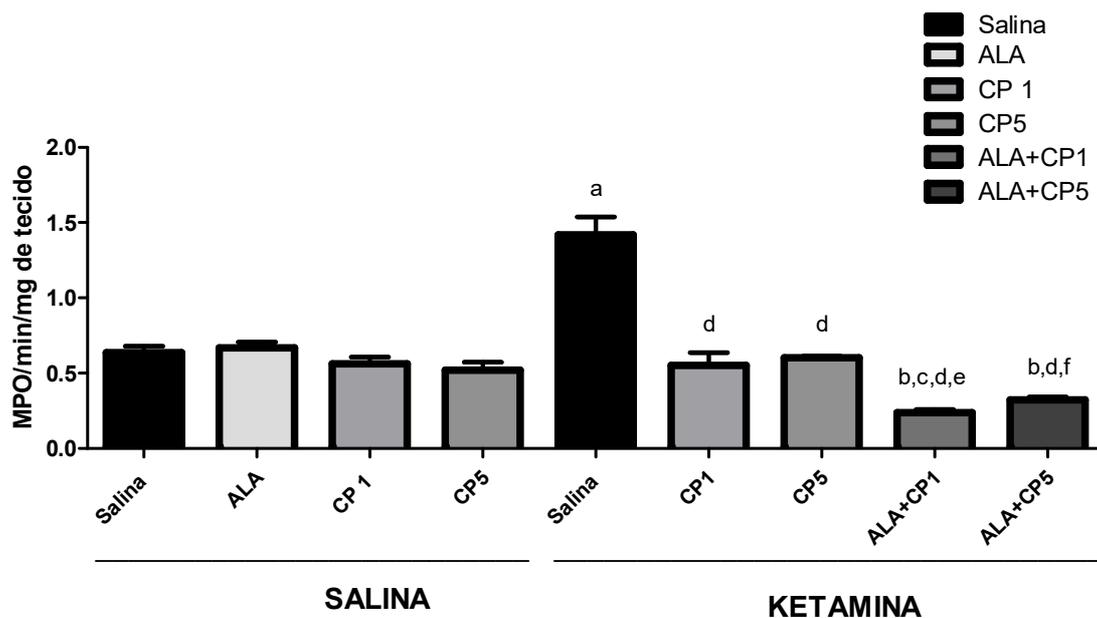


**Figura 22:** Efeitos na concentração do malonildialdeído hipocampal pela clorpromazina (1 ou 5 mg/kg) e ácido lipóico (100 mg/kg), sozinhos ou associados ao modelo de esquizofrenia induzido pela cetamina (10 mg/kg). Cada barra representa a média  $\pm$  SEM. a, b, c, d, quando comparado aos grupos controle, CP1, KET, CP1+KET, respectivamente.  $P < 0.05$  usando Two-way ANOVA e teste de Tukey como post hoc.

#### 5.3.4 Determinação do MPO

Aumento na concentração da mieloperoxidase hipocampal foi observado com cetamina, por 10 dias, ( $1.42 \pm 0.11$ ), quando comparado ao grupo controle ( $0.63 \pm 0.04$ ) [ $F(9.54) = 39.41$ ,  $p < 0.0001$ ]. Entretanto esta elevação foi revertida pelos grupos pré-tratados com CP sozinha [CP1+KET:  $0.55 \pm 0.08$ ; CP5+KET:  $0.60 \pm 0.01$ ] ou associada ao ALA [ALA+CP1+KET:  $0.23 \pm 0.02$ ; ALA+CP5+KET:  $0.32 \pm 0.01$ ], quando comparada ao grupo KET sozinho (fig. 23).

Por outro lado, com a presença do ALA nas associações, foi observado fortalecimento do efeito da CP, tanto na dose de 1 mg/kg quanto na dose de 5 mg/kg (fig. 23).



**Figura 23: Efeitos na concentração da MPO hipocampal pela clorpromazina (1 ou 5 mg/kg) e ácido lipóico (100 mg/kg), sozinhos ou associados ao modelo de esquizofrenia induzido pela cetamina (10 mg/kg).** Cada barra representa a média  $\pm$  SEM. a, b, c, d, e, f, quando comparado aos grupos controle, ALA, CP1, KET, CP1+KET, CP5+KET, respectivamente.  $P < 0.05$  usando Two-way ANOVA e teste de Tukey como post hoc.

## 6 DISCUSSÃO

Mudanças na frequência, poder e conectividade de oscilações medidas no hipocampo através do EEG têm sido associados com esquizofrenia (COUSIJN et al., 2015; ALLEN; MONYER, 2015). Além disso, os sintomas marcantes da esquizofrenia, como a distorção da realidade (delírios e alucinações) e déficits cognitivos são associados com disfunção nesta área cerebral (HECKERS; KONRADI, 2010; TAMMINGA et al., 2010). Assim, o hipocampo apresenta gama de frequências de ondas cerebrais que são importantes para o estudo da função cerebral e esquizofrenia, tornando-se uma área proeminente em estudos de EEG.

Portanto, a partir da análise quantitativa do EEG hipocampal de ratos sob o modelo farmacológico de esquizofrenia induzida pela administração de cetamina, os resultados mostraram que cetamina apenas em doses baixas (10 mg/kg) provocou aumento no poder espectral médio na banda delta após o tratamento repetido. Este efeito demonstra que a ação de cetamina depende da dose e do tempo de tratamento, uma vez que no tratamento repetido e com a dose inferior de cetamina, a frequência da onda delta foi aumentada para cerca da frequência de pico máximo estipulado neste estudo (4 Hz).

Resultado semelhante ao presente estudo foi obtido em pesquisa *in vivo* que mostraram os efeitos da administração de antagonistas de NMDA sobre as oscilações da onda delta na área CA1 do hipocampo, assim, foi observado aumento no poder espectral médio com cetamina a uma dose de 50 mg/kg, que não foi observado com a dose de 20 mg/kg (ZHANG et al., 2012). Acredita-se que a atividade oscilatória delta origina-se em neurônios nas camadas corticais profundas do tálamo, normalmente inibida pela entrada reticular ascendente. A atividade delta pode refletir a hiperpolarização de neurônios corticais, resultando em uma ausência na diferenciação da atividade neuronal (JOHN, 2002; STERIADE; MCCORMICK; SEJNOWSKI, 1993). Este raciocínio pode ser expandindo à hipótese de que a esquizofrenia pode envolver déficits na filtragem de entrada de sinais sensoriais para o córtex por meio do tálamo (BUNNEY; POTKIN; BUNNEY, 1995). Muitos investigadores têm avançado em relação ao conceito de que os sintomas negativos da esquizofrenia podem ser relacionados com uma diminuição da onda delta durante o sono em pacientes

com esta síndrome (KATO et al., 1999; KAJIMURA et al., 1996; KESHAVAN et al., 1995; GANGULI; REYNOLDS; KUPFER, 1987).

Para a faixa de onda teta, a cetamina, nas maiores doses, diminuiu a potência espectral média. Estudos anteriores mostraram diminuição semelhante aos resultados deste estudo, no poder espectral média na faixa teta com a administração de antagonistas de NMDA, como ácido aminophosphonovaleric (10-20 ug APV) (LEUNG; DESBOROUGH, 1988); MK 801 (0,01-0,2 mg/kg) (EHLERS et al., 1992; KITTELBERGER et al., 2011) e cetamina (20 mg/kg) (LAZAREWICZ et al., 2010; EHRLICHMAN et al., 2009). O ritmo teta possui frequência bastante lenta, entre 4 e 7 Hz, com amplitude de 50-100 mV. Este ritmo é observado em sono leve (fase 2) e pode representar a ação inibitória de interneurônios GABAérgicos que afetam a rede córtico-talâmica. Também pode ser associada à atividade límbica (memória e emoções) (CONSTANT; SABOURDIN, 2012), em áreas do cérebro, como o hipocampo e amígdala. A boa organização e funcionamento das redes interneuronais GABAérgicas é essencial para muitos processos cognitivos. Suas anormalidades foram documentadas em pacientes esquizofrênicos, sugerindo importância função desta onda teta na modulação gabaérgica e relacionando com distúrbios cognitivos encontrados em pacientes esquizofrênicos.

O aumento do poder espectral média da banda alfa foi encontrado após administração de cetamina, somente na menor dose, tanto no primeiro quanto no décimo dia de tratamento. Os efeitos provocados pela administração de antagonistas de receptores de NMDA em oscilações alfa do hipocampo são pouco documentados na literatura. O ritmo alfa pode ser produzido pelos neurônios marca-passos, distribuídos através do tálamo que oscilam em sincronia na frequência alfa (7,5-12,5 Hz), o qual domina o EEG em uma pessoa normal no estado de alerta e em repouso (JOHN, 2002). Esta onda cerebral surge através do núcleo reticular que sofre hiperpolarização em suas membranas celulares, em neurônios talâmicos. Com a liberação de GABA, ocorrerá a diminuição na oscilação do ritmo alfa dominante, que passará, assim, para o espectro teta, que é mais lento (3,5 a 7,5 Hz) e reduzirá a atividade sensorial para o córtex (JOHN, 2002). Portanto, pode-se inferir que a

atividade da banda alfa pode ser aumentada com doses baixas e intermediárias de cetamina.

A administração aguda de cetamina (10 ou 50 mg/kg) aumentou o poder espectral da banda gama low. Este aumento da atividade espectral da banda gama low permaneceu após o tratamento com cetamina durante 10 dias, mas nas doses de 50 ou 100 mg/kg, sugerindo que a ação da cetamina nesta onda varia com o tempo de tratamento e a dose de administração. Foi observado efeito semelhante para a banda gama high com a administração aguda ou repetida de cetamina apenas com a dose mais elevada (100 mg/kg). A atividade da banda gama (25-50 Hz) pode refletir circuitos córtico-tálamo-corticais, assim como a propagação das descargas axonais para os dendritos de células piramidais corticais, que pode desempenhar papel importante na percepção (JOHN, 2002).

Os resultados indicam que a disfunção do sistema glutamatérgico observada na esquizofrenia, que é promovida pelo bloqueio de receptores NMDA pela cetamina, afeta o espectro de oscilações das várias bandas do hipocampo de um modo dependente da dose e tempo.

Como os melhores resultados nos experimentos de EEG foram observados com a cetamina na dose de 10mg/kg, optou-se por utilizar essa dose nos protocolos de associação com clorpromazina e/ou ácido lipóico tanto nos estudos de EEG quanto no comportamento e estresses oxidativo.

Com base na análise quantitativa do EEG hipocampal em ratos no modelo farmacológico da esquizofrenia induzida pela cetamina, observou-se que a administração sistêmica de cetamina na dose de 10 mg/kg promoveu aumento no poder espectral médio da banda delta para o tratamento em dose repetidas apenas no 5º e 10º dia. De acordo com Zhang et al. (2012), antagonistas do receptor NMDA, como cetamina, podem atuar nos núcleos talâmicos e impor oscilações na onda delta em áreas como hipocampo. Isso pode afetar a coparticipação do tálamo e hipocampo na aprendizagem, consolidação da memória e flexibilidade comportamental (CASSEL et al., 2013). Portanto, essas mudanças na onda delta induzidas pela cetamina podem interferir na função cognitiva de animais. Essas mudanças na cognição também são observadas em pacientes esquizofrênicos (SHMUKLER et al., 2015; LEE et al., 2015).

Contudo, esse aumento do poder espectral médio da banda delta do hipocampo foi revertido pela associação de CP1+KET ou CP5+KET, bem como ALA+CP1 ou ALA+CP5. No entanto, a presença de ALA sozinho não causou qualquer diferença na frequência das oscilações da banda delta. O efeito do antagonismo de receptor NMDA sobre as oscilações da banda delta envolve a participação do sistema dopaminérgico, visto que clorpromazina, com ou sem ALA, atenua oscilações delta do hipocampo após administração sistêmica de cetamina. Assim, a presença de ALA não afetou a ação da clorpromazina.

Baseado no protocolo experimental utilizado nesta investigação, nenhuma mudança foi observada no poder espectral média da banda teta do hipocampo após a administração de cetamina. No entanto, resultados contraditórios são encontrados na literatura, já que reduções (KITTELBERGER et al., 2011; LAZAREWICZ et al., 2010; DIMPFEL; SPULER, 1990; LEUNG; DESBOROUGH, 1988) e aumento (PÁLENÍČEK et al., 2011; MATTIA; MORETON, 1986) nas oscilações da onda teta foram observados na literatura após a administração de cetamina. Estes resultados diferentes são, provavelmente, devido a diferenças nos protocolos experimentais, como doses, espécies animais, tempo de tratamento e vias de administração.

Em ambos os animais de laboratório e humanos, as ondas teta do hipocampo foram correlacionados com processo de codificação da memória, talvez através da coordenação de um grupo de células de disparo, de modo que a LTP (potenciação a longo prazo) e LTD (depressão a longo prazo) podem ocorrer nos mecanismos celulares de aprendizagem e de memória de aquisição (LIEBE et al., 2012; POLANIA et al., 2012; STANTON; SEJNOWSKI, 1989).

Os achados evidenciaram que o poder espectral médio da banda gama low e high foi aumentado após administração de doses agudas e repetida de cetamina. Dados similares foram observados em pesquisas anteriores, cujos resultados demonstraram que a administração de cetamina induzia um estado no cérebro caracterizado por um aumento no poder e na frequência intrínseca de oscilações gama (CAIXETA et al., 2013; ZHANG et al., 2012; KITTELBERGER et al., 2011; KRYSTAL et al., 1994).

O hipocampo parece estar fortemente relacionado com alterações na banda gama descrita na literatura para a esquizofrenia, uma vez que estudos

sugerem a existência de dois geradores de ondas gama no hipocampo, um residente no giro dentado e outro no eixo CA3-CA1 (SIROTA et al., 2003). Além disso, também há evidências de que a atividade de gama oscilatório pode ser relacionada com os sintomas de esquizofrenia, como alucinações, transtornos mentais e sintomas negativos. Assim, os sintomas positivos da esquizofrenia podem ser correlacionados com um aumento de amplitude da banda gama em regiões do cérebro, enquanto os sintomas negativos têm sido associados a oscilações de baixa frequência (CONSTANTE; SABOURDIN, 2012; DEMIRALP et al., 2007; BALDEWEG et al., 1998).

As alterações na frequência de oscilação da banda gama low ou high geradas por cetamina foram revertidas pela administração de clorpromazina, bem como a administração de ALA. Exceto no décimo dia de tratamento, em que somente a associação com a menor dose de clorpromazina (CP1+KET) foi capaz de reverter o aumento da KET na onda gama high.

Outro dado relevante observado na figura 15C foi a intensificação do efeito da clorpromazina, na menor dose, da onda gama low pelo ALA, quando comparado a clorpromazina sozinha. Sugerindo, assim, importância desses fármacos e enfatizando que essa associação é importante quando a clorpromazina é administrada em baixas doses.

Assim, pode-se inferir que para a atividade da banda gama há o envolvimento da neuromodulação do sistema glutamatérgico sobre a concentração de dopamina na via dopaminérgica mesolímbica, visto que a clorpromazina, um antipsicótico, cujo mecanismo de ação está associado a um forte bloqueio de receptores D2 da dopamina (DANIVAS; VENKATASUBRAMANIAN, 2013; MOREIRA; GUIMARÃES, 2007) reverteu os efeitos apresentados por cetamina para a banda gama.

Em síntese, os resultados deste estudo proporcionaram analisar os efeitos da clorpromazina sobre as alterações promovidas pela cetamina na atividade elétrica hipocampal em ratos. A partir desta análise, encontrou-se que a administração aguda ou em doses repetidas de cetamina na dose 10 mg/kg elevou o poder espectral médio das bandas delta, gama low e gama high, sendo essa alteração na atividade elétrica cerebral revertida pela associação de cetamina com clorpromazina nas doses de 1 ou 5 mg/kg sozinhas ou associadas ao ácido lipóico. Contudo, de maneira geral, o ácido lipóico não

melhora os efeitos apresentados pela clorpromazina para os intervalos de onda de EEG relacionadas com o hipocampo.

Outro aspecto abordado neste estudo foi a avaliação comportamental dos animais submetidos aos protocolos de atividade locomotora, Y-maze e IPP, após o tratamento com clorpromazina sozinho ou associado com ácido lipóico no modelo de esquizofrenia induzido por cetamina.

Os resultados mostraram que enquanto a clorpromazina sozinha diminuiu a atividade locomotora dos animais, a administração de cetamina elevou essa locomoção e esse efeito foi revertido pelo pré-tratamento com a clorpromazina sozinha ou associada ao ALA. Contudo, a associação de ALA ao grupo CP1+KET acentuou o efeito de redução da atividade locomotora deste grupo.

Achados na literatura mostraram efeito semelhante ao observado neste estudo, em que a hiperlocomoção foi evidenciada em animais após administração da cetamina, nas doses de 10 (ARRUDA et al., 2008) ou 100 mg/kg (CHATTERJEE et al., 2011). Esse efeito de hiperlocomoção está relacionado ao sistema glutamatérgico e uma possível ação agonista da cetamina nos receptores de dopamina - D2 do corpo estriado de rato (SEEMAN; GUAN; HIRBEC, 2009). Vale salientar que esta característica de aumento da motricidade é também observada em pacientes esquizofrênicos (SIGURDSSON; DUVARCI, 2016).

A clorpromazina, um antipsicótico típico, apresenta efeitos extrapiramidais (tremores e catatonias), parkinsonismo (tremores musculares, bradicinesia, rigidez, discinesia tardia) e hiperprolactinemia (PEREZ; LODGE, 2014). Esses efeitos colaterais estão relacionados ao bloqueio dos receptores da dopamina na via nigroestriatal, mesocortical e tuberoinfundibular. Em estudo realizado recentemente (SAHA et al., 2016), pesquisadores compararam os efeitos da clorpromazina com antipsicóticos atípicos, para o tratamento de pessoas com esquizofrenia, e encontraram que a clorpromazina causou mais efeitos adversos extrapiramidais (SAHA et al., 2016). Em um estudo realizado em animais, Terry e colaboradores (2008) observaram que animais em uso de clorpromazina (10 mg/kg) ou olanzapina (10 mg/kg), por períodos de tempo variando de 2 semanas a 6 meses, apresentaram deficiências da função motora por ambos antipsicóticos.

O interessante nesse resultado foi a reversão da clorpromazina, na menor dose, e a intensificação deste efeito pelo ácido lipóico, ficando a locomoção dos animais ao nível do grupo controle. Estudos anteriores mostraram resultados semelhantes ao realizado, nos quais o efeito de hiperlocomoção da cetamina foi bloqueado tanto por antipsicóticos típicos, haloperidol (ARRUDA et al., 2008) como atípico, risperidona (ARRUDA et al., 2008) e clozapina (VASCONCELOS et al., 2015; CHATTERJEE et al., 2011). Em trabalho recente no grupo de pesquisa em neuropsicofarmacologia da Universidade Federal do Ceará (VASCONCELOS et al., 2015), foi verificado que a administração de ALA e clozapina, um antipsicótico atípico, sozinhos ou associados, reverteram a hiperlocomoção induzida pela cetamina.

No teste de labirinto em Y, os animais tratados com KET ou clorpromazina (5 mg/kg) reduziram o percentual de sequências corretas, o que representa déficit na memória de trabalho espacial (memória de curto prazo). Contudo, acredita-se que os resultados da clorpromazina, na maior dose, podem estar prejudicados pelo déficit motor observado nos animais durante o teste de campo aberto. Outro resultado encontrado neste teste foi a reversão do déficit de memória de trabalho, causado pela cetamina, pela associação do ALA a clorpromazina, visto que o pré-tratamento da clorpromazina a cetamina (CP1+KET) não conseguiu reverter esse efeito.

É bem descrito na literatura que pacientes com esquizofrenia sofrem de transtorno cognitivo generalizado que se correlaciona com o resultado funcional (por exemplo, déficit de memória, atividades diárias e resolução de problemas sociais) (SHARMA; ANTONOVA, 2003; GREEN et al., 2000). Também foi demonstrado que a cetamina utilizada como modelo de esquizofrenia causa esse déficit de memória em animais (TREVLOPOULOU; TOUZLATZI; PITSIKAS, 2016; RAJAGOPAL et al., 2016; VASCONCELOS et al., 2015).

Estudo semelhante mostrou (VASCONCELOS et al., 2015) que a cetamina administrada por 14 dias em camundongos machos causou redução da percentagem de acertos no teste de labirinto em Y, e que esse efeito foi revertido pela clozapina sozinha ou associada ao ALA.

Em relação às alterações cognitivas causadas pelo uso de antipsicóticos, não existe consenso quanto ao efeito dessas drogas na memória. Estudo realizado por Kotani et al. (2016) demonstrou que a

administração de antipsicótico atípico, blonanserina, reverteu o déficit de função executiva em animais submetidos ao modelo de esquizofrenia induzido por cetamina. Por outro lado, Terry et al. (2008) verificaram que em diferentes períodos de tempo (2 semanas a 6 meses) de tratamento com clorpromazina (10 mg/kg) ou olanzapina (10 mg/kg) no teste de labirinto aquático ambos os antipsicóticos foram associados, com prejuízos neste tipo de memória. Já Guo et al. (2011) observaram que a administração por 12 meses de antipsicóticos de primeira geração (clorpromazina) ou segunda geração (sulpirida, clozapina, risperidona, olanzapina, quetiapina ou aripiprazol) podem melhorar a função cognitiva em pacientes com esquizofrenia em estágio inicial da doença (duração da doença  $\leq$  5 anos).

Assim, a associação do ALA a clorpromazina, em baixas doses, poderia ser uma vantagem terapêutica, pois evitaria esse efeito indesejável de déficit de memória observado em pacientes esquizofrênicos.

Em relação ao teste de IPP, os resultados mostraram que a administração em doses repetidas de KET diminuiu o percentual de redução da amplitude no PP70, PP75 e PP80. O déficit de IPP é considerado endofenótipo para a esquizofrenia (SWERDLOW et al., 2008; BRAFF et al., 2007), sendo indicativo de prejuízo nos mecanismos associados ao correto funcionamento do filtro sensório-motor, um processo antecipatório que impede a sobrecarga sensorial e a fragmentação cognitiva (POWELL; ZHOU; GEYER, 2009; GEYER; MCILWAIN; PAYLOR, 2002). O modelo de IPP representa a interface entre a psicose e cognição (DESBONNET; WADDINGTON; O'TUATHAIGH, 2009). Assim, os dados demonstram que KET na dose de 10 mg/kg foi capaz de induzir este endofenótipo da esquizofrenia, sugerindo que a cetamina em baixas doses é um modelo bem estabelecido para esquizofrenia-símile. Achado semelhante de redução do IPP também foi observado em outros estudos que utilizaram a cetamina como modelo de esquizofrenia em animais (BUUSE; MINGON; GOGOS, 2015; VASCONCELOS et al., 2015; MONTE et al., 2013). De tal modo, pacientes com transtornos psicóticos crônicos, como a esquizofrenia, exibem filtro sensório-motora deficiente (SWERDLOW et al., 2016; SWERDLOW et al., 2014).

No entanto, essa redução do IPP induzida pela cetamina foi revertida pelas associações de clorpromazina sozinha ou associado com ALA. Contudo,

intensificação da reversão observada pela clorpromazina, somente na menor dose, foi observada na presença do ALA no PP75, sugerindo que a associação da clorpromazina ao ALA pode ser positiva, em baixas doses de clorpromazina. Talvez um efeito sinérgico poderia ter sido observado em todos os PP, PP70 e PP80, se as doses de clorpromazina fossem reduzidas.

O uso da clozapina com ou sem ALA, em estudo semelhante ao realizado, reverteu o déficit de IPP apresentado pelo tratamento com KET. Semelhante aos resultados deste estudo, no PP75, o uso do ALA exacerbou o efeito da clozapina sobre a redução do IPP (VASCONCELOS et al., 2015). De tal modo, outro antipsicótico atípico, a olanzapina, bloqueou a alteração no IPP induzida pelo MK-801, um antagonista dos receptores NMDA semelhante à cetamina (ZANGRANDO et al., 2013).

Em adição aos achados anteriores, trabalho com objetivo de comparar os efeitos em voluntários saudáveis de doses agudas dos antipsicóticos atípicos amisulprida (300 mg) e risperidona (3 mg) e clorpromazina (100 mg) sobre o IPP encontrou que nenhuma das drogas testadas afeta a inibição pré-pulso (BARRETT et al., 2004). Estudo com finalidade de estabelecer um paralelo entre os efeitos de antipsicóticos típicos (haloperidol e clorpromazina) e atípicos (seroquel e clozapina) sobre o IPP, sendo que em animais, demonstrou que a capacidade de antipsicóticos para restaurar o IPP em ratos tratados com o antagonista de NMDA não é específica para antipsicóticos clinicamente atípicos (SWERDLOW et al., 1998).

Desse modo, estes resultados sugerem que mecanismos mediados por glutamato estão envolvidas na expressão de PPI em animais e que esta resposta é sensível a antipsicóticos típicos e atípicos.

É descrito na literatura que o estresse oxidativo tem relação direta com doenças neuropsiquiátricas, como esquizofrenia (OWEN; SAWA; MORTENSEN, 2016; KOGA et al., 2015; MACÊDO et al., 2012). Baseado nesta relação, optou-se por estudar o efeito da clorpromazina sozinha ou associada ao ácido lipóico nas concentrações de GSH, nitrito, TBARS e MPO, em hipocampo de ratos, no modelo de esquizofrenia pela cetamina. O hipocampo foi a área utilizada, já que estudos demonstram ser a cetamina nociva para neurogênese do hipocampo (HUANG et al., 2016; HUANG et al., 2015; ZHENG; ZHOU; XIA, 2015), dano ao hipocampo que altera o seu

funcionamento, podendo estar relacionado à neuropsicopatologia das psicoses, como a esquizofrenia. Prejuízos cognitivos na esquizofrenia envolvem déficits de memória episódica e de trabalho, bem como na atenção, velocidade de processamento e resolução de problemas (HASAN et al., 2011). Curiosamente, na esquizofrenia, estes déficits estão relacionados com a diminuição do volume do hipocampo (GEISLER et al., 2015). Desta forma, o hipocampo é uma área subcortical importantíssima para fisiopatologia da esquizofrenia e é fortemente afetado por agentes oxidativos, o que parece afetar o seu funcionamento (ZHENG; ZHOU; XIA, 2015).

Quanto à dosagem de GSH, foi observado, a partir dos resultados que KET reduziu a concentração dessa enzima no hipocampo, o que parece comprometer a atividade de neuroproteção atribuída ao GSH.

Estudos evidenciam que o GSH é um importante marcador para o estresse oxidativo e doenças neuropsiquiátricas (TUNÇEL et al., 2015; MAHADIK; EVANS; LAL, 2001). Estudos pré-clínicos têm demonstrado relação entre esquizofrenia e deficiência nas concentrações de GSH em várias regiões cerebrais (VASCONCELOS et al., 2015; MONTE et al., 2013; SILVA et al., 2010; GYSIN et al., 2007). Deste modo, ratos submetidos à depleção de GSH durante o desenvolvimento pós-natal (CABUNGCAL et al., 2006), bem como camundongos com uma síntese de GSH geneticamente comprometida (KULAK; CUENOD; DO, 2012), apresentaram ambos fenótipo semelhante à esquizofrenia.

Em contrapartida, este estudo demonstrou que o efeito da KET sobre a concentração de GSH foi revertido pelo pré-tratamento com clorpromazina. Observou-se, ainda, escassez de estudos relacionando a atividade da clorpromazina com o GSH cerebral, o que não é visto com antipsicóticos atípicos (VASCONCELOS et al., 2015; MONTE et al., 2013).

Achado contraditório a este evidenciou que dose única de clorpromazina promoveu elevação do GSH no córtex cerebral de animais (DEJANOVIC et al., 2016), entretanto a dose de clorpromazina utilizada no estudo de Dejanovic et al. (2016) (38,7 mg/kg) foi quase oito vezes maior que a dose mais elevada (5 mg/kg) adotado neste trabalho.

Em corroboração aos resultados do presente estudo, investigação recente do nosso grupo, anteriormente citado, verificou que a administração de

clozapina, um antipsicótico atípico, também reverteu à redução do GSH induzido pela cetamina (VASCONCELOS et al., 2015). Outro antipsicótico atípico, a risperidona, também apresentou resultado satisfatório no bloqueio dos efeitos da KET sobre o GSH hipocampal (MONTE et al., 2013).

Na presença do ALA a clorpromazina, na menor dose, teve sua ação melhorada, sugerindo importante efeito na associação do ALA a clorpromazina na terapêutica medicamentosa para esquizofrenia. Corroborando com os resultados, estudos mostraram que o ácido lipóico aumenta as concentrações de GSH em várias regiões cerebrais (SILVA et al., 2016; GOC et al., 2015). Esse efeito do ALA parece ocorrer através de diferentes mecanismos: redução da cistina em cisteína, que é o substrato limitante para síntese de GSH (SHAY et al., 2009), acarretando diminuição direta de glutathiona oxidada (GSSG) a GSH (MOINI; PACKER; SARIS, 2002). Além disso, foi demonstrado que o ALA pode induzir a síntese de GSH pela ativação do fator de transcrição, relacionado com o fator nuclear eritróide 2 (Nrf2) (SUH et al., 2004).

O nitrito é frequentemente usado como marcador do NO (FLATOW; BUCKLEY; MILLER, 2013), pois em solução aquosa, o NO reage com o oxigênio molecular e se acumula no plasma/soro como os íons nitrito ( $\text{NO}^{-2}$ ) e nitrato ( $\text{NO}^{-3}$ ) (KOLTUKSUZ et al., 2000). Desta forma, a avaliação da produção de NO pode ser realizada com base nos níveis de seus produtos de oxidação o  $\text{NO}^{-2}$  ou  $\text{NO}^{-3}$  no sistema nervoso central (SNC).

Um aumento nos produtos finais da reação de oxidação do NO, juntamente com outros radicais livres, podem provavelmente contribuir para a neurofisiopatologia da esquizofrenia (OZYURT et al., 2014). Uma revisão sistemática e quantitativa de marcadores de estresse oxidativo encontrou aumento significativo nos níveis de espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) e NO, em pacientes com esquizofrenia, em comparação com pacientes controles (ZHANG et al., 2010).

Face ao exposto, este estudo, ao analisar a concentração de nitrito, identificou as possíveis alterações do óxido nítrico associadas à indução de esquizofrenia pela administração em doses repetidas de cetamina. Os resultados encontraram aumento nas concentrações de nitrito após tratamento em doses repetidas com KET, ou seja, o teste de nitrito avaliou indiretamente os efeitos da KET sobre o óxido nítrico, sugerindo que o bloqueio dos

receptores NMDA pela cetamina em baixa dose interfere na manutenção do NO hipocampal.

Similarmente às experimentações, altas concentrações de nitrito foram observadas no córtex pré-frontal (SILVA et al., 2010) e hipocampo (CHATTERJEE et al., 2012) de animais após administração de cetamina. Estudos *post-mortem* têm demonstrado concentrações elevadas de NO e NOS em tecidos cerebrais de indivíduos com esquizofrenia e sugerido que o NOS mantém-se ativa na esquizofrenia (XU et al., 2005; BABA et al., 2004; YAO et al., 2004). A concentração de nitrito no plasma de pacientes no primeiro episódio psicótico foi significativamente baixa e, de modo análogo aos resultados, mostrou-se elevada em pacientes ambulatoriais (FLATOW; BUCKLEY; MILLER, 2013).

O pré-tratamento com clorpromazina (CP5+KET) reverteu os efeitos de KET sobre a concentração de nitrito no hipocampo. De tal modo, estudo *in vitro* mostrou que a clorpromazina (10 mg/kg) inibe a atividade da enzima óxido nítrico sintase (mtNOS) nas mitocôndrias do cérebro de ratos, resultando na redução da produção de peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) mitocondrial (LORES-ARNAIZ et al., 2004).

Outro estudo *in vitro* avaliou os efeitos de dois antipsicóticos atípicos, olanzapina ou clozapina, e um típico, haloperidol, sobre a liberação de NO a partir da estimulação de micróglia por lipopolissacarídeo, outro modelo de indução da esquizofrenia em animais. Os resultados mostraram que apenas a olanzapina inibe a liberação de NO nestas células (HOU et al., 2006).

Os achados deixam evidenciar a capacidade dos antipsicóticos típicos ou atípicos de intervirem satisfatoriamente nas vias do óxido nítrico presentes na esquizofrenia.

A associação de ALA ao grupo CP1 ou CP5 intensificou a resposta apresentada por clorpromazina, em ambas as doses, sobre a concentração de nitrito, esta ação do ALA sobre CP1 ou CP5 parece ser atribuída à sua excelente propriedade antioxidante no sistema nervoso central (MACÊDO et al., 2012). Além disso, o ácido  $\alpha$ -lipóico é considerado um dos mais potentes sistemas de defesa endógeno no combate à formação de espécies reativas do oxigênio e nitrogênio, somado a isto, promove a renovação de outros agentes

antioxidantes como, vitamina E, C, A, coenzima Q10, GSH reduzida e atua como quelante de metais (SANTOS et al., 2010).

O dano oxidativo de lipídios tem sido frequentemente usado como um biomarcador de estresse oxidativo em diversas doenças, bem como na esquizofrenia (ZHANG et al., 2010). Logo, o aumento na concentração do malonildialdeído que ocorreu após tratamento em doses repetidas de KET, observado neste estudo, indica a participação da peroxidação lipídica na esquizofrenia. Este achado pode ser relacionado com dano das membranas celulares do hipocampo pela cetamina.

Dados semelhantes foram encontrados por Silva et al. (2010), ao demonstrarem que doses subanestésicas de cetamina, 10 e 20 mg/kg, no córtex pré-frontal aumentaram os níveis de MDA. Similarmente, foi verificada elevação de malonildialdeído no cerebelo, estriado e córtex pré-frontal após uma injeção de 10 mg/kg (OLIVEIRA et al., 2009) ou 20 mg/kg (MONTE et al., 2013) de cetamina. Outro estudo revelou que a dosagem de TBARS mostrou significativo acréscimo de MDA no hipocampo e tálamo de animais perinatais em tratamento com fenciclidina (PCP) (RADONJI'C et al., 2010).

Em contrapartida, o pré-tratamento da clorpromazina, somente na maior dose, reverteu o efeito da cetamina nas concentrações de malonildialdeído. Por outro lado, clorpromazina, na menor dose, somente conseguiu reverter o efeito do TBARS quando foi associado ao ALA, mostrando novamente importância dessa associação entre clorpromazina, dose dependente, e ALA.

Similarmente, o trabalho de Maduh et al. (1988) apontou efeito de neuroproteção pela clorpromazina ao dano oxidativo promovido pelo cianeto. Esta atividade da clorpromazina na toxicidade do cianeto está relacionada com a diminuição da peroxidação lipídica das membranas cerebrais.

Ademais, a peroxidação lipídica alterada pela cetamina, também, foi bloqueada por outros antipsicóticos, além da clorpromazina, visto que a clozapina, antipsicótico atípico, reduziu o MDA em córtex pré-frontal, hipocampo e corpo estriado de animais em tratamento com doses repetidas por 14 dias (VASCONCELOS et al., 2015). Ademais, este resultado foi obtido pela risperidona para o córtex pré-frontal, hipocampo e corpo estriado de animais em tratamento com doses repetidas por 14 dias (MONTE et al., 2013).

Portanto, o bloqueio sobre a concentração da peroxidação lipídica é uma atividade compartilhada por antipsicóticos típicos e atípicos.

Achado contraditório ao deste estudo evidenciou que dose única de clorpromazina promoveu elevação do MDA no córtex cerebral de animais (DEJANOVIC et al., 2016). Entretanto, a dose de clorpromazina utilizada no estudo de Dejanovic et al. (2016) (38,7 mg/kg) foi quase oito vezes maior que a dose mais elevada (5 mg/kg) adotada neste trabalho.

Além disso, a presença do ALA intensificou o efeito da clorpromazina, apenas na menor dose, sobre a redução na concentração do MDA. Em concordância, estudos anteriores demonstraram forte atividade antioxidante do ALA contra a peroxidação lipídica e de dano oxidativo de proteínas (ZEMBRON-LACNY et al., 2009; MARANGON et al., 1999).

Achado semelhante aponta que a administração precoce de ALA suprimiu o estresse oxidativo induzido por lipopolissacarídeo, expressos como uma diminuição na peroxidação lipídica e na geração de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> nos homogeneizados de córtex cerebral (GORAÇA; ASIĄNOWICZ-ANTKOWIAK, 2009).

Quanto à mieloperoxidase, trata-se da atividade de enzima presente em leucócitos da linhagem granulocítica e monocítica. Essa enzima utiliza o íon cloreto (Cl<sup>-</sup>) na presença de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> para gerar o ácido hipocloroso (HOCl), um potente oxidante que em condições fisiológicas normais é capaz de funcionar como importante agente antimicrobiano (SHAEIB et al., 2015).

Existem fortes evidências que alguns produtos gerados a partir de reações catalisadas por mieloperoxidase tenham papel na sinalização celular. Dentre estes produtos, merece atenção o oxigênio *singlete* (<sup>1</sup>O<sub>2</sub>). Em fagócitos, esta ERO poderia participar tanto do processo de morte de patógenos quanto da sinalização de eventos da inflamação (CRUZ, 2010). Destaca-se que esta peroxidase, potente na geração de radicais tóxicos e oxidantes, é aumentada no sistema nervoso central em doenças como a esclerose múltipla (ZHANG et al., 2015), doença de Parkinson (TEISMANN, 2014) e depressão (TALAROWSKA; SZEMRAJ; GAŁECKI, 2015)

Nesse contexto, este estudo, ao analisar a concentração de MPO, buscou verificar possíveis alterações inflamatórias associadas à indução de esquizofrenia pela administração em doses repetidas de cetamina. De fato,

encontrou-se significativa elevação na concentração de MPO após tratamento em doses repetidas com KET, ou seja, aumento na atividade desta enzima no hipocampo de animais tratados com KET. Semelhantemente, os resultados de Al-asmari e Khan (2014) apontam que a mieloperoxidase encontra-se em concentrações elevadas no soro de pacientes esquizofrênicos.

Green et al. (2004) observaram que o aumento da expressão da MPO no cérebro está relacionada com a neurodegeneração. Portanto, esta elevação na concentração da mieloperoxidase pode indicar neurodegeneração hipocampal induzida pela cetamina.

Em contrapartida, o aumento de MPO por KET foi significativamente revertido pelo pré-tratamento com CP1 ou CP5+KET em doses repetidas por 10 dias. Estes resultados indicam neuroproteção para o hipocampo pela clorpromazina para as doses estudadas na corrente investigação. O achado é relevante para terapêutica da esquizofrenia com antipsicótico, visto que uma relação entre inflamação e esquizofrenia tem sido apoiada por diversos pesquisadores (BORELLA et al., 2016; LEZA et al., 2015; FLATOW; BUCKLEY; MILLER, 2013; MACÊDO et al., 2012; SILVA et al., 2010; RADONJIĆ et al., 2010; MACZUREK et al., 2008) e a MPO parece estar fortemente relacionada ao processo inflamatório apontado para esquizofrenia (AL-ASMARI; KHAN, 2014).

Assim, a clorpromazina apresentou atividade de redução de dano neural, indicado indiretamente pela atividade da mieloperoxidase, para o hipocampo de rato pela cetamina em baixa dose.

Interessantemente, a associação de ALA ao grupo CP1 ou CP5+KET potencializou o efeito da clorpromazina sobre a MPO hipocampal em ambas as doses estudadas. Apesar da escassez de recursos bibliográficos acerca do efeito da associação de antipsicóticos e ácido lipóico sobre a concentração de MPO, outros estudos demonstraram o potencial do ALA em inibir o dano inflamatório e oxidativo desta enzima em uma variedade de desenhos experimentais (FEI et al., 2016; PETRONILHO et al., 2016; CAKIR et al, 2015; MYZAK; CARR, 2002). Vale destacar ainda que o ALA promove regulação na expressão gênica e na transcrição de fatores pró-inflamatórios (GORÇA et al., 2011).

Face ao exposto, pode-se inferir que existe crescente corpo de evidências que confirmam o envolvimento do estresse oxidativo e inflamação na patogênese da esquizofrenia, como afirmado anteriormente (BORELLA et al., 2016; LEZA et al., 2015; FLATOW; BUCKLEY; MILLER, 2013; SILVA et al., 2010; RADONJIĆ et al., 2010; MACZUREK et al., 2008). Contudo, os resultados deste estudo fornecem suporte à noção de que agentes oxidantes, como a cetamina, desempenham papéis importantes na fisiopatologia da esquizofrenia. Sugere-se que as intervenções que reduzem o estresse oxidativo e aumentem o sistema antioxidante, como o ácido lipóico, possam ser úteis no tratamento de pacientes com esquizofrenia.

Portanto, o uso do modelo farmacológico da esquizofrenia induzida por baixas doses de cetamina foi importante para compreensão dos principais mecanismos de onda cerebral relacionados com a regulação glutamatérgica no hipocampo, e que estes efeitos são provavelmente relacionados com a neuromodulação glutamatérgica na via dopaminérgica mesolímbica, pois os efeitos da cetamina foram revertidos pelo forte bloqueio dos receptores dopaminérgicos (RD2) antagonizados pela clorpromazina.

## 7 CONCLUSÃO

Em conclusão, o tratamento com cetamina em ratos promove mudanças eletroencefalográficas, comportamentais e neuroquímicas no hipocampo. As alterações podem estar relacionadas com a hipofunção dos receptores NMDA no sistema glutamatérgico e a clorpromazina sozinha ou associada ao ácido lipóico, a qual promoveu a reversão destes efeitos, mostrando atividade benéfica como neuroprotetores. Além disso, houve uma intensificação dos efeitos da clorpromazina, na menor dose, quando associada ao ALA para as alterações promovidas pela cetamina sobre a atividade elétrica da banda gama low, atividade locomotora, PP 75, concentração do GSH, nitrito, peroxidação lipídica e na concentração da MPO.

## REFERÊNCIAS

AL-ASMARI, A.; KHAN, M.W. Inflammation and schizophrenia: Alterations in cytokine levels and perturbation in antioxidative defense systems. **Hum Exp Toxicol.**, v. 33, n. 2, p. 115-22, 2014.

ADLER, Caleb M. et al. Effects of Ketamine on Thought Disorder, Working Memory, and Semantic Memory in Healthy Volunteers. **Biological Psychiatry**, v. 43, n. 11, p.811-816, 1998.

ALPHA-Lipoic acid monograph. **Alternative Medicine Review**, v. 11, n. 3, 2006.

AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION. Diagnostic and statistical manual of mental disorders. 5th ed. Arlington, VA: American Psychiatric Press; 2013.

ARARIPE NETO, A. G. A.; BRESSAN, R. A.; BUSATTO FILHO, G. Fisiopatologia da esquizofrenia. **Rev. Psiquiatr. Clín.**, v. 34, n. 2, p.198-203, 2007.

ARAÚJO, D. P. et al. The contributions of antioxidant activity of lipoic acid in reducing neurogenerative progression of Parkinson's disease: a review. **The International journal of neuroscience**, v. 121, n. 2, p. 51–7, fev. 2011.

ARAÚJO, D.P.; SOUSA, C.N.; ARAÚJO, P.V.; MENEZES, C.E.; SOUSA RODRIGUES, F.T.; ESCUDEIRO, S.S.; LIMA, N.B.; PATROCÍNIO, M.C.; AGUIAR, L.M.; VIANA, G.S.; VASCONCELOS, S.M. Behavioral and neurochemical effects of alpha-lipoic Acid in the model of Parkinson's disease induced by unilateral stereotaxic injection of 6-ohda in rat. **Evid Based Complement Alternat Med.**, 2013.

ARRUDA, M. O. V.; SOARES, P. M.; HONÓRIO JÚNIOR, J. E. R.; LIMA, R. C. S.; CHAVES, E. M. C.; LOBATO, R. F. G.; MARTIN, A. L. A. R.; SALES, G. T. M.; CARVALHO, K. M.; ASSREUY, A. M. S.; BRITO, E. M.; VASCONCELOS, S. M. M. Activities of the antipsychotic drugs haloperidol and risperidone on behavioural effects induced by ketamine in mice. **Sci. Pharm.**, v. 76, p. 673-687, 2008.

ARGUELLO, P.A.; GOGOS, J.A. A signaling pathway AKTing up in schizophrenia. **J Clin Invest.**, n. 118, p. 2018-2021, 2008.

ARCHER, J. Tests for emotionality in rats and mice: a review. **Anim Behav**, v. 21, n. 2, p. 205–235, 1973.

ATTRAMADAL, H., ARRIZA, J.L.; AOKI, C., DAWSON, T.M., CODINA, J., KWATRA, M.M., SNYDER, S.H.; CARON, M.G.; LEFKOWITZ, R.J. Beta-arrestin2, a novel member of the arrestin/beta-arrestin gene family. **J. Biol. Chem**, n.267, p. 17882–17890, 1992.

BABA, H.; SUZUKI, T.; ARAI, H.; EMSON, P.C. Expression of nNOS and soluble guanylate cyclase in schizophrenic brain. **Neuroreport**, v. 15, p. 677–680, 2004.

BALDEWEG, T. et al. Gamma-band electroencephalographic oscillations in a patient with somatic hallucinations. **Lancet (London, England)**, v. 352, p. 620–1, 1998.

BALU, D.T.; COYLE, J.T. Neuroplasticity signaling pathways linked to the pathophysiology of schizophrenia. **Neurosci Biobehav Rev**, v. 35, p. 848-70, 2011.

BARRETT, S. L. et al. Effects of Amisulpride, Risperidone and Chlorpromazine on Auditory and Visual Latent Inhibition, Prepulse Inhibition, Executive Function and Eye Movements in Healthy Volunteers. **Journal Of Psychopharmacology**, v. 18, n. 2, p.156-172, 2004.

BAŞAR, E. Brain oscillations in neuropsychiatric disease. **Dialogues Clin Neurosci.**, v. 15, n. 3, p.291-300, 2013.

BECKER, A.; PETERS, B.; SCHROEDER, H.; MANN, T.; HUETHER, G.; GRECKSCH, G. Ketamine-induced changes in rat behaviour: A possible animal model of schizophrenia. **Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry**, v.27, p.687-700, 2003.

BÉGOU, M. et al. The stop null mice model for schizophrenia displays [corrected] cognitive and social deficits partly alleviated by neuroleptics. **Neuroscience**, v. 157, n. 1, p. 29–39, 11 nov. 2008.

BENCHERIF, M.; STACHOWIAK, M.K.; KUCINSKI, A.J.; LIPPIELLO, P.M. Alpha7 nicotinic cholinergic neuromodulation may reconcile multiple neurotransmitter hypotheses of schizophrenia. **Medical hypotheses**, v.78, n. 5, p. 594-600, 2012.

BERK, M.; NG, F.; DEAN, O.; DODD, S.; BUSH, A.I. Glutathione: a novel treatment target in psychiatry. **Trends Pharmacol. Sci.**, v. 29, n. 7, p. 346-351, 2008.

BITANHIRWE, B.K.Y.; WOO, T.W. Oxidative stress in schizophrenia: An integrated approach Review Article. **Neurosci. Biobehav. Rev.**, v. 35, n. 3, p. 878-893, 2011.

BOEIJINGA, P. H. et al. Ketamine effects on CNS responses assessed with MEG/EEG in a passive auditory sensory-gating paradigm: an attempt for modelling some symptoms of psychosis in man. **Journal Of Psychopharmacology**, v. 21, n. 3, p.321-337, 2007.

BORELLA, V.C.M. et al. Gender and estrous cycle influences on behavioral and neurochemical alterations in adult rats neonatally administered ketamine. **Devel Neurobio**, v. 76, n. 5, p.519-532, 2016.

BRAFF, D. L.; GEYER, M. A.; SWERDLOW, N. R. Human studies of prepulse inhibition of startle: normal subjects, patient groups, and pharmacological studies. **Psychopharmacology**, v. 156, n. 2-3, p. 234–58, 2001.

BRAFF, D. L. et al. Deconstructing schizophrenia: an overview of the use of endophenotypes in order to understand a complex disorder. **Schizophrenia bulletin**, v. 33, n. 1, p. 21–32, 2007.

BRADLEY, P.P.; CHRISTENSEN, R.D.; ROTHSTEIN, G. Cellular and extracellular myeloperoxidase in pyogenic inflammation. **Blood.**, n. 60, v. 3, p. 618-22, 1982.

BITANHIRWE, B.K.Y.; WOO, T.W. Oxidative stress in schizophrenia: An integrated approach Review Article. **Neurosci. Biobehav. Rev.**, v. 35, n. 3, p. 878-893, 2011.

BRUNTON, L.L; CHABNER, B.A.; KNOLLMAN, B.C. **Goodman & Gilman: As bases farmacológicas da terapêutica**. 12<sup>a</sup> ed. Rio de Janeiro: Mcgraw Hill, 2012. 2112 p.

BUBENIKOVA-VALESOVA, V.; HORACEK, J.; VRAJOVÁ, M.; HOSCHL, C. Models of schizophrenia in humans and animals base don inhibition of NMDA receptors. **Neurosci. Biobehav. Rev.**, v. 32, p. 1014-1023, 2008.

BUNNEY, B. G.; POTKIN, S. G.; BUNNEY, W. E. New morphological and neuropathological findings in schizophrenia: a neurodevelopmental perspective. **Clin Neurosci.**, v. 3, n. 2, p.81–8, 1995.

BUUSE, Maarten van Den; MINGON, Rebecca L.; GOGOS, Andrea. Chronic estrogen and progesterone treatment inhibits ketamine-induced disruption of prepulse inhibition in rats. **Neuroscience Letters**, v. 607, p.72-76, 2015.

CABUNGCAL, J. et al. Glutathione deficit during development induces anomalies in the rat anterior cingulate GABAergic neurons: Relevance to schizophrenia. **Neurobiology Of Disease**, v. 22, n. 3, p.624-637, 2006.

CAIXETA, F. V.; CORNÉLIO, A.M.; SCHEFFER-TEIXEIRA, R.; RIBEIRO, S.; TORT, A.B.L. Ketamine alters oscillatory coupling in the hippocampus. **Sci. Rep.**, [s.l.], v. 3, p.1-10, 2013.

CAKIR, T. et al . Does alfa lipoic acid prevent liver from methotrexate induced oxidative injury in rats?. **Acta Cir. Bras.**, v. 30, n. 4, p. 247-252, 2015.

CASSEL, J. C. et al. The reuniens and rhomboid nuclei: neuroanatomy, electrophysiological characteristics and behavioral implications. **Prog. Neurobiol.**, 111, p. 34–52, 2013.

CHATTERJEE, Manavi et al. Neurochemical and molecular characterization of ketamine-induced experimental psychosis model in mice. **Neuropharmacology**, v. 63, n. 6, p.1161-1171, 2012.

CHATTERJEE, M.; GANGULY, S.; SRIVASTAVA, M.; PALIT, G. Effect of 'chronic' versus 'acute' ketamine administration and its 'withdrawal' effect on behavioural alterations in mice: Implications for experimental psychosis. **Behav. Brain Res.**, v. 216, n. 1, p. 247-254, Aug. 2011.

CHINDO, B. A. et al. Ketamine-enhanced immobility in forced swim test: a possible animal model for the negative symptoms of schizophrenia. **Progress in neuro-psychopharmacology & biological psychiatry**, v. 38, n. 2, p. 310–6, 7 ago. 2012.

CHITTIPROL, S.; VENKATASUBRAMANIAN, G.; NEELAKANTACHAR, N.; BABU, S. V. S.; REDDY, N. A.; SHETTY, K. T.; GANGADHAR, B. N. Oxidative stress and neopterin abnormalities in schizophrenia: A longitudinal study Original Research Article. **J. Psychiatr. Res.**, v. 44, n. 5, p.310-313, 2009.

CONSTANT, I.; SABOURDIN, N. The EEG signal: a window on the cortical brain activity. **Paediatr Anaesth**, v. 22, n. 6, p. 539–52, 2012.

COSTA; P.H.A.; COLUGNATI, F.A.B.; RONZANI, T.M. Mental health services assessment in Brazil: Systematic literature review. **Ciencia e Saude Coletiva**, v.20, n.10, p.3243-3253, 2015.

COUSIJN, H.; TUNBRIDGE, E. M.; ROLINSKI, M.; WALLIS, G.; COLCLOUGH, G.L.; WOOLRICH, M.W.; NOBRE, A.C.; HARRISON, P.J. Modulation of hippocampal theta and hippocampal-prefrontal cortex function by a schizophrenia risk gene. **Hum. Brain Mapp.** v. 36, 2387–95, 2015.

COYLE, J.T. The GABA-glutamate connection in schizophrenia: which is the proximate cause? **Biochem Pharmacol**, n. 68, p. 1507–1514, 2004.

CRAVEN, R. Ketamine. **Anaesthesia**, v. 62, p. 48–53, 2007.

CRUZ, W.A.S. **Atividade de mieloperoxidase e formação de oxigênio singlete em monócitos, macrófagos e células dendríticas: localização versus atividade.** 2010. 60 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010.

DANIVAS, V.; VENKATASUBRAMANIAN, G. Current perspectives on chlorpromazine equivalents: Comparing apples and oranges! **Indian J. Psychiatry**, v. 55, p. 207–8, 2013.

DALL'IGNA, O. P. et al. Caffeine and adenosine A(2a) receptor antagonists prevent beta-amyloid (25-35)-induced cognitive deficits in mice. **Experimental neurology**, v. 203, n. 1, p. 241–5, jan. 2007.

DAVIS, K. L.; KAHN, R. S.; KO, G.; DAVIDSON, M. Dopamine in schizophrenia: a review and reconceptualization. **Am. J. Psychiatry**, v. 148, p. 1474–1486, 1991.

DEJANOVIC, B. et al. Agmatine protection against chlorpromazine-induced forebrain cortex injury in rats. **Journal Of Veterinary Science**, v. 1, n. 17, p.53-61, 2016.

DELLU, F. et al. Genetic differences in response to novelty and spatial memory using a two-trial recognition task in mice. **Neurobiology of learning and memory**, v. 73, n. 1, p. 31–48, jan. 2000.

DEMIRALP, T. et al. DRD4 and DAT1 polymorphisms modulate human gamma band responses. **Cereb. Cortex**, 17, 1007–19, 2007.

DIMPFEL, W.; SPÜLER, M.. Dizocilpine (MK-801), ketamine and phencyclidine: low doses affect brain field potentials in the freely moving rat in the same way as activation of dopaminergic transmission. **Psychopharmacology**, v. 101, n. 3, p.317-323, 1999.

DREXHAGE, Roosmarijn C. et al. An activated set point of T-cell and monocyte inflammatory networks in recent-onset schizophrenia patients involves both pro- and anti-inflammatory forces. **The International Journal Of Neuropsychopharmacology**, v. 14, n. 06, p.746-755, 2011.

DESLAURIERS, J., RACINE, W., SARRET, P., GRIGNON, S. Preventive effect of  $\alpha$ -lipoic acid on prepulse inhibition deficits in a juvenile two-hit model of schizophrenia. **Neuroscience**, n. 272, p. 261-70, 2014.

DESBONNET, L.; WADDINGTON, J. L.; O'TUATHAIGH, C. M. P. Mutant models for genes associated with schizophrenia. **Biochemical Society transactions**, v. 37, n. Pt 1, p. 308–12, 2009.

DRINGENBERG, Hans C.; DIAVOLITSIS, Peter. Electroencephalographic activation by fluoxetine in rats: role of 5-HT<sub>1A</sub> receptors and enhancement of concurrent acetylcholinesterase inhibitor treatment. **Neuropharmacology**, v. 42, n. 2, p.154-161, 2002.

DO, K.Q.; CABUNGCAL, J.H.; FRANK, A., STEULLET, P.; CUENOD, M. Redox dysregulation, neurodevelopment, and schizophrenia. **Curr. Opin. Neurobiol.**, v. 19, n. 2, p. 220–230, 2009.

EHLERS, C. L.; KANEKO, W. M.; WALL, T. L.; CHAPLIN, R. I. Effects of dizocilpine (MK-801) and ethanol on the EEG and event-related potentials (ERPs) in rats. **Neuropharmacology**, v. 31, n. 4, p.369–78, 1992.

EHRlichman, R.s. et al. N-methyl-d-aspartic acid receptor antagonist–induced frequency oscillations in mice recreate pattern of electrophysiological deficits in schizophrenia. **Neuroscience**, v. 158, n. 2, p.705-712, 2009.

ERBAŞ, Oytun. Rat modelinde tipik ve atipik antipsikotik ilaçların beyin elektriksel aktivitesi üzerine etkileri. **Journal Of Clinical And Experimental Investigations**, v. 4, n. 3, p.279-284, 2013.

EYLES, D; FELDON, J; MEYER, U. Schizophrenia: do all roads lead to dopamine or is this where they start? Evidence from two epidemiologically informed developmental rodent models. **Translational Psychiatry**, v. 81, n. 2, p.1-10, 2012.

FEI, M. et al. Alpha-lipoic acid protects mice against concanavalin A-induced hepatitis by modulating cytokine secretion and reducing reactive oxygen species generation. **International Immunopharmacology**, v. 35, p.53-60, 2016.

FENDRI, C. et al. Implication du stress oxydant dans la physiopathologie de la schizophrénie: revue de la littérature. **L'encéphale**, v. 32, n. 2, p.244-252, 2006.

FINK, Max. Remembering the lost neuroscience of pharmaco-EEG. **Acta Psychiatrica Scandinavica**, v. 121, n. 3, p.161-173, 2010.

FLATOW, Joshua; BUCKLEY, Peter; MILLER, Brian J.. Meta-Analysis of Oxidative Stress in Schizophrenia. **Biological Psychiatry**, v. 74, n. 6, p.400-409, 2013.

FLECKENSTEIN, A. E.; VOLZ, T. J.; RIDDLE, E. L.; GIBB, J. W.; HANSON, G. R. New insights into the mechanism of action of amphetamines. **Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.**, v. 47, p. 681–698, 2007.

FRYDECKA, D. et al. Interleukin-6: the missing element of the neurocognitive deterioration in schizophrenia? The focus on genetic underpinnings, cognitive impairment and clinical manifestation. **European archives of psychiatry and clinical neuroscience**, 12 set. 2014.

GANGULI, R.; REYNOLDS, C. F.; KUPFER, D. J. Electroencephalographic sleep in young, never-medicated schizophrenics. A comparison with delusional and nondelusional depressives and with healthy controls. **Arch Gen Psychiatry**, v. 44, n. 1, p. 36–44, 1987.

GEISLER, Daniel et al. Brain structure and function correlates of cognitive subtypes in schizophrenia. **Psychiatry Research: Neuroimaging**, v. 234, n. 1, p.74-83, 2015.

GEYER, M. A.; MOGHADDAM, B., Animal Models Relevant to Schizophrenia Disorders. In: DAVIS, K. L.; CHARNEY, D.; COYLE, J. T.; NEMEROFF, C. **Neuropsychopharmacology: The Fifth Generation of Progress**. 5th ed. 2002. cap. 50, p. 689-701.

GEYER, M. A.; MCILWAIN, K. L.; PAYLOR, R. Mouse genetic models for prepulse inhibition: an early review. **Molecular psychiatry**, v. 7, n. 10, p. 1039–53, 2002.

GIAKOUMAKI, S. G. Cognitive and prepulse inhibition deficits in psychometrically high schizotypal subjects in the general population: relevance to schizophrenia research. **Journal of the International Neuropsychological Society: JINS**, v. 18, n. 4, p. 643–56, 2012.

GOC, Zofia et al. Antioxidative effects of  $\alpha$ -lipoic acid in the brain, liver and kidneys in selected mouse organs exposed to zymosan. **Acta Biologica Hungarica**, v. 66, n. 3, p.258-269, 2015.

GORĄCA, Anna; AŚIANOWICZ-ANTKOWIAK, Katarzyna. Prophylaxis with  $\alpha$ -lipoic acid against lipopolysaccharide-induced brain injury in rats. **Arch. Immunol. Ther. Exp.**, v. 57, n. 2, p.141-146, 2009.

GREEN, M. F. et al. Neurocognitive Deficits and Functional Outcome in Schizophrenia: Are We Measuring the. **Schizophrenia Bulletin**, v. 26, n. 1, p.119-136, 2000.

GREEN, Pattie S. et al. Neuronal expression of myeloperoxidase is increased in Alzheimer's disease. **Journal Of Neurochemistry**, [s.l.], v. 90, n. 3, p.724-733, ago. 2004.

GREEN, L.; GOLDMAN, P. Nitrate synthesis in the germfree and conventional rat. **Science**, v. 212, n. 4490, p. 56–58, abr. 1981.

GUIZZO, R. **Esquizofrenia: aspectos neurobiológicos básicos**. [S.l.]: INeC – Instituto de Neurociências e Comportamento, 2009. Disponível em: <<http://www.inec-usp.org/cursos/cursoV/cursoV.htm>>. Acesso em: 11 maio 2011.

GUNDUZ-BRUCE, H. The acute effects of NMDA antagonism: From the rodent to the human brain. **Brain Res. Rev.**, v. 60, n. 2, p. 279-286, 2009.

GUO, Xiaofeng et al. Neurocognitive effects of first- and second-generation antipsychotic drugs in early-stage schizophrenia: A naturalistic 12-month follow-up study. **Neuroscience Letters**, v. 503, n. 2, p.141-146, 2011.

GYSIN, R. et al. Impaired glutathione synthesis in schizophrenia: convergent genetic and functional evidence. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 104, n. 42, p. 16621–6, 2007.

HASAN, Alkomiet et al. Hippocampal integrity and neurocognition in first-episode schizophrenia: A multidimensional study. **The World Journal Of Biological Psychiatry**, v. 15, n. 3, p.188-199, 2014.

HAWK, L. W. et al. The effects of methylphenidate on prepulse inhibition during attended and ignored prestimuli among boys with attention-deficit hyperactivity disorder. **Psychopharmacology**, v. 165, n. 2, p. 118–27, jan. 2003.

HECKERS, S.; KONRADI, C. Hippocampal pathology in schizophrenia. **Curr. Top. Behav. Neurosci.** v. 4, 529–53, 2010.

HERRMANN, C; DEMIRALP, T. Human EEG gamma oscillations in neuropsychiatric disorders. **Clinical Neurophysiology**, v. 116, n. 12, p.2719-2733, 2005.

HETEM, L.A.; DANION, J.M.; DIEMUNSCH, P.; BRANDT, C. Effect of a subanesthetic dose of ketamine on memory and conscious awareness in healthy volunteers. **Psychopharmacology (Berl)**, v. 152, p. 283-288, 2008.

HILL, R.A. Sex differences in animal models of schizophrenia shed light on the underlying pathophysiology. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, p.1-16, 2015.

HOFFMAN, H. S.; ISON, J. R. Reflex modification in the domain of startle: I. Some empirical findings and their implications for how the nervous system processes sensory input. **Psychological Review**, v. 87, n. 2, p. 175–189, 1980.

HOU, Yue et al. Effects of clozapine, olanzapine and haloperidol on nitric oxide production by lipopolysaccharide-activated N9 cells. **Progress In Neuro-psychopharmacology And Biological Psychiatry**, v. 30, n. 8, p.1523-1528, 2006.

HUANG, T.; LIOU, C.; LIN, T. Serum thiobarbituric acid-reactive substances and free thiol levels in schizophrenia patients: Effects of antipsychotic drugs Original Research Article. **Psychiatry Res.**, v. 177, n. 1-2, p. 18-21, 2010.

HUANG, He et al. Ketamine Affects the Neurogenesis of the Hippocampal Dentate Gyrus in 7-Day-Old Rats. **Neurotoxicity Research**, p.1-14, 2016.

HUANG, He et al. Ketamine Interferes with the Proliferation and Differentiation of Neural Stem Cells in the Subventricular Zone of Neonatal Rats. **Cellular Physiology And Biochemistry**, v. 35, n. 1, p.315-325, 2015.

HUGO, Estefania et al. Kinetics of the Reaction of Pyrogallol Red, a Polyphenolic Dye, with Nitrous Acid: Role of  $\dot{Y}NO$  and  $\dot{Y}NO_2$ . **Molecules**, v. 20, n. 6, p.10582-10593, 2015.

HUONG, NT; MATSUMOTO, K; KASAI, R; YAMASAKI, K; WATANABE, H. In vitro antioxidant activity of Vietnamese ginseng saponin and its components. **Biol Pharm Bull.**, n. 21, v. 9, p. 978-81, 1998.

ISSY, A. C.; SALUM, C.; DEL BEL, E. A. Nitric oxide modulation of methylphenidate-induced disruption of prepulse inhibition in Swiss mice. **Behavioural brain research**, v. 205, n. 2, p. 475–81, 28 dez. 2009.

JALILI, Mahdi; KNYAZEVA, Maria G.. CONSTRUCTING BRAIN FUNCTIONAL NETWORKS FROM EEG: PARTIAL AND UNPARTIAL

CORRELATIONS. **Journal Of Integrative Neuroscience**, v. 10, n. 02, p.213-232, 2011.

JOHN, E. R. The neurophysics of consciousness. **Brain Res Brain Res Rev.**, v. 39, n. 1, p.1–28, 2002.

KAJIMURA, N. et al. Relationship between delta activity during all-night sleep and negative symptoms in schizophrenia: a preliminary study. **Biol Psychiatry**, v. 39, p. 6, p. 451–4, 1996.

KATO, M. et al. Association between delta waves during sleep and negative symptoms in schizophrenia. Pharmacoeeg studies by using structurally different hypnotics. **Neuropsychobiology**, v. 39, n. 3, p. 165–72, 1999.

KEEFE, R. S.; BILDER, R. M.; DAVIS, S.; HARVEY, P. D.; PALMER, B. W.; GOLD, J. M. *et al.* Neurocognitive effects of antipsychotic medications in patients with chronic schizophrenia in the catie trial. **Arch. Gen. Psychiatry**, v. 64, p. 633–647, 2007.

KESHAVAN, M. S.; MIEWALD, J.; HAAS, G.; SWEENEY, J.; GANGULI, R.; REYNOLDS, C. F. Slow-wave sleep and symptomatology in schizophrenia and related psychotic disorders. **J Psychiatr Res.**, v. 29, n. 4, p. 303–14, 1995.

KIM, J.W. et al. Diagnostic utility of quantitative EEG in un-medicated schizophrenia. **Neuroscience Letters**, v. 589, p.126-131, 2015.

KIM, Y.-K. et al. Cytokine changes and tryptophan metabolites in medication-naïve and medication-free schizophrenic patients. **Neuropsychobiology**, v. 59, n. 2, p. 123–9, 1 jan. 2009.

KITTELBERGER, K.; HUR, E. E.; SAZEGAR, S.; KESHAVAN, V.; KOCSIS, B. Comparison of the effects of acute and chronic administration of ketamine on hippocampal oscillations: relevance for the NMDA receptor hypofunction model of schizophrenia. **Brain Struct Funct.**, v. 217, n. 2, p.395–409, 2011.

KOENIG, J.I.; CARPENTER W.T. Schizophrenia Research Forum; Animal models for Schizophrenia Research (2015) from <[http://schizophreniaforum.org/res/animal/animal\\_tables.asp](http://schizophreniaforum.org/res/animal/animal_tables.asp)>

KOGA, Minori et al. Implications for reactive oxygen species in schizophrenia pathogenesis. **Schizophrenia Research**, p.1-20, 2015.

KOLTUKSUZ, U. et al. Testicular nitric oxide levels after unilateral testicular torsion/detorsion in rats pretreated with caffeic acid phenethyl ester. **Urological research**, v. 28, n. 6, p. 360–3, 2000.

KOTANI, Manato et al. The atypical antipsychotic blonanserin reverses (+)-PD-128907- and ketamine-induced deficit in executive function in common marmosets. **Behavioural Brain Research**, v. 305, p.212-217, 2016.

KRYSTAL, J. H. et al. 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.

KULAK, A.; CUENOD, M.; DO, K. Q. Behavioral phenotyping of glutathione-deficient mice: relevance to schizophrenia and bipolar disorder. **Behavioural brain research**, v. 226, n. 2, p. 563–70, 2012.

LATEEF, H.; ASLAM, M.N.; STEVENS, M.J.; VARANI, J. Pretreatment of diabetic rats with lipoic acid improves healing of subsequently-induced abrasion wounds. **Archives of Dermatological Research**, n. 297, v. 2, p. 75-83, 2005.

LAZAREWICZ, M. T.; EHRLICHMAN, R. S.; MAXWELL, C. R.; GANDAL, M. J.; FINKEL, L. H.; SIEGEL, S. J. Ketamine modulates theta and gamma oscillations. **J Cogn Neurosci.**, v. 22, n. 7, p. 1452–64, 2010.

LEE, S. H. et al. Initial and Progressive Gray Matter Abnormalities in Insular Gyrus and Temporal Pole in First-Episode Schizophrenia Contrasted With First-Episode Affective Psychosis. **Schizophr.** 2015.

LEE, Seung-hwan et al. Dysfunctional gamma-band activity during face structural processing in schizophrenia patients. **Schizophrenia Research**, v. 119, n. 1-3, p.191-197, 2010.

LEE, Kwang-hyuk et al. Synchronous Gamma activity: a review and contribution to an integrative neuroscience model of schizophrenia. **Brain Research Reviews**, v. 41, n. 1, p.57-78, 2003.

LEVIN, R. et al. Spontaneously Hypertensive Rats (SHR) present deficits in prepulse inhibition of startle specifically reverted by clozapine. **Progress in neuro-psychopharmacology & biological psychiatry**, v. 35, n. 7, p. 1748–52, 15 ago. 2011.

LEUNG, L. W.; DESBOROUGH, K. A. APV, an N-methyl-D-aspartate receptor antagonist, blocks the hippocampal theta rhythm in behaving rats. **Brain Res.**, v. 463, n. 1, p.148–52, 1988.

LEZA, J.C. et al. Inflammation in schizophrenia: A question of balance. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 55, p. 612-626, 2015.

LIEBE, S. et al. Theta coupling between V4 and prefrontal cortex predicts visual short-term memory performance. **Nat. Neurosci.** v. 15, p. 456–62, S1–2, 2012.

LINDENMAYER, J.; NASRALLAH, H.; PUCCI, M.; JAMES, S.; CITROME, L. A systematic review of psychostimulant treatment of negative symptoms of schizophrenia: Challenges and therapeutic opportunities. **Schizophrenia Research**, v. 147, p.241-252, 2013.

LINDENMAYER, J.; KAUR, A. Antipsychotic Management of Schizoaffective Disorder: A Review. **Drugs**, v. 76, n. 5, p.589-604, 2016.

LIN, C.; LANE, H.; TSAI, G. E. Glutamate signaling in the pathophysiology and therapy of schizophrenia. **Pharmacol. Biochem. Behav.**, Apr. 2011.

LIU, L. et al. Tyrosine hydroxylase, interleukin-1beta and tumor necrosis factor-alpha are overexpressed in peripheral blood mononuclear cells from schizophrenia patients as determined by semi-quantitative analysis. **Psychiatry research**, v. 176, n. 1, p. 1– 7, 30 mar. 2010.

LLADÓ-PELFORT, L. et al. Phencyclidine-induced disruption of oscillatory activity in prefrontal cortex: Effects of antipsychotic drugs and receptor ligands. **European Neuropsychopharmacology**, v. 26, n. 3, p.614-625, 2016.

LORES-ARNAIZ, Silvia et al. Brain mitochondrial nitric oxide synthase: in vitro and in vivo inhibition by chlorpromazine. **Archives Of Biochemistry And Biophysics**, v. 430, n. 2, p.170-177, 2004.

MA, J.; TAI, S.K.; LEUNG, L.S. Ketamine-induced deficit of auditory gating in the hippocampus of rats is alleviated by medial septal inactivation and antipsychotic drugs. **Psychopharmacology**, v. 206, n. 3, p.457-467, 2009.

MACZUREK, A. et al. Lipoic acid as an anti-inflammatory and neuroprotective treatment for Alzheimer's disease☆. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 60, n. 13-14, p.1463-1470, 2008.

MACÊDO, D.S., MEDEIROS, C.D., CORDEIRO, R.C., SOUSA, F.C., SANTOS, J. V, MORAIS, T.A., HYPHANTIS, T.N., MCINTYRE, R.S., QUEVEDO, J., CARVALHO, A.F. Effects of alpha-lipoic acid in an animal model of mania induced by D-amphetamine. **Bipolar Disord.**, n. 14, p. 707–18, 2012.

MACÊDO, D.S. et al. Animal models of prenatal immune challenge and their contribution to the study of schizophrenia: a systematic review. **Braz J Med Biol Res**, v. 45, n. 3, p.179-186, 2012.

MADUH, E.u. et al. Cyanide-induced neurotoxicity: Mechanisms of attenuation by chlorpromazine. **Toxicology And Applied Pharmacology**, v. 96, n. 1, p.60-67, 1988.

MAGNI, Danieli Valnes et al. Creatine decreases convulsions and neurochemical alterations induced by glutaric acid in rats. **Brain Research**, v. 1185, p.336-345, 2007.

MAGNI, Danieli Valnes et al. Lipopolysaccharide enhances glutaric acid-induced seizure susceptibility in rat pups: Behavioral and electroencephalographic approach. **Epilepsy Research**, v. 93, n. 2-3, p.138-148, 2011.

MAHADIK, Sahebarao P.; EVANS, Denise; LAL, Harbns. Oxidative stress and role of antioxidant and  $\omega$ -3 essential fatty acid supplementation in

schizophrenia. **Progress In Neuro-psychopharmacology And Biological Psychiatry**, v. 25, n. 3, p.463-493, 2001.

MANSBACH, R. S.; GEYER, M. A.; BRAFF, D. L. Dopaminergic stimulation disrupts sensorimotor gating in the rat. **Psychopharmacology**, v. 94, n. 4, p. 507–14, jan. 1988.

MARANGON, K. et al. Comparison of the effect of alpha-lipoic acid and alpha-tocopherol supplementation on measures of oxidative stress. **Free radical biology & medicine**, v. 27, n. 9-10, p. 1114–21, 1999.

MARTINEZ-GRAS, I. et al. The relationship between prepulse inhibition and general psychopathology in patients with schizophrenia treated with long-acting risperidone. **Schizophrenia research**, v. 115, n. 2-3, p. 215–21, dez. 2009.

MENEGATTI, R.; FRAGA, C. A. M.; BARREIRO, E. J.; LIMA, V. L. E.; COSTA, T. D.; RATES, S. M. K. Esquizofrenia: Quarenta anos da hipótese dopaminérgica sob ótica da química medicinal. **Quim. Nova**, v.27, n.3, p. 447-455, 2004.

MATTIA, A.; MORETON, J. E. Electroencephalographic (EEG), EEG power spectra, and behavioral correlates in rats given phencyclidine. **Neuropharmacology**, v. 25, p. 763–9. 1986.

MCGRATH, J.; SAHA, S.; CHANT, T.; WELHAM, J. Schizophrenia: a concise overview of incidence, prevalence, and mortality. **Epidemiol. Rev.**, v. 30, p. 67–76, 2008.

MIN, Byoung-kyong et al. Focused ultrasound-mediated suppression of chemically-induced acute epileptic EEG activity. **Bmc Neuroscience**, v. 12, n. 1, p.1-12, 2011

MOGHADDAM, A.H.; SOBARZO-SÁNCHEZ, E.; NABAVI, S.F.; DAGLIA, M.; NABAVI, S.M. Evaluation of the antipsychotic effects of 2-(dimethylamino)- and 2-(methylamino)-7H-naphtho[1,2,3-de]quinolin-7-one derivatives in experimental model of psychosis in mice. **Curr. Top. Med. Chem.**, v. 14, p. 229-233, 2014.

MOINI, H.; PACKER, L.; SARIS, N.-E. L. Antioxidant and prooxidant activities of alpha-lipoic acid and dihydrolipoic acid. **Toxicology and applied pharmacology**, v. 182, n. 1, p. 84–90, 2002.

MOLINA, V. et al. Prepulse inhibition of the startle reflex in schizophrenia remains stable with short-term quetiapine. **European psychiatry: the journal of the Association of European Psychiatrists**, v. 26, n. 5, p. 271–5, 2011.

MOLTENI, R.; CALABRESE, F.; RACAGNI, G.; FUMAGALLI, F.; RIVA, M.A. Antipsychotic drug actions on gene modulation and signaling mechanisms. **Pharmacol. Ther.**, v. 124, n. 1, p. 74-85, 2009.

MOMCILOVIC-KOSTADINOVIC, Dragana et al. Chlorpromazine-induced status epilepticus: A case report. **Srp Arh Celok Lek**, v. 141, n. 9-10, p.667-670, 2013.

MONTE, A.S.; SOUZA, G.C.; MCINTYRE, R.S.; SOCZYNSKA, J.K.; SANTOS, J.V.; CORDEIRO, R.C.; RIBEIRO, B.M.M.; LUCENA, D.F.; VASCONCELOS, S.M.M.; SOUSA, F.C.F.; CARVALHO, A.F.; MACÊDO, D.S. Prevention and reversal of ketamine-induced schizophrenia related behavior by minocycline in mice: Possible involvement of antioxidant and nitregeric pathways. **J. Psychopharmacol.**, v. 27, p. 1032-1043, 2013.

MORAN, L. V.; HONG, L. E.. High vs Low Frequency Neural Oscillations in Schizophrenia. **Schizophrenia Bulletin**, v. 37, n. 4, p.659-663, 2011.

MOREIRA, F. A.; GUIMARÃES, F. S. Mecanismos de ação dos antipsicóticos: Hipótese dopaminérgica. **Medicina**, Ribeirão Preto, v. 40, p. 63-71, 2007.

MULERT, C. et al. Long-range synchrony of gamma oscillations and auditory hallucination symptoms in schizophrenia. **International Journal Of Psychophysiology**, v. 79, n. 1, p.55-63, 2011.

MUSTAFA, A. K.; GADALLA, M. M.; SNYDER, S. H. Signaling by gasotransmitters. **Sci. Signal.**, v. 2, n. 68, p. 1-8, 2009.

MYZAK, M.C.; CARR, A.C.. Myeloperoxidase-dependent caspase-3 activation and apoptosis in HL-60 cells: protection by the antioxidants ascorbate and (dihydro)lipoic acid. **Redox Report**, v. 7, n. 1, p.47-53, 2002.

NEWCOMER, J. Ketamine-Induced NMDA Receptor Hypofunction as a Model of Memory Impairment and Psychosis. **Neuropsychopharmacology**, v. 20, n. 2, p.106-118, 1999.

NORDBERG, J.; ARNÉR, E.S. Reactive oxygen species, antioxidants, and the mammalian thioredoxin system. **Free Radic. Biol. Med.**, v. 31, p. 1287–1312, 2001.

O'BRIEN, S. M.; SCULLY, P.; DINAN, T. G. Increased tumor necrosis factor-alpha concentrations with interleukin-4 concentrations in exacerbations of schizophrenia. **Psychiatry research**, v. 160, n. 3, p. 256–62, 30 set. 2008.

OLIVEIRA, L.; SPIAZZI, C.M.S.; BORTOLIN, T.; CANEVER, L.; PETRONILHO, F.; MINA, F.G.; DAL-PIZZOL, F.; QUEVEDO, J.; ZUGNO, A.I. Different sub-anesthetic doses of ketamine increase oxidative stress in the brain of rats. **Progr. Neuro-Psychopharmacol. Biol. Psychiatry**, v. 33, p. 1003–1008, 2009.

OWEN, M.J; SAWA, A.; MORTENSEN, P.B. Schizophrenia. **The Lancet**, p.1-12, 2016.

OHNUMA, T.; ARAI, H. Significance of NMDA receptor-related glutamatergic amino acid levels in peripheral blood of patients with schizophrenia. **Progr. Neuro-Psychopharmacol. Biol. Psychiatry**, v. 35, n. 1, p. 29-39, 2011.

OZYURT, H. et al. Potential role of some oxidant / antioxidant status parameters in prefrontal cortex of rat brain in an experimental psychosis model and the protective effects of melatonin. **Eur Rev Med Pharmacol Sci.**, v.18, n.15, p. 2137–2144, 2014.

PADURARIU, M.; CIOBICA, A.; DOBRIN, I.; STEFANESCU, C. Evaluation of antioxidant enzymes activities and lipid peroxidation in schizophrenic patients treated with typical and atypical antipsychotics. **Neurosci. Lett.**, v. 479, n. 3, p. 317-320, 2010.

PÁLENÍČEK, T. et al. Electroencephalographic spectral and coherence analysis of ketamine in rats: correlation with behavioral effects and pharmacokinetics. **Neuropsychobiology**, v. 63, n. 4, p.202-218, 2011.

PAULUS, M. P.; GEYER, M. A. A temporal and spatial scaling hypothesis for the behavioral effects of psychostimulants. **Psychopharmacology**, v. 104, n. 1, p. 6–16, jan. 1991.

PAXINOS, George; WATSON, Charles. **The Rat Brainin Stereotaxic Coordinates**. London: Academic Press, 1997.

PEREZ, S.M.; LODGE, D.J. New approaches to the management of schizophrenia: focus on aberrant hippocampal drive of dopamine pathways. **Drug Des Devel Ther.**, v. 8, n. 1, p.887-896, 2014.

PEUSKENS, J. et al. The Effects of Novel and Newly Approved Antipsychotics on Serum Prolactin Levels: A Comprehensive Review. **Cns Drugs**, p.421-453, 2014.

PILLAI, A. et al. Long-term antipsychotic treatments and crossover studies in rats: Differential effects of typical and atypical agents on the expression of antioxidant enzymes and membrane lipid peroxidation in rat brain. **Journal Of Psychiatric Research**, v. 41, n. 5, p.372-386, 2007.

POLANÍA, R. et al. The importance of timing in segregated theta phase-coupling for cognitive performance. **Curr. Biol.**, v. 22, p.1314–8, 2012.

POTVIN, Stéphane et al. Inflammatory Cytokine Alterations in Schizophrenia: A Systematic Quantitative Review. **Biological Psychiatry**, v. 63, n. 8, p.801-808, 2008.

POWELL, S. B.; ZHOU, X.; GEYER, M. A. Prepulse inhibition and genetic mouse models of schizophrenia. **Behavioural brain research**, v. 204, n. 2, p. 282–94, 2009.

PETRONILHO, Fabricia et al. Alpha-Lipoic Acid Attenuates Oxidative Damage in Organs After Sepsis. **Inflammation**, v. 39, n. 1, p.357-365, 2016.

PERRY, W. et al. Sensorimotor gating deficits in bipolar disorder patients with acute psychotic mania. **Biological psychiatry**, v. 50, n. 6, p. 418–24, 15 set. 2001.

PFISTER,C.; CHABRE, M.; PLOUET, J.; TUYEN, V.V.; KOZAK, Y.; FAURE, J.P.; KUHN, H. Retinal S antigen identified as the 48 K protein regulating light-dependent phosphodiesterase in rods. **Science**, n.228, p. 891–893, 1985.

PITTMAN-POLLETTA, B.R. et al. Brain Rhythms Connect Impaired Inhibition to Altered Cognition in Schizophrenia.**Biological Psychiatry**, v. 77, n. 12, p.1020-1030, 2015.

RADONJIĆ, N. V.; KNEŽEVIĆ, I. D.; VILIMANOVICH, U.; KRAVIĆ-STEVOVIĆ, T.; MARINA, L. V.; NIKOLIĆ, T.; TODORVIĆ, V.; BUMBAŠIREVIĆ, V.; PETRONIJEVIĆ, N. D. Decreased glutathione levels and altered antioxidant defense in animal model of schizophrenia: long-term effects of perinatal phencyclidine administration. **Neuropharmacology**, v. 58, p. 739-745, 2010.

RADENOVIC, L.; SELAKOVIC, V. Differential effects of NMDA and AMPA/kainate receptor antagonists on nitric oxide production in rat brain following intrahippocampal injection. **Brain research bulletin**, v. 67, n. 1-2, p. 133–41, set. 2005.

RAJAGOPAL, Lakshmi et al. GLYX-13 (rapastinel) ameliorates subchronic phencyclidine- and ketamine-induced declarative memory deficits in mice. **Behavioural Brain Research**, v. 299, p.105-110, 2016.

RAO, V. S. et al. Mangiferin ameliorates 6-hydroxydopamine-induced cytotoxicity and oxidative stress in ketamine model of schizophrenia. **Pharmacol Rep.**, v. 4, n. 64, p.848-856, 2012.

REMBERK, Barbara; NAMYSŁOWSKA, Irena; RYBAKOWSKI, Filip. Cognition and communication dysfunctions in early-onset schizophrenia: Effect of risperidone. **Progress In Neuro-psychopharmacology And Biological Psychiatry**, v. 39, n. 2, p.348-354, 2012.

SAHA, K.B. et al. Chlorpromazine versus atypical antipsychotic drugs for schizophrenia. **Cochrane Database Of Systematic Reviews**, 2016.

SALGADO, J. V.; HETEM, L. A.; SANDNER, G. Modelos experimentais de esquizofrenia – uma revisão. **Rev. Bras. Psiquiatr.**, v. 28, supl. 2, p. 135-141, 2006.

SALINTHONE, S.; YADAV, V.; BOURDETTE, D.N.; CARR, D.W. Lipoic acid: a novel therapeutic approach for multiple sclerosis and other chronic inflammatory

diseases of the CNS. **Endocr Metab Immune Disord Drug Targets**, v. 8, n. 2, p.132-42, 2008.

SALUM, C.; PEREIRA, A. C. C. I.; GUIMARÃES, E. A. D. B. B. Dopamina, Óxido Nítrico e suas Interações em Modelos para o Estudo da Esquizofrenia. **Psicol. Reflex. Crít.**, v. 21, n. 2, p. 186-194, 2008.

SANTOS, I.M.S et al. Alterations on monoamines concentration in rat hippocampus produced by lipoic acid. **Arq Neuropsiquiatr**, v. 68, n.3, p.362-366, 2010.

SEDLAK, J.; LINDSAY, R. H. Estimation of total, protein-bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. **Analytical Biochemistry**, v. 25, p. 192–205, jan. 1968.

SEEMAN, Philip; GUAN, Hong-chang; HIRBEC, Hélène. Dopamine D2 High receptors stimulated by phencyclidines, lysergic acid diethylamide, salvinorin A, and modafinil. **Synapse**, v. 63, n. 8, p.698-704, 2009.

SHAEIB, F. et al. Melatonin Prevents Myeloperoxidase Heme Destruction and the Generation of Free Iron Mediated by Self-Generated Hypochlorous Acid. **Plos One**, v. 10, n. 4, p. e0120737, 2015.

SHARMA, Tonmoy; ANTONOVA, Lena. Cognitive function in schizophrenia. **Psychiatric Clinics Of North America**, v. 26, n. 1, p.25-40, 2003.

SHAY, K. P. et al. Alpha-lipoic acid as a dietary supplement: molecular mechanisms and therapeutic potential. **Biochimica et biophysica acta**, v. 1790, n. 10, p. 1149– 60, 2009.

SHAHANI, N.; SAWA, A. Nitric oxide signaling and nitrosative stress in neurons: role for S-nitrosylation. **Antioxid. Redox Signal**, n. 18, v. 8, p. 1493-1504, 2011.

SHMUKLER, A. B.; GUROVICH, I. Y.; AGIUS, M.; ZAYTSEVA, Y. Long-term trajectories of cognitive deficits in schizophrenia: A critical overview. **Eur. Psychiatry**, v. 30, p. 1002–10, 2015.

SIGURDSSON, T. Neural circuit dysfunction in schizophrenia: Insights from animal models. **Neuroscience**, v. 321, p.42-65, 2016.

SILVA, F. C. C.; CITO, M. C. O.; SILVA, M. I. G.; MOURA, B. A.; AQUINO NETO, M. R.; FEITOSA, M. L.; CHAVES, R. C.; MACEDO, D. S.; S. M. M.; FONTELES, M. M. F.; SOUSA, F. C. F. Behavioral alterations and pro-oxidant effect of a single ketamine administration to mice. **Brain Res. Bull.**, v. 83, p. 9-15, 2010.

SILVA, F. C. C.; CITO, M. C. O.; SILVA, M. I. G.; MOURA, B. A.; AQUINO NETO, M. R.; FEITOSA, M. L.; CHAVES, R. C.; MACEDO, D. S.;

VASCONCELOS, S. M. M.; FONTELES, M. M. F.; SOUSA, F. C. F. Behavioral alterations and pro-oxidant effect of a single ketamine administration to mice. **Brain Res. Bull.**, v. 83, p. 9-15, 2010.

SILVA, M.C.C. et al. Evidence for protective effect of lipoic acid and desvenlafaxine on oxidative stress in a model depression in mice. **Progress In Neuro-psychopharmacology And Biological Psychiatry**, v. 64, p.142-148, 2016.

STONE, J.M.; ERLANDSSON, K.; ARSTAD, E.; SQUASSANTE, L.; TENEGGI, V.; BRESSAN, R.A.; KRYSTAL, J.H.; ELL, P.J.; PILOWSKY, L.S.; Relationship between ketamine-induced psychotic symptoms and NMDA receptor occupancy: a [(123)I]CNS-1261 SPET study. **Psychopharmacology (Berl)**, v. 97, p. 401-408, 2008.

STOJANOVIC, A. et al. Increased serum interleukin-6 levels in early stages of psychosis: associations with at-risk mental states and the severity of psychotic symptoms. **Psychoneuroendocrinology**, v. 41, p. 23–32, mar. 2014.

SWERDLOW, Neal R et al. Memantine Effects On Sensorimotor Gating and Mismatch Negativity in Patients with Chronic Psychosis. **Neuropsychopharmacology**, v. 41, n. 2, p.419-430, 2016.

SWERDLOW, Neal R. et al. Deficient prepulse inhibition in schizophrenia detected by the multi-site COGS. **Schizophrenia Research**, v. 152, n. 2-3, p.503-512, 2014.

SWERDLOW, N. R. et al. Seroquel, clozapine and chlorpromazine restore sensorimotor gating in ketamine-treated rats. **Psychopharmacology**, v. 140, n. 1, p.75-80, 1998.

WATANABE, Y.; SOMEYA, T.; NAWA, H. Cytokine hypothesis of schizophrenia pathogenesis: evidence from human studies and animal models. **Psychiatry and clinical neurosciences**, v. 64, n. 3, p. 217–30, jun. 2010.

SILVA, M.C.C., DE SOUSA, C.N.S., SAMPAIO, L.R.L., XIMENES, N.C., ARAÚJO, P.V.P., DA SILVA, J.C., DE OLIVEIRA, S.L., SOUSA, F.C.F., MACÊDO, D.S., VASCONCELOS, S.M.M., Augmentation therapy with alpha-lipoic acid and desvenlafaxine: a future target for treatment of depression? *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol.*, n. 386, v. 8, p.685-95, 2013.

SILVA, M.C.C., SAMPAIO, L.R.L., DE ARAÚJO, D.P., ARAÚJO, P.V.P., MONTE, A.S., RODRIGUES, F.T.S., WOODS, D.J., DE SOUSA, F.C.F., FONTELES, M.M.F., VASCONCELOS, S.M.M. Central effects of lipoic acid associated with paroxetine in mice. *Am. J. Ther.*, n. 21, p. 85–90, 2014.

SILVA, R. C. B. Esquizofrenia: uma revisão. **Psicologia USP**, v.17, n.4, p. 263-285, 2006.

SILVA, M.C.; SOUSA, C.N.; GOMES, P.X.; OLIVEIRA, G.V.; ARAÚJO, F.Y.; XIMENES, N.C.; SILVA, J.C.; VASCONCELOS, G.S.; LEAL, L.K.; MACÊDO, D.; VASCONCELOS, S.M. Evidence for protective effect of lipoic acid and desvenlafaxine on oxidative stress in a model depression in mice. **Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.**, v. 64, p.142-8, 2016.

SIROTA, A.; CSICSVARI, J.; BUHL, D.; BUZSÁKI, G. Communication between neocortex and hippocampus during sleep in rodents. **Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.** 100, 2065–9, 2003.

SUH, J. H. et al. Decline in transcriptional activity of Nrf2 causes age-related loss of glutathione synthesis, which is reversible with lipoic acid. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 101, n. 10, p. 3381–6, 2004.

SWERDLOW, N. R. et al. Realistic expectations of prepulse inhibition in translational models for schizophrenia research. **Psychopharmacology**, v. 199, n. 3, p.331-388, 2008.

SOUSA, C.N.S. DE, MENESES, L.N., VASCONCELOS, G.S., SILVA, M.C.C., SILVA, J.C. DA, MACÊDO, D., DE LUCENA, D.F., VASCONCELOS, S.M.M. Reversal of corticosterone-induced BDNF alterations by the natural antioxidant alphalipoic acid alone and combined with desvenlafaxine: Emphasis on the neurotrophic hypothesis of depression. **Psychiatry Res.**, n. 230, p. 211–9, 2015.

SIGURDSSON, Torfi; DUVARCI, Sevil. Hippocampal-Prefrontal Interactions in Cognition, Behavior and Psychiatric Disease. **Front. Syst. Neurosci.**, v. 9, p.1-18, 2016.

STANTON, P. K.; SEJNOWSKI, T. J. Associative long-term depression in the hippocampus induced by hebbian covariance. **Nature**, v. 339, p. 215–8, 1989.

STERIADE, M.; MCCORMICK, D. A.; SEJNOWSKI, T. J. Thalamocortical oscillations in the sleeping and aroused brain. **Science**, v. 262, n. 5134, p. 679–85, 1993.

STONE, J. M.; MORRISON, P. D.; PILOWSKY, L. S.. Review: Glutamate and dopamine dysregulation in schizophrenia a synthesis and selective review. **Journal Of Psychopharmacology**, v. 21, n. 4, p.440-452, 2006.

SWERDLOW, N. R. et al. Realistic expectations of prepulse inhibition in translational models for schizophrenia research. **Psychopharmacology**, v. 199, n. 3, p. 331–88, ago. 2008.

TALAROWSKA, Monika; SZEMRAJ, Janusz; GAŁECKI, Piotr. Myeloperoxidase gene expression and cognitive functions in depression. **Advances In Medical Sciences**, v. 60, n. 1, p.1-5, 2015.

TAMMINGA, C.A.; STAN, A.D.; WAGNER, A.D. The Hippocampal Formation in Schizophrenia. **Am. J. Psychiatry**, 167, 1178–1193, 2010.

TANDON, R.; NASRALLAH, H. A.; KESHAVAN, M. S. Schizophrenia, “Just the Facts”: 5. Treatment and prevention Past, present, and future **Schizophr. Res.**, v. 122, n. 1/3, p. 1-23, 2010.

TERRY, A.V. et al. Negative effects of chronic oral chlorpromazine and olanzapine treatment on the performance of tasks designed to assess spatial learning and working memory in rats. **Neuroscience**, v. 156, n. 4, p.1005-1016, 2008.

TEISMANN, P. Neurodegenerativer Prozess bei Morbus Parkinson: Rolle der Myeloperoxidase. **Dmw - Deutsche Medizinische Wochenschrift**, v. 139, n. 03, p.99-102, 25 nov. 2014.

TÓTH, Attila; ZÁBORSZKY, László; DÉTÁRI, László. EEG effect of basal forebrain neuropeptide Y administration in urethane anaesthetized rats. **Brain Research Bulletin**, v. 66, n. 1, p.37-42, 2005.

TREVLOPOULOU, Aikaterini; TOUZLATZI, Ntilara; PITSIKAS, Nikolaos. The nitric oxide donor sodium nitroprusside attenuates recognition memory deficits and social withdrawal produced by the NMDA receptor antagonist ketamine and induces anxiolytic-like behaviour in rats. **Psychopharmacology**, v. 233, n. 6, p.1045-1054, 2016.

TSUCHIE, K. et al. The effects of antipsychotics on behavioral abnormalities of the Gunn rat (unconjugated hyperbilirubinemia rat), a rat model of schizophrenia. **Asian journal of psychiatry**, v. 6, n. 2, p. 119–23, 2013.

TUNÇEL, Özgür Korhan et al. Oxidative stress in bipolar and schizophrenia patients. **Psychiatry Research**, v. 228, n. 3, p.688-694, 2015.

UHLHAAS, P.J.; SINGER, W. Oscillations and Neuronal Dynamics in Schizophrenia: The Search for Basic Symptoms and Translational Opportunities. **Biological Psychiatry**, v. 77, n. 12, p.1001-1009, 2015.

UHLHAAS, P.J.; SINGER, W. High-frequency oscillations and the neurobiology of schizophrenia. **Dialogues Clin Neurosci.**, v. 15, n. 3, p.301-313, 2013.

UHLHAAS, P. J.. High-Frequency Oscillations in Schizophrenia. **Clinical Eeg And Neuroscience**, v. 42, n. 2, p.77-82, 2011.

VALKO, M.; LEIBFRITZ, D.; MONCOL, J.; CRONIN, M.T.; MAZUR, M.; TELSER, J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. **Int. J. Biochem. Cell Biol.**, v. 39, p. 44-84, 2007.

VALLS, A. C. S. **Achados histopatológicos e comportamentais em modelo experimental de esquizofrenia induzida por - MAM - acetato de**

**metilazoximetanol.** Dissertação (Mestrado em Ciências Médicas) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2010.

VASCONCELOS, G.S., XIMENES, N.C., DE SOUSA, C.N.S., OLIVEIRA, T. DE Q., LIMA, L.L.L., DE LUCENA, D.F., GAMA, C.S., MACÊDO, D., VASCONCELOS, S.M.M. Alpha-lipoic acid alone and combined with clozapine reverses schizophrenia-like symptoms induced by ketamine in mice: Participation of antioxidant, nitrenergic and neurotrophic mechanisms. **Schizophr. Res.**, v.165, p. 163-170, 2015.

VAN DEN BUUSE, M. Modeling the positive symptoms of schizophrenia in genetically modified mice: pharmacology and methodology aspects. **Schizophrenia bulletin**, v. 36, n. 2, p. 246–70, mar. 2010.

VASKINN, A.; ANTONSEN, B.T.; FRET LAND, R.A.; DZIOBEK, I.; SUNDET, K.; WILBERG, T. Theory of mind in women with borderline personality disorder or schizophrenia: differences in overall ability and error patterns. **Front Psychol.**, v. 6, p.1-7, 2015.

VISSER, E.; SCHUG, S.A. The role of ketamine in pain management. **Biomed. Pharmacother.**, v. 60, p. 341–348, 2006.

WEISS, I. C.; FELDON, J. Environmental animal models for sensorimotor gating deficiencies in schizophrenia: a review. **Psychopharmacology**, v.156, n. 2-3, p. 305–26, jul. 2001.

WHO | Schizophrenia. World Health Organization; [cited 2015 Jul 2]; Available from: [http://www.who.int/mental\\_health/management/schizophrenia/en/](http://www.who.int/mental_health/management/schizophrenia/en/)

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Pharmacological treatment of mental disorders in primary health care.** Geneva, 2009.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Statistics on Schizophrenia**, 2010. Disponível em: <[http://www.who.int/mental\\_health/management/schizophrenia/en/index.html](http://www.who.int/mental_health/management/schizophrenia/en/index.html) 20106-9-2010>. Acesso em: 7 May 2011.

WYNN, J. K. et al. Effects of olanzapine, risperidone and haloperidol on prepulse inhibition in schizophrenia patients: a double-blind, randomized controlled trial. **Schizophrenia research**, v. 95, n. 1-3, p. 134–42, set. 2007.

YAMADA, K. et al. The role of nitric oxide in dizocilpine-induced impairment of spontaneous alternation behavior in mice. **The Journal of pharmacology and experimental therapeutics**, v. 276, n. 2, p. 460–6, fev. 1996.

YAO, J. K.; LEONARD, S.; REDDY, R. D. Increased nitric oxide radicals in postmortem brain from patients with schizophrenia. **Schizophr. Bull.**, v. 30, p. 923–934, 2004.

XU, B.; WRATTEN, N.; CHARYCH, E. I.; BUYSKE, S.; FIRESTEIN, B. L.; BRZUSTOWICZ, L. M. Increased expression in dorsolateral prefrontal cortex of CAPON in schizophrenia and bipolar disorder. **PLoS Med.**, p. 2, v. 10, p. e263, 2005.

ZANGRANDO, Julia et al. Atypical antipsychotic olanzapine reversed deficit on prepulse inhibition of the acoustic startle reflex produced by microinjection of dizocilpine (MK-801) into the inferior colliculus in rats. **Behavioural Brain Research**, v. 257, p.77-82, 2013.

ZHANG, X. Y.; TAN, Y. L.; CAO, L. Y.; WU, G. Y.; XU, Q.; SHEN, Y.; ZHOU, D. F. Antioxidant enzymes and lipid peroxidation in different forms of schizophrenia treated with typical and atypical antipsychotics. **Schizophr. Res.**, v. 81, p. 291–300, 2006.

ZHANG, Y.; YOSHIDA, T.; KATZ, D. B.; LISMAN, J. E. NMDAR antagonist action in thalamus imposes  $\delta$  oscillations on the hippocampus. **J Neurophysiol.**, v. 107, n. 11, p. 3181–9, 2012.

ZHANG, H. et al. Inhibition of myeloperoxidase at the peak of experimental autoimmune encephalomyelitis restores blood-brain barrier integrity and ameliorates disease severity. *J. Neurochem.*, v. 136, n. 4, p.826-836, 2015.

ZHANG, M. et al. A meta-analysis of oxidative stress markers in schizophrenia. **Science China. Life sciences**, v. 53, n. 1, p. 112–24, 2010.

ZHENG, Xiaozhu; ZHOU, Jiali; XIA, Yanfei. The role of TNF- $\alpha$  in regulating ketamine-induced hippocampal neurotoxicity. **Archives Of Medical Science**, v. 6, p.1296-1302, 2015.

ZIERHUT, K. et al. The role of hippocampus dysfunction in deficient memory encoding and positive symptoms in schizophrenia. **Psychiatry Research: Neuroimaging**, v.183, n.3, p.187-194, 2010.ME

ZEMBRON-LACNY, A. et al. The comparison of antioxidant and hematological properties of N-acetylcysteine and alpha-lipoic acid in physically active males. **Physiological research / Academia Scientiarum Bohemoslovaca**, v. 58, n. 6, p.855-61, 2009.

## APÊNDICE

**Apêndice A: Resumo esquemático dos resultados obtidos com os testes neurocomportamentais e neuroquímicos na presente pesquisa.**

| TESTE   | KET | CP1+KET | CP5+KET | ALA+CP1+KET | ALA+CP5+KET |
|---------|-----|---------|---------|-------------|-------------|
| ATL     | ↑   | ↓       | ↓       | ↓           | ↓           |
| Y-MAZE  | ↓   | ∅       | ↓       | ↑           | ↓           |
| PP70    | ↓   | ↑       | ↑       | ↑           | ↑           |
| PP75    | ↓   | ↑       | ↑       | ↑           | ↑           |
| PP80    | ↓   | ↑       | ↑       | ↑           | ↑           |
| GSH     | ↓   | ↑       | ↑       | ↑           | ↑           |
| NITRITO | ↑   | ∅       | ↓       | ↓           | ↓           |
| TBARS   | ↑   | ∅       | ↓       | ↓           | ↓           |
| MPO     | ↑   | ↓       | ↓       | ↓           | ↓           |

**Apêndice B: Resumo esquemático dos resultados obtidos com o teste eletroencefalográfico na presente pesquisa para rastreamento da dose de cetamina**

|                | DELTA |        | TETA  |        | ALFA  |        | GAMA LOW |        | GAMA HIGH |        |
|----------------|-------|--------|-------|--------|-------|--------|----------|--------|-----------|--------|
|                | 1 Dia | 10 Dia | 1 Dia | 10 Dia | 1 Dia | 10 Dia | 1 Dia    | 10 Dia | 1 Dia     | 10 Dia |
| <b>KET 10</b>  | ∅     | ↑      | ∅     | ∅      | ↑     | ↑      | ↑        | ∅      | ∅         | ∅      |
| <b>KET 50</b>  | ∅     | ∅      | ↓     | ↓      | ∅     | ∅      | ↑        | ↑      | ∅         | ∅      |
| <b>KET 100</b> | ∅     | ∅      | ∅     | ↓      | ∅     | ∅      | ∅        | ↑      | ↑         | ↑      |

**Apêndice C: Resumo esquemático dos resultados obtidos com o teste eletroencefalográfico na presente pesquisa para rastreamento das alterações no poder espectral médio hipocampal pela clorpromazina no modelo de esquizofrenia induzido pela cetamina.**

|                    | DELTA |       |        | TETA  |       |        | GAMA LOW |       |        | GAMA HIGH |       |        |
|--------------------|-------|-------|--------|-------|-------|--------|----------|-------|--------|-----------|-------|--------|
|                    | 1 Dia | 5 Dia | 10 Dia | 1 Dia | 5 Dia | 10 Dia | 1 Dia    | 5 Dia | 10 Dia | 1 Dia     | 5 Dia | 10 Dia |
| <b>KET</b>         | ∅     | ↑     | ↑      | ∅     | ∅     | ∅      | ↑        | ↑     | ↑      | ∅         | ↑     | ↑      |
| <b>CP1+KET</b>     | ∅     | ↓     | ↓      | ∅     | ∅     | ∅      | ↓        | ↓     | ↓      | ∅         | ↓     | ↓      |
| <b>CP5+KET</b>     | ↓     | ↓     | ↓      | ∅     | ∅     | ∅      | ↓        | ↓     | ↓      | ↓         | ↓     | ∅      |
| <b>ALA+CP1+KET</b> | ↓     | ↓     | ↓      | ∅     | ∅     | ∅      | ↓        | ↓     | ↓      | ↓         | ↓     | ∅      |
| <b>ALA+CP5+KET</b> | ↓     | ↓     | ↓      | ∅     | ↑     | ∅      | ↓        | ↓     | ↓      | ∅         | ↓     | ∅      |