



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

DULCE MARIA NASCIMENTO COELHO

**ADMINISTRAÇÃO CRÔNICA DE OMEPRAZOL PROMOVE ALTERAÇÕES
COMPORTAMENTAIS, INFLAMATÓRIAS E OXIDATIVAS NO SISTEMA
NERVOSO CENTRAL DE CAMUNDONGOS**

FORTALEZA

2021

DULCE MARIA NASCIMENTO COELHO

**ADMINISTRAÇÃO CRÔNICA DE OMEPRAZOL PROMOVE ALTERAÇÕES
COMPORTAMENTAIS, INFLAMATÓRIAS E OXIDATIVAS NO SISTEMA
NERVOSO CENTRAL DE CAMUNDONGOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Farmacologia da Universidade Federal do Ceará como requisito à obtenção do título de mestre em Farmacologia. Área de concentração: Neuropsicofarmacologia.

Orientadora: Profa. Dra. Francisca Cléa
Florenço de Sousa.

Coorientador: Prof. Dr. Lucas Antonio Duarte
Nicolau.

FORTALEZA

2021

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)

C615a Coelho, Dulce Maria Nascimento.
Administração crônica de Omeprazol promove alterações comportamentais, inflamatórias e oxidativas no Sistema Nervoso Central de camundongos / Dulce Maria Nascimento Coelho. – 2021.
81 f. : il. color.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, Fortaleza, 2021.

Orientação: Profa. Dra. Francisca Cléa Florenço de Sousa.
Coorientação: Prof. Dr. Lucas Antonio Duarte Nicolau.

1. Omeprazol. 2. Inibidores da bomba de prótons. 3. Sistema Nervoso Central. I. Título.

CDD 615.1

DULCE MARIA NASCIMENTO COELHO

**ADMINISTRAÇÃO CRÔNICA DE OMEPRAZOL PROMOVE ALTERAÇÕES
COMPORTAMENTAIS, INFLAMATÓRIAS E OXIDATIVAS NO SISTEMA
NERVOSO CENTRAL DE CAMUNDONGOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Farmacologia da Universidade Federal do Ceará como requisito à obtenção do título de mestre em Farmacologia. Área de concentração: Neuropsicofarmacologia.

Orientadora: Profa. Dra. Francisca Cléa
Florenço de Sousa

Coorientador: Prof. Dr. Lucas Antonio Duarte
Nicolau

Aprovada em: 13 de julho de 2021.

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Francisca Cléa Florenço de Sousa
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Lucas Antonio Duarte Nicolau
Universidade Federal do Delta do Parnaíba (UFDPAr)

Profa. Dra. Arlandia Cristina Lima Nobre de Moraes
Universidade de Fortaleza (UNIFOR)

Profa. Dra. Raquell de Castro Chaves
Faculdade Nassau (UNINASSAU)

FORTALEZA

2021

AGRADECIMENTOS

À Deus, por sua infinita bondade e cuidado comigo. A fé Nele me fez continuar acreditando na caminhada com mais força e foco.

À minha família, em especial aos meus pais, Maria Edileuza do Nascimento Coelho e Paulo Verlaine Coelho, pelo incentivo, suporte, dedicação e amor.

Aos meus irmãos, Rebeca Coelho e Fernando Nascimento, pela amizade, carinho e parceria. À Michelle e ao Dival, pela alegria, espontaneidade e amor à nossa família. Agradeço também aos demais familiares pelo apoio e incentivo a cada conquista.

Ao meu namorado, Kevin Costa, por estar sempre ao meu lado, me apoiando e acreditando em mim. Toda essa força foi essencial durante o período do mestrado.

Às minhas amigas de infância, Andressa Oliveira e Isabel Ribeiro, em especial, Rayssa Ribeiro, pela forte amizade e pela presença nos momentos mais importantes da minha vida. Vocês são muito especiais pra mim.

À Profa. F^{ca} Clea Florenço de Sousa, por me receber tão bem ao seu grupo de pesquisa e proporcionar um ambiente rico na troca de experiências entre seus alunos, valorizando o potencial de cada um. Obrigada pela orientação durante o mestrado.

Ao Prof. Lucas Nicolau, por ter colaborado como coorientador e pelas contribuições valiosas durante a execução do trabalho. Agradeço também poder contar com a sua amizade, além das parcerias acadêmicas e musicais.

Aos membros da banca de defesa, Profa. Arlandia Nobre, Profa. Raquell Chaves e Prof. Lucas Nicolau, agradeço o aceite, o interesse e a disponibilidade em participar desse momento, além das ricas contribuições feitas visando a melhoria do trabalho.

Aos meus amigos do Laboratório de Neurofarmacologia, em especial, Andressa, Manoela, Larice, Dilailson, Tiago, Layla, Iardja, Rafael e Raquell. Agradeço toda ajuda e companheirismo durante a execução deste trabalho. Além da amizade fora bancada, vocês foram essenciais.

Aos meus amigos Daniel Moreira, João Victor e Luciana Vasconcelos, pela nossa amizade leve, descontraída e sincera que têm perpassado graduação, mestrado, especialização e que significa muito pra mim.

À Carol Benício pela amizade e parceria desde a graduação. Obrigada por se tornar presente e ainda ter contribuído com trabalho mesmo à distância.

À Cristhyane Costa, pela amizade e carinho cultivado desde da minha iniciação científica. Obrigada por ter participado da minha banca de qualificação e contribuído para melhorar o trabalho. Agradeço também o aceite e as considerações apresentadas pelos demais membros da banca de qualificação, Profa. Aline Monte e Profa. Camila Roncari.

Aos servidores da UFC, em especial ao corpo docente, secretaria e os que atuam no Biotério do Departamento de Fisiologia e Farmacologia, em especial, Milena, Laura, Wesley, Augusto, Moreira e Adalto.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo apoio financeiro a este trabalho e pela importante contribuição à pesquisa nacional, mesmo em meio a constantes desafios e crises orçamentarias.

Aos camundongos C57BL/6, por tornarem este estudo possível e por me sensibilizarem a valorizar ainda mais a vida.

Agradeço também a todos que não foram mencionados, mas que contribuíram de alguma forma durante a execução deste trabalho.

“It is possible in medicine, even when you intend to do good, to do harm instead. That is why science thrives on actively encouraging criticism rather than stifling it”

Richard Dawkins

RESUMO

O Omeprazol, primeiro representante da classe dos inibidores da bomba de prótons, é ainda o mais utilizado na prática clínica e tem seu uso bastante difundido na população. Apesar de sua ótima eficácia e considerável perfil de segurança, estudos de natureza clínica têm relacionado seu uso crônico a efeitos centrais. O aumento da ocorrência de transtornos neuropsiquiátricos é uma preocupação global, sendo fundamental a identificação de fatores evitáveis, como efeitos adversos ao uso de medicamentos. O objetivo deste trabalho foi, então, compreender os efeitos da administração crônica de Omeprazol no sistema nervoso central de camundongos em dose equivalente à utilizada na clínica, investigando alterações comportamentais, inflamatórias e oxidativas. Para isto, camundongos C57BL/6 adultos machos, com peso entre 20-30 g foram utilizados e divididos em dois grupos: OME e Sham, os quais receberam as soluções de Omeprazol (8 mg/kg) e do veículo (bicarbonato de sódio pH 8.4), respectivamente, por gavagem, via oral, durante 28 dias. 24h após a última administração, os animais foram submetidos aos testes comportamentais: Campo Aberto (CA), Rotarod, Nado Forçado (NF), Labirinto em Cruz Elevado, Inibição Pré-Pulso, Esquiva Passiva, Labirinto em Y (LY) e Reconhecimento de Objetos (RO). Ademais, foi registrado o peso dos animais com intervalos de 48-72h durante o protocolo. Após a eutanásia, as áreas do hipocampo (HP), córtex pré-frontal (CPF) e corpo estriado (CE) foram dissecadas, pesadas, e o soro, coletado. Os parâmetros do estresse oxidativo, malondialdeído (MDA), nitrato/nitrito e glutathiona reduzida (GSH) foram dosados nas áreas cerebrais. Os marcadores inflamatórios, IL-1 β e TNF- α , foram dosados no soro, HP e CPF. O estudo foi aprovado no Comitê de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal do Ceará, protocolado sob o nº 1977300718. Os resultados mostram diminuição do parâmetro de *crossing* no CA, sem nenhuma alteração no desempenho motor no Rotarod, redução do tempo de imobilidade no NF, aumento no número de alternâncias corretas no LY e redução do tempo de exploração ao objeto novo no RO. Houve redução do peso do HP e do ganho de peso corporal no grupo OME. A avaliação neuroquímica revelou aumento dos níveis de IL-1 β no CPF e no soro, e de TNF- α apenas no CPF. Os níveis de nitrato/nitrito aumentaram no HP e CPF, enquanto os de MDA e GSH diminuíram em todas as áreas cerebrais. Diante dos resultados, sugere-se que Omeprazol melhorou o comportamento tipo depressivo e a memória de trabalho por meio do aumento dos níveis de nitrato/nitrito e redução de MDA no CPF e HP. Em relação ao prejuízo na memória de reconhecimento pode estar associado à diminuição do peso do hipocampo. A redução do ganho de peso corporal pode estar relacionada ao aumento dos níveis de IL-1 β no sangue periférico. A partir dos resultados encontrados junto

às evidências já publicadas, reforça-se a importância de maior cautela no uso crônico de Omeprazol e a necessidade de realizar mais estudos visando à melhor compreensão dos mecanismos por trás dos efeitos desse fármaco.

Palavras-chave: Omeprazol; Inibidores da Bomba de Prótons; Sistema Nervoso Central.

ABSTRACT

LONG-TERM ADMINISTRATION OF OMEPRAZOLE PROMOTES BEHAVIORAL, INFLAMMATORY AND OXIDATIVE CHANGES IN THE CENTRAL NERVOUS SYSTEM OF MICE

Omeprazole, the first proton pump inhibitors developed, is still widely used in clinical practice and has its widespread use in the population. Despite its great efficacy and considerable safety profile, recently clinical studies have been linking its chronic use to central effects. Currently, the increase in the occurrence of neuropsychiatric disorders is a global concern, and it is essential to identify preventable factors, such as adverse effects to the use of medications. This study aimed at identifying the chronic administration effects of Omeprazole in the CNS of adult mice in a dose equivalent to that used in the clinic, investigating alterations in behavioral, inflammatory and oxidative parameters. For this, C57BL/6 adult male mice, weighing between 20-30g, were used and divided into two groups: OME and Sham, each received either solutions of Omeprazole (8 mg/kg) or vehicle (sodium bicarbonate pH 8.4) respectively, orally by gavage for 28 days. 24 hours after the last administration, the animals were submitted to the following behavioral tests: Open Field (OF) and Rotarod, Forced Swimming Test (FST), elevated plus maze, Y maze (YM), passive avoidance, object recognition (OR) and pre-pulse inhibition. The weight of the animals was registered in 48-72h intervals during the protocol. Moreover, the following brain areas - hippocampus (HP), prefrontal cortex (PFC) and striatum - were dissected, weighted, and the serum was collected. Oxidative stress parameters, malondialdehyde (MDA), nitrite/nitrate and reduced glutathione (GSH), were quantified in brain areas. The inflammatory markers, IL-1 β and TNF- α , were measured in peripheral blood and in HP and PFC. The project was approved by the Ethics Committee on the Use of Animals of the Federal University of Ceará filed under no. 1977300718. The following results were observed: a decrease in the crossing parameter in the OF, no change in the motor performance verified by the Rotarod test, a reduction in the immobility time in the FST, an improvement in the percentage of correct alternances in the YM and a reduced in the exploration time in the novel object in the OR. Furthermore, a reduced weight gain and hippocampal weight were observed in Omeprazole-treated mice. Regarding the inflammatory and oxidative stress parameters, there was an increase in the cytokine IL1- β levels in the PFC and serum, whereas TNF- α only in the PFC. Nitrate/nitrite levels increased in HP and PFC, while MDA and GSH

levels decreased. These findings suggest that Omeprazole improves depressive-like behavior and working memory, likely through the increase in Nitrate/Nitrite and reduction in MDA levels in PFC and HP. Whereas, the finding regarding the impairment of the recognition memory is more likely to be related to the reduced hippocampal weight. The diminished weight gain might be associated with the IL-1 β increased levels in the peripheral blood. Lastly, the results of the present study alongside with the evidence already published, reinforces the cautions and attention concerning the long-term use of Omeprazole should be considered as well as the necessity of doing more studies to better understand the underlying mechanisms behind these effects.

Key words: Omeprazole; Proton pump inhibitors; Central nervous system.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Representação do mecanismo de ação dos Inibidores de Bomba de Prótons nas células parietais.....	14
Figura 2 – Conversão do fármaco Omeprazol em sulfenamida nas células parietais e sua interação covalente com a bomba de prótons	15
Figura 3 – Teste do campo aberto	27
Figura 4 – Aparato de Rotarod	27
Figura 5 – Teste do Nado Forçado	28
Figura 6 – Teste do Labirinto em Cruz Elevado	29
Figura 7 – Ilustração do princípio do teste de inibição pré-pulso	30
Figura 8 – Teste de Inibição pré-pulso	31
Figura 9 – Teste da Esquiva passiva.....	32
Figura 10 – Teste de Reconhecimento de objetos	33
Figura 11 – Teste do Labirinto em Y	34
Figura 12 – Figura esquemática do resumo dos efeitos da administração crônica de Omeprazol em camundongos C57BL/6	66

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 – Análise da atividade exploratória/locomotora no teste de Campo Aberto em camundongos tratados cronicamente com Omeprazol.....	38
Gráfico 2 – Avaliação do desempenho motor no teste de Rotarod em camundongos tratados cronicamente com Omeprazol.....	39
Gráfico 3 – Análise do comportamento depressivo símile no teste de Nado Forçado em camundongos tratados cronicamente com Omeprazol.....	40
Gráfico 4 – Análise do comportamento ansioso símile no teste de Labirinto em Cruz Elevado em camundongos tratados cronicamente com Omeprazol.....	41
Gráfico 5 – Análise do filtro sensorio motor no teste de Inibição Pré-Pulso em camundongos tratados cronicamente com Omeprazol.....	42
Gráfico 6 – Análise da memória aversiva de curto e longo prazo no teste de Esquiva Passiva em camundongos tratados cronicamente com Omeprazol.....	43
Gráfico 7 – Avaliação da memória de reconhecimento no teste de Reconhecimento de Objeto em camundongos tratados cronicamente com Omeprazol.....	44
Gráfico 8 – Avaliação da memória de trabalho no teste Y Maze em camundongos tratados cronicamente com Omeprazol.....	44
Gráfico 9 – Análise do percentual de ganho de peso dos camundongos tratados cronicamente com Omeprazol.....	45
Gráfico 10 – Avaliação do peso das áreas do hipocampo, do córtex pré-frontal e do corpo estriado.....	46
Gráfico 11 – Efeito da administração crônica de Omeprazol na concentração de Nitrito/Nitrato em áreas cerebrais.....	47
Gráfico 12 – Efeito da administração crônica de Omeprazol na concentração de MDA em áreas cerebrais.....	48
Gráfico 13 – Efeito da administração crônica de Omeprazol na concentração de GSH em áreas cerebrais.....	49
Gráfico 14 – Efeito da administração crônica de Omeprazol na concentração de Interleucina-1 β no hipocampo, córtex pré-frontal e soro.....	50
Gráfico 15 – Efeito da administração crônica de Omeprazol na concentração de TNF- α no hipocampo, córtex pré-frontal e soro.....	51

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

µg	Micrograma
µM	Micromolar
µL	Microlitro
Aβ	Peptídeo beta amilóide
APP	Proteína Precursora de Amilóide
BHE	Barreira hematoencefálica
DA	Doença de Alzheimer
ERNs	Espécies Reativas de Nitrogênio
EROs	Espécies Reativas de Oxigênio
EO	Estresse Oxidativo
g	Gramas
GPH-Px	Glutathione Peroxidase
GSH	Glutathione reduzida
IBPs	Inibidores de Bomba de Prótons
IPP	Inibição Pré-Pulso
IL1-β	Interleucina-1β
LCE	Labirinto em Cruz Elevado
MDA	Malondialdeído
MAO	Monoamina Oxidase
ON	Óxido Nítrico
OI	Objeto Igual
ON	Objetivo Novo
OME	Omeprazol
PEBA	Percentual de Entradas nos Braços Abertos
SNC	Sistema Nervoso Central
TBA	Ácido tiobarbitúrico
TNF-α	Fator de necrose tumoral
TPBA	Tempo de Permanência nos Braços Abertos
TPH	Triptofano Hidroxilase

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
1.1 Contextualização do problema	12
1.2 Omeprazol	13
1.3 Riscos associados ao uso crônico do Omeprazol	16
1.4 Considerações sobre transtornos neuropsiquiátricos	19
1.4.1 <i>Inflamação</i>	19
1.4.2 <i>Estresse Oxidativo</i>	20
2 RELEVÂNCIA E JUSTIFICATIVA	23
3 OBJETIVOS	24
3.1 Geral	24
3.2 Específicos	24
4 METODOLOGIA	25
4.1 Animais	25
4.2 Drogas	25
4.2.1 <i>Omeprazol e veículo</i>	25
4.3 Desenho experimental	26
4.4 Testes comportamentais	26
4.4.1 Avaliação da atividade exploratória e locomotora	26
4.4.1.1 <i>Teste do Campo Aberto</i>	26
4.4.1.2 <i>Rotarod</i>	27
4.4.2 Avaliação do fenótipo depressivo	28
4.4.2.1 <i>Teste do Nado Forçado</i>	28
4.4.3 Avaliação do comportamento tipo ansioso	28
4.4.3.1 <i>Teste do Labirinto em Cruz Elevado</i>	28
4.4.4 Avaliação do filtro sensorio-motor	29
4.4.4.1 <i>Teste de Inibição Pré-Pulso (IPP)</i>	29
4.4.5 Avaliação da memória e cognição	31
4.4.5.1 <i>Teste da Esquiva Passiva</i>	31
4.4.5.2 <i>Teste do reconhecimento de objetos</i>	32
4.4.5.3 <i>Labirinto em Y</i>	33
4.5 Análise ponderal	34
4.6 Dissecção das áreas cerebrais	34
4.7 Determinação dos parâmetros de estresse oxidativo e inflamatórios	34
4.7.1 <i>Determinação das concentrações de Glutathiona Reduzida (GSH)</i>	34
4.7.2 <i>Avaliação do grau de lipoperoxidação - TBARS</i>	35

4.7.3	Determinação da concentração de Nitrato/Nitrito	35
4.7.4	Determinação dos níveis de IL-1 β e TNF- α	36
4.8	Análise estatística.....	36
5	RESULTADOS	37
5.1	Avaliação Comportamental.....	37
5.1.1	Efeitos da administração crônica de Omeprazol na atividade locomotora e exploratória nos testes de Campo Aberto e Rotarod.....	37
5.1.2	Efeitos da administração crônica de Omeprazol no comportamento depressivo símile no teste de Nado Forçado	39
5.1.3	Efeitos da administração crônica de Omeprazol no comportamento ansioso símile no teste Labirinto em Cruz Elevada.....	40
5.1.4	Efeitos da administração crônica de Omeprazol na Inibição Pré-Pulso.....	41
5.1.5	Efeitos da administração crônica de Omeprazol na memória e cognição....	42
5.1.5.1	Teste de Esquiva Passiva.....	42
5.1.5.2	Teste de Reconhecimento de Objeto	43
5.1.5.3	Teste de Labirinto em Y.....	44
5.2	Análise ponderal.....	45
5.3	Avaliação do peso do hipocampo, córtex pré-frontal e corpo estriado.....	46
5.4	Avaliação neuroquímica.....	47
5.4.1	Determinação de parâmetros do estresse oxidativo.....	47
5.4.1.1	Efeito da administração crônica de Omeprazol na concentração de Nitrito/Nitrato em áreas cerebrais	47
5.4.1.2	Efeito da administração crônica de Omeprazol na concentração de Malondialdeído (MDA) em áreas cerebrais.....	48
5.4.1.3	Efeito da administração crônica de Omeprazol na concentração de Glutationa Reduzida (GSH) em áreas cerebrais	49
5.4.2	Determinação de parâmetros de inflamação	50
5.4.2.1	Efeito da administração crônica de Omeprazol na concentração de Interleucina-1 β no hipocampo, no córtex pré-frontal e no soro de camundongos C57BL/6.....	50
5.4.2.2	Efeito da administração crônica de Omeprazol na concentração de TNF alfa no hipocampo, córtex pré-frontal e soro de camundongos C57BL/6.....	51
6	DISCUSSÃO	52
7	CONCLUSÃO.....	66
8	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	67
	REFERÊNCIAS.....	68

1 INTRODUÇÃO

1.1 Contextualização do problema

Os Inibidores de Bomba de Prótons (IBPs) são medicamentos utilizados em distúrbios da secreção ácida gástrica, tendo como principais indicações o tratamento da úlcera péptica e do refluxo gastroesofágico (J. Q. HUANG & HUNT, 2001; SACHS, 1997). Esta classe farmacológica é uma das mais prescritas no mundo (PATTERSON BURDSALL *et al.*, 2013) e mais recentemente, em alguns países, passaram a ser considerados medicamentos de venda livre, podendo ser adquiridos sem prescrição e supervisão médica (GHEBREMARIAM *et al.*, 2015).

No Brasil, apesar desses medicamentos ainda serem considerados tarjados, sabe-se que a compra e consumo de medicamentos sem a apresentação da prescrição médica, acontece entre a população (FELIPE PEREIRA *et al.*, 2020). Nesse contexto, a recente pesquisa realizada pelo Datafolha em nome do Conselho Federal de Farmácia (2019), constatou que a automedicação é um hábito comum dos brasileiros, sendo praticada de forma geral por 77% da população.

A ótima eficácia dos IBPs e considerável perfil de segurança, desde o lançamento do Omeprazol em 1989, tem sido motivo para o sucesso em vendas e também para popularização desses medicamentos na sociedade (FORGACS; LOGANAYAGAM, 2008). No cenário hospitalar, há uso abusivo dessa classe de medicamentos. O estudo de Kelly *et al.* (2015) traz que mais da metade dos pacientes hospitalizados (57,5%) fazem uso de IBPs, sendo uma parcela considerável destes associados à prescrição e indicação inadequada (26,8%) e com doses acima do preconizado nas diretrizes terapêuticas (68,4%). Ao analisar o perfil de usuários de Omeprazol em uma Unidade Básica de Saúde (UBS), foi observado que o maior tempo de uso está associado a pacientes com mais idade e em uso de mais medicamentos. O mesmo estudo traz resultados que chamam atenção, quando revela que 84,3% dos pacientes tinham prescrição para mais de 6 meses e 29,5% não tinham o registro da indicação de uso do Omeprazol (HIPÓLITO; ROCHA; OLIVEIRA, 2016).

Protocolos de descontinuação do uso desses medicamentos estão sendo aprimorados e tendo sua importância reintegrada, visto que a descontinuação abrupta pode causar efeitos rebote devido a hipergastrinemia causada pelo uso contínuo, levando

ao aumento súbito da secreção ácida. Este fato em si pode trazer consequências à saúde, como o agravamento da doença de base e também reforçar a reutilização dos IBPs, dando continuidade ao problema do uso crônico (HELGADOTTIR & BJORNSSON, 2019).

Além dos efeitos colaterais comumente descritos em bula, como náusea, diarreia, dor de cabeça e dores abdominais, outros efeitos adversos tem chamado a atenção e estão sendo investigados pela comunidade científica, como aumento do risco de infecção por *Clostridium Difficile* (MCDONALD *et al.*, 2015), risco de fraturas ósseas (THONG *et al.* 2019), pneumonia (ZIRK-SADOWSKI *et al.*, 2018), má absorção de micronutrientes (ferro, cálcio e magnésio) (ITO; JENSEN, 2010), deficiência de vitamina B12 (LAM *et al.* 2013) e efeitos centrais, como demência (GOMM *et al.*, 2016) e depressão (HUANG *et al.* 2018) também são relatados, principalmente associados ao uso crônico.

Atualmente, há uma preocupação global com o aumento da ocorrência de doenças neuropsiquiátricas na população, tornando-se importante a compreensão de diferentes fatores envolvidos, além do próprio envelhecimento da população, pois é na faixa etária idosa que essas doenças mais ocorrem (FEIGIN *et al.*, 2019). Nesse sentido, o uso de medicamentos e seus efeitos adversos associados com o desenvolvimento e/ou agravamento de distúrbios neuropsiquiátricos tem sido alvo de pesquisas, a exemplo disso, os IBPs e os anticolinérgicos (CHATTERJEE; TALWAR; APARASU, 2020; NOVOTNY; KLIMOVA; VALIS, 2019).

1.2 Omeprazol

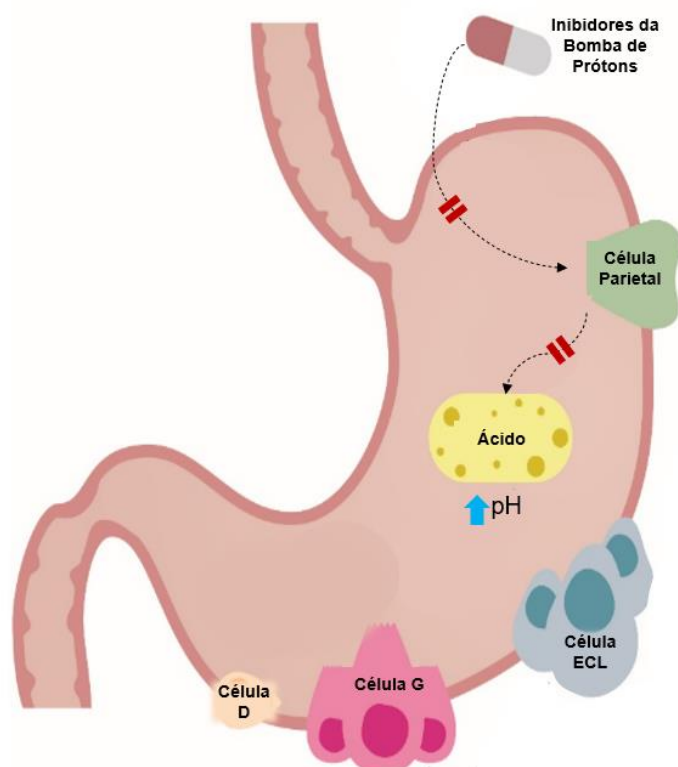
Na classe terapêutica dos medicamentos antiulcerosos, o Omeprazol foi o primeiro IBP usado na prática clínica, lançado em 1989 com o nome comercial de Losec® na Europa. O fármaco introduziu um novo conceito para a efetiva inibição da secreção ácida no tratamento de desordens ácido-pépticas, e, de maneira rápida, mostrou-se clinicamente superior aos agentes antagonistas dos receptores H₂ (ex: Ranitidina). Nenhum outro inibidor da bomba de prótons lançado por outras companhias tem se mostrado significativamente superior ao Omeprazol na prática clínica (OLBE; CARLSSON; LINDBERG, 2003).

O Omeprazol foi aprovado na terapia de curto prazo no tratamento de úlcera duodenal e gástrica e refluxo gastroesofágico. No tratamento de longo prazo, é indicado em condições hipersecretantes tais como síndrome de Zollinger-Ellison, mastocitose sistêmica e adenomas endócrinos múltiplos. É efetivo na prevenção de injúrias

gastroduodenais induzidas pela quimioterapia, úlceras causadas por anti-inflamatórios não esteroidais, além de ser indicado na terapia da erradicação de *Helicobacter pylori* (SACHS, 1997).

O seu mecanismo de ação é através da supressão da secreção de ácido gástrico pelas células parietais do estômago, pois inibe a enzima $H^+K^+ATPase$ (Figura 1), e essa supressão ácida pode durar de 48 a 72 horas (SHIN; SACHS, 2008). As doses usuais diárias do fármaco variam de 20 a 80 mg, dependendo da patologia. Em casos como a síndrome de Zollinger-Ellison as doses vão de 60 a 80 mg/dia, enquanto em que casos de úlceras duodenais e gástricas variam de 20 a 40 mg/dia (WOLFE; SACHS, 2000).

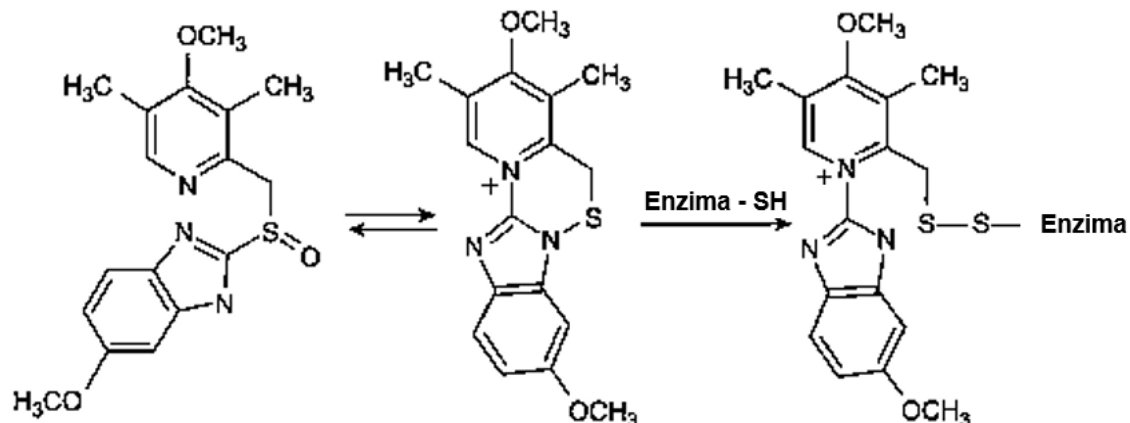
Figura 1 – Representação do mecanismo de ação dos Inibidores de Bomba de Prótons nas células parietais.



Fonte: Adaptado de Helgadottir; Bjornsson (2019).

Uma vez que o fármaco atua, a princípio, exclusivamente sobre a $H^+/K^+-ATPase$, o mecanismo de ação é específico e seletivo. Para que ocorra a inibição enzimática, sua molécula deve ser protonada e transformada em sulfenamida ou ácido sulfênico, conforme a reação da Figura 2, que por sua vez, liga-se de forma irreversível, originando um complexo covalente inativo com o grupo sulfidríla dos radicais da cisteína do domínio extracelular da enzima $H^+/K^+-ATPase$ (SACHS, 1997).

Figura 2 – Conversão do fármaco Omeprazol em sulfenamida nas células parietais e sua interação covalente com a bomba de prótons



Fonte: Adaptado de Choi-Sledeski; Wermuth (2015)

A forma protonada não consegue atravessar a membrana celular, o que permite alta concentração da forma ativa justamente no local onde se encontra a enzima (SHIN; SACHS, 2008). A inibição total ocorre com duas moléculas do inibidor (sulfenamida) ligadas a molécula da enzima. Este efeito é relacionado à dose, sendo necessária a exposição a repetidas doses para se alcançar nível de inibição adequado, e leva a inibição da secreção ácida tanto basal quanto reflexa a estímulo (AGUILERA-CASTRO; MARTÍN-DE-ARGILA-DEPRADOS; ALBILLOS-MARTÍNEZ, 2016). A secreção de ácido retorna apenas após a síntese e inserção de novas moléculas de H⁺/K⁺ATPase na membrana luminal, que demora cerca de 18 a 24h (SHIN; SACHS, 2008).

Apesar da sua conhecida seletividade e especificidade pela H⁺/K⁺ATPase nas células parietais, atualmente acredita-se os IBPs possam se ligar à outras bombas de íons em diferentes sistemas. Os genes ATP12A/ATP1AL1 são responsáveis pela expressão da H⁺/K⁺-ATPase no cérebro, cólon e placenta, enquanto que o gene ATP4 é responsável pela expressão somente nas células epiteliais gástricas (DRIEL & CALLAGHAN, 1995). Há evidências da atividade dessas bombas no Sistema Nervoso Central (SNC) (MODYANOV *et al.*, 1991), tendo diversas funções fisiológicas nos neurônios e contribuindo para homeostase ácido-base e potássio (DRIEL & CALLAGHAN, 1995). As H⁺-ATPases vesiculares, por exemplo, têm participação no empacotamento de neurotransmissores em vesículas sinápticas, após criar um gradiente de prótons propício para isso (DRIEL & CALLAGHAN, 1995). Outras bombas iônicas, tais como Ca²⁺-ATPase e Na⁺/K⁺-ATPase, são derivadas do mesmo gene e participam da subfamília PII do tipo P de ATPases, compartilhando características estruturais semelhantes (BUBLITZ *et al.*, 2010). Isso se torna mais evidente quando observado que a estrutura primária da

subunidade alfa da H^+/K^+ -ATPase é 98% homóloga dentro da espécie e é aproximadamente 63% homóloga com sítio catalítico da Na^+/K^+ -ATPases e 25% com a Ca^{2+} -ATPase (JAISSER *et al.*, 1993; SWEADNER & DONNET, 2001). Dessa forma, considerando essa homologia semelhante entre as bombas iônicas, especula-se a possibilidade de ação inibitória dos IBPs em outras bombas iônicas em diferentes órgãos, podendo causar mudanças fisiológicas, inclusive a nível de SNC (ORTIZ-GUERRERO *et al.*, 2018).

A capacidade de atravessar a barreira hematoencefálica (BHE) de alguns IBPs também foi comprovada. Após a administração endovenosa de Omeprazol 10mg/kg em ratos, o coeficiente de distribuição sangue-cérebro foi de 0,15, resultando em uma concentração de 15% alcançando o cérebro com uma única dose de Omeprazol, podendo essa aumentar com o uso contínuo (CHENG *et al.*, 2002). Através de estudos *in vivo* e *in vitro* foi demonstrado que o Lansoprazol também possui essa mesma capacidade de atravessar a BHE (ROJO *et al.*, 2010).

1.3 Riscos associados ao uso crônico do Omeprazol

Entre os efeitos centrais mais investigados em relação ao uso de IBPs está o aumento do risco de desenvolver demência, porém ainda há muita informação controversa na literatura. Estudos clínicos apontam o risco aumentado de desenvolver demência e Doença de Alzheimer (DA) em pacientes idosos em uso crônico de IBPs (GOMM *et al.*, 2016; TAI *et al.*, 2017).

A DA, considerada o tipo de demência de ocorrência mais comum, tem em sua fisiopatologia o envolvimento da formação de placas beta amiloides, processo chamado de amiloidogênese, e a fosforilação da proteína Tau, gerando emaranhados neurofibrilares. Estes aspectos se mostram como os principais processos associados ao desenvolvimento e piora do prognóstico da doença (TIWARI *et al.*, 2019).

Recentes evidências neurobiológicas apoiam os achados clínicos da relação do uso crônico de IBPs com demência em estudos experimentais. O possível mecanismo para explicar isso envolve a ação direta dos IBPs na amiloidogênese. Estudos têm demonstrado que alguns IBPs são capazes de interferir negativamente na formação e eliminação das placas beta-amiloides por diferentes mecanismos.

As placas beta-amiloides são derivadas da clivagem da Proteína Precursora de Amilóide (APP) por duas enzimas principais: β -secretase e γ -secretase. Badiola e

colaboradores (2013) sugeriram, a partir de resultados em modelo animal e *in vitro* que o Lansoprazol atuaria como modulador inverso da γ -secretase, alterando seu local de clivagem, levando a um aumento na geração do peptídeo beta amiloide 42 (A β -42) e diminuindo A β -38. Além disso, o fármaco ainda causaria um aumento na atividade da β -secretase, levando a um aumento na produção de A β -37 e A β -40. A A β -42 é caracterizada por ser mais patológica e A β -40 mais abundante na fisiopatologia da DA (YOUNKIN, 1998).

Já o possível mecanismo dos IBPs na eliminação das placas amilóides seria através do bloqueio das bombas de prótons vacuolares responsáveis pela acidificação dos lisossomos na micróglia (FALLAHZADEH; BORHANI HAGHIGHI; NAMAZI, 2010; NAMAZI; JOWKAR; MA, 2008). Esse ambiente ácido nos lisossomos é necessário para realizar a degradação de A β fibrilares, sendo, portanto, a inibição das V-ATPases um mecanismo pelo qual os IBPs diminuiriam a depuração das A β (CHENG *et al.*, 2002a; NAMAZI; JOWKAR; MA, 2008).

Outro mecanismo possível seria a inibição da enzima colina-acetiltransferase envolvida na biossíntese da acetilcolina, principal neurotransmissor do sistema parassimpático. Danos na transmissão colinérgica, por perda de neurônios colinérgicos ou por diminuição da concentração desse neurotransmissor estão associados a doenças, como Alzheimer e Parkinson (TATA *et al.*, 2014). No recente estudo de Kumar *et al.* (2020), através de análise *in silico*, demonstrou que os representantes da classe dos IBPs, possuem forte ligação e atividade inibitória sobre a enzima colina-acetiltransferase.

No entanto, há estudos clínicos que não mostram associação entre o consumo de IBPs e aumento do risco para demência e DA em pacientes. O estudo de Gray *et al.* (2018), foi realizado com indivíduos acima de 65 anos sem diagnóstico de demência na primeira avaliação. A partir daí, a cada dois anos, esses indivíduos passavam por uma análise do estado cognitivo. Após 7 anos e meio, não foi verificado aumento do risco de demência nos pacientes que utilizaram IBPs. Já no estudo de Goldstein *et al.* (2017), o uso de IBPs foi associado a menor risco de declínio cognitivo após ajuste para possíveis fatores de confusão. Interessantemente, foi observado que os não usuários de IBPs apresentavam nível de educação superior aos que faziam uso de IBPs intermitente e, que estes últimos, tinham mais condições clínicas, como doenças cardíacas, diabetes e depressão.

Além da relação com a demência, o uso crônico de IBPs também tem sido associado a um maior risco de desenvolver depressão. A depressão é uma doença de

etiologia multifatorial, tendo como um dos principais aspectos de sua fisiopatologia, a hipótese monoaminérgica através de alteração na concentração de monoaminas (serotonina e noradrenalina) na fenda sináptica (HENINGER; DELGADO; CHARNEY, 1996). No entanto, devido a esse caráter multifatorial, há outras hipóteses envolvidas, como a disfunção do eixo hipotálamo-hipofisário-adrenal (KELLER *et al.*, 2017) e a neuroinflamação (LEE; GIULIANI, 2019).

No estudo de Laudisio *et al.* (2018), foi observado, através da Escala de Depressão Geriátrica em população idosa, que o uso de IBPs pode representar uma causa associada ao desenvolvimento de quadros depressivos na população estudada, o estudo ainda sugere que avaliações de humor sejam realizadas nesses pacientes durante a terapia com IBPs. Esse resultado também é encontrado em outros estudos, em que há uma relação entre o uso de IBPs e risco de desenvolver depressão (HUANG *et al.*, 2018).

Já no estudo de Ribeiro *et al.* (2019), houve uma melhora na escala utilizada para analisar a depressão nos pacientes com suspeita de refluxo laringofaríngeo em uso de Omeprazol 80mg por dia durante 6 meses. Esse estudo também traz o resultado de aumento significativo nos níveis de vitamina B₁₂, ainda que dentro dos valores de referência. Entretanto, a deficiência de vitamina B₁₂ é um achado associado ao uso crônico de IBPs e essa relação tem sido muito discutida (LAM *et al.*, 2013; MARCUARD *et al.*, 1994; TERMANINI *et al.*, 1998), tendo como principal possível mecanismo a diminuição da acidez gástrica e da liberação e absorção da vitamina B₁₂ dos alimentos (ABRAHAM, 2012). Apesar de ainda não haver consenso sobre a associação direta entre a deficiência de vitamina B₁₂ e depressão, é fato que a vitamina B₁₂ tem ação positiva para o desenvolvimento, funcionamento e manutenção das funções do SNC (REYNOLDS, 2006).

Existem evidências em estudos experimentais que dão suporte a esses achados. No estudo de Petzer *et al.* (2013) foi demonstrado por análises *in silico*, que o Eesomeprazol, o isômero S do Omeprazol, seria capaz de inibir a Monoamina Oxidase (MAO), enzima responsável pela degradação de serotonina. Dessa forma, aumentaria os níveis desse neurotransmissor na fenda sináptica, o que sugere efeitos positivos no comportamento tipo depressivo. Esse resultado foi confirmado por Betari *et al.* (2020) por meio de estudos *in vivo* com alta dose de Omeprazol (100mg/kg) durante 4 dias em ratos, em que verificou melhora do comportamento preditivo de depressão.

1.4 Considerações sobre transtornos neuropsiquiátricos

1.4.1 Inflamação

A inflamação é uma manifestação complexa do sistema imune em resposta a um estímulo danoso, podendo este ser infeccioso ou não. Dessa forma, possui a finalidade de defesa, reparo e reestabelecimento da homeostasia. No entanto, essa resposta também pode trazer consequências não favoráveis aos tecidos e células em geral, principalmente se for prolongada (ROSENBLAT *et al.*, 2014). No SNC não é diferente, sendo também chamada de neuroinflamação. As células do sistema imune inato e as células da glia são as principais envolvidas nessa resposta no SNC (DISABATO *et al.*, 2016).

O componente inflamatório tem sido associado a fisiopatologia de doenças neurológicas. A resposta imune que acontece no SNC é caracterizada pela ativação microglial, produção de citocinas, infiltração de células imunes periféricas, edema e aumento da permeabilidade da barreira hematoencefálica, podendo levar a desfechos negativos, como por exemplo: oclusão de vasos, isquemia e morte celular (DISABATO; QUAN; GODBOUT, 2016). A presença desses mediadores inflamatórios se torna, então, um indicativo da inflamação no SNC (ROJO *et al.*, 2008).

Entre esses mediadores, as citocinas desempenham papel fundamental na modulação da resposta celular em meio a ativação do sistema imune. Por exemplo, a elevação de citocinas foi observada após exposição a agentes estressores físicos ou psicológicos, como isolamento social (MUMTAZ *et al.*, 2018). Embora existam ampla variedade de citocinas pró-inflamatórias, a interleucina 1 β (IL1- β) e o fator de necrose tumoral (TNF- α) são frequentemente utilizados como biomarcadores de inflamação em estudos de doenças neuropsiquiátricas (SELMAJ, 1992).

A DA é considerada um exemplo notável de neuroinflamação crônica, conhecida pela ativação das células da glia, principalmente a micróglia, mal dobramento de proteínas, dano e morte de neurônios. Esse tipo de neuroinflamação é progressivo e destrutivo com o passar do tempo, sendo a DA, também caracterizada como uma doença neurodegenerativa. Aumento dos níveis de IL1- β e TNF- α foram associados a quadro de inflamação sistêmica de baixo grau em pacientes com DA (ZULIANI *et al.*, 2007). Estudos apontam ainda o envolvimento da IL1- β na síntese do precursor beta amiloide e produção de placas amiloides e também com a fosforilação da tau, aspectos importantes na fisiopatologia da DA (NG *et al.*, 2018).

A inflamação também se constitui como uma das hipóteses da fisiopatologia da depressão, sendo apoiada pelos achados consistentes de elevação de marcadores inflamatórios em estudos com pacientes com depressão, independente da presença de outras comorbidades (DOWLATI *et al.*, 2010; HOWREN *et al.*, 2009). Estudo de Diniz *et al.* (2010), por exemplo, identificou a IL-1 β como um fator de risco para desenvolvimento de sintomas depressivos. Fortalecendo esses achados, em outro estudo, foi observado que a recuperação dos sintomas de depressão foi associada ao retorno aos níveis normais de citocinas após tratamento com antidepressivos (DAHL *et al.*, 2014).

1.4.2 Estresse Oxidativo

A produção de radicais livres através do processo de oxidação é fundamental para o metabolismo celular e possui funções fisiológicas importantes. Devido à alta reatividade desses radicais, eles participam como mediadores na transferência de elétrons em diversas reações bioquímicas no nosso corpo (PIZZINO *et al.*, 2017). Esses radicais podem ser classificados em Espécies Reativas de Oxigênio (EROs) ou Espécies Reativas de Nitrogênio (ERNs).

O estresse oxidativo (EO) é caracterizado pelo desequilíbrio no controle dos níveis dessas espécies reativas, podendo acontecer devido a produção excessiva de radicais livres ou a redução da capacidade das defesas antioxidantes. De qualquer modo, nesta situação, as espécies reativas em excesso poderão reagir com componentes celulares essenciais, como ácidos nucleicos, proteínas e ácidos graxos, gerando danos celulares subsequentes (SALIM, 2017).

Um dos fenômenos associados ao EO é a peroxidação lipídica. Quando os radicais livres estão em excesso, estes podem reagir com lipídios, especialmente os ácidos graxos poli-insaturados, levando a uma cadeia de reações e formação de produtos de oxidação. Entre estes produtos, o malondialdeído é amplamente utilizado como biomarcador para peroxidação lipídica e estresse oxidativo, devido à confiabilidade e facilidade de mensuração através da reação com o ácido tiobarbitúrico (TBA) (AYALA *et al.*, 2014).

Outro marcador do estresse oxidativo é o Óxido Nítrico (ON) uma molécula versátil e que participa em diversos processos fisiológicos importantes. Suas ações vão desde o início da vida através da participação durante o parto, passando pela sua atuação como neurotransmissor no aprendizado e memória, e também na inflamação (FLORA FILHO & ZILBERSTEIN, 2000). Além disso, o ON é um radical livre potencialmente

tóxico, sendo por este motivo um dos marcadores do EO (BECKMAN; KOPPENOL, 1996).

Para haver um equilíbrio, o corpo possui defesas antioxidantes, que em condições fisiológicas, conseguem controlar e limitar os níveis dessas espécies reativas e impedir danos celulares (BETTERIDGE, 2000). Os agentes antioxidantes têm a capacidade de evitar a oxidação de substratos ou regenerar os substratos oxidados. Eles podem ser classificados em enzimáticos, incluindo: superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), glutatona redutase (GPH-R) e glutatona peroxidase (GPH-Px). Já exemplos de não enzimáticos, incluem: glutatona reduzida (GSH), a-tocoferol (vitamina E) e ácido ascórbico (vitamina C) (PIZZINO *et al.*, 2017).

Entre os principais agentes antioxidantes do sistema de defesa das células, está a glutatona reduzida. A GSH participa na manutenção do sistema redox celular. Sua ação no combate aos radicais livres é fundamental não somente por evitar ou diminuir os danos dos radicais livres, mas também por atuar no funcionamento fisiológico das células (KULAK *et al.*, 2013). Interessantemente, a capacidade de defesa dos antioxidantes tem seu efeito anulado quando a produção de radicais livres é elevada (PALTA *et al.*, 2014; SIWEK *et al.*, 2013).

O cérebro tem particular sensibilidade aos efeitos do EO, devido ao alto metabolismo e demanda de oxigênio para realizar as funções fisiológicas e consequente constante produção de EROS, limitada presença de componentes antioxidantes e abundância de ácidos graxos poli-insaturados e de íons ferro (BARBOSA *et al.*, 2006). Danos causados pelo EO no SNC, incluem disfunção mitocondrial, peroxidação lipídica e oxidação de macromoléculas, como proteínas e ácidos nucleicos (PATEL, 2016). Neste contexto, a presença de EO está associada com a fisiopatologia de diferentes doenças, incluindo os transtornos neuropsiquiátricos, como Doença de Alzheimer, Parkinson e depressão (JIANG *et al.*, 2016).

Acredita-se que o processo de envelhecimento cursa naturalmente com a maior produção de radicais livres e diminuição das defesas antioxidantes (WICKENS, 2001). É na faixa etária idosa que se torna mais comum também o desenvolvimento de doenças neurodegenerativas, como a doença de Alzheimer (HOU *et al.*, 2019). Estudos apontam para uma relação muito próxima entre o estresse oxidativo e o declínio cognitivo. Estudo de Ansari & Scheff (2010), evidenciou em amostras de córtex pré-frontal *post-mortem* de pacientes com DA, o aumento nos níveis de malondialdeído e diminuição de agentes antioxidantes, como a glutatona reduzida. Esses resultados também foram observados

em estudos em animais, sendo esses achados obtidos antes mesmo do aparecimento das placas senis e dos emaranhados neurofibrilares (GANDHI & ABRAMOV, 2012).

O envolvimento do estresse oxidativo na depressão também é bastante discutido e estudos já corroboraram com essa relação quando evidenciaram níveis plasmáticos elevados de peróxido na fase aguda da depressão (*LINDQVIST et al., 2017; WANG et al., 2004*). Além disso, no estudo de Gorlova et al. (2019), a elevação nos marcadores do estresse oxidativo foram observados no córtex pré-frontal e hipocampo de ratos em modelo de depressão.

2 RELEVÂNCIA E JUSTIFICATIVA

Os inibidores da bomba de prótons são amplamente utilizados na prática clínica e seu uso já é bem difundido na população (PATTERSON BURDSALL *et al.*, 2013). Apesar de serem considerados seguros e muito eficazes, na última década seu uso foi associado a efeitos adversos centrais importantes, principalmente quando usados cronicamente (EUSEBI *et al.*, 2017).

Os efeitos centrais mais relatados e investigados com o uso dos medicamentos dessa classe, são depressão e demência (NOVOTNY; KLIMOVA; VALIS, 2019). No contexto atual, onde há uma preocupação global com o crescimento da ocorrência de doenças neuropsiquiátricas, torna-se relevante compreender os diferentes fatores que estão contribuindo para tal causa. Entre estes fatores, está a transição demográfica com o aumento da população idosa em relação aos jovens (HOU *et al.*, 2019), e também o estilo de vida contemporâneo, que possui níveis de estresse elevados (MADORE *et al.*, 2020). Além disso, o perfil de consumo de medicamentos e sua relação com as doenças neuropsiquiátricas também tem sido estudado e se caracteriza como um fator evitável, sendo assim de fundamental importância (CHATTERJEE; TALWAR; APARASU, 2020; NOVOTNY; KLIMOVA; VALIS, 2019).

Apesar do crescente interesse da comunidade científica para compreender esses possíveis efeitos em relatos de casos e em estudos clínicos, há muita informação controversa na literatura e os mecanismos para tais efeitos ainda não estão claros. Nesse sentido, os estudos não-clínicos podem contribuir para a compreensão desses efeitos e estipular possíveis mecanismos. No entanto, na literatura ainda há poucos estudos experimentais, principalmente com enfoque em alterações comportamentais.

Considerando o uso indiscriminado e crônico dos IBPs, especialmente do Omeprazol, pela população, aliado aos relatos de comprometimento a nível de SNC em estudos clínicos e relatos de casos no uso crônico, torna-se relevante o estudo não-clínico comportamental e neuroquímico da relação do uso crônico de Omeprazol e prováveis consequências à nível de SNC.

3 OBJETIVOS

3.1 Geral

Investigar os efeitos da administração crônica de Omeprazol no SNC de camundongos C57BL/6 adultos em dose comparada a utilizada na clínica, com foco em alterações comportamentais, inflamatórias e oxidativas.

3.2 Específicos

- Analisar os efeitos da administração crônica de Omeprazol na atividade locomotora e exploratória e no desempenho motor de camundongos através do teste do campo aberto e do Rotarod;
- Avaliar os efeitos da administração crônica de Omeprazol no comportamento preditivo de depressão em camundongos através do teste do nado forçado;
- Observar os efeitos da administração crônica de Omeprazol no comportamento preditivo de ansiedade em camundongos através do labirinto em cruz elevado;
- Analisar os efeitos da administração crônica de Omeprazol em testes comportamentais que avaliam a memória e aprendizado em camundongos, como reconhecimento de objetos, labirinto em Y e esquiva passiva;
- Avaliar os efeitos da administração crônica de Omeprazol no filtro sensorio-motor através do teste de inibição pré-pulso;
- Análise ponderal através do percentual de ganho de peso dos camundongos submetidos a administração crônica de Omeprazol;
- Analisar o peso do hipocampo, córtex pré-frontal e corpo estriado dos camundongos submetidos a administração crônica de Omeprazol;
- Determinar parâmetros de estresse oxidativo (malondialdeído, glutathiona reduzida e Nitrato/Nitrito) nas áreas cerebrais (hipocampo, córtex pré-frontal e corpo estriado) de camundongos tratados cronicamente com Omeprazol;
- Determinar os níveis de IL-1 β e TNF- α no córtex pré-frontal, hipocampo e soro de camundongos tratados cronicamente com Omeprazol.

4 METODOLOGIA

4.1 Animais

Foram utilizados camundongos C57BL/6 machos, pesando de 20 a 30g com idade entre 6 e 9 semanas, sendo considerados em fase adulta quando correlacionado com a idade humana (DUTTA; SENGUPTA, 2016). Os animais provenientes do Biotério do Departamento de Fisiologia e Farmacologia da Universidade Federal do Ceará (UFC) foram mantidos em ambiente com temperatura controlada ($22\pm 1^{\circ}\text{C}$), ciclo claro/escuro de doze horas e recebendo água e comida à vontade.

O manejo e a experimentação animal foram realizados segundo os princípios de boas práticas em pesquisa animal. Este estudo foi aprovado pelo Comitê Ética de Uso de Animais (CEUA) da UFC com o número de registro: 1977300718.

4.2 Drogas

4.2.1 Omeprazol e veículo

A dosagem escolhida para o grupo teste (OME) foi de 8 mg/kg de Omeprazol, segundo fórmula apresentada no artigo de conversão de dose entre espécies de Reagan-Shaw *et al.* (2008). O cálculo para chegar nessa dose partiu da dose usual de Omeprazol na clínica em humanos para tratamento de úlceras pépticas, que seria de 40 mg/dia (JOHNSON *et al.*, 2017).

O grupo OME recebeu 8 mg/kg de omeprazol e o grupo Sham recebeu apenas o veículo de diluição (bicarbonato de sódio pH 8,4) por via oral através de gavagem. Os pellets presentes nas cápsulas de Omeprazol (Cimed Indústria de Medicamentos LTDA), foram macerados e diluídos em bicarbonato de sódio pH 8,4 e o volume administrado foi de 0,1ml a cada 10g do animal.

O veículo foi proposto por protocolo de adaptação de forma farmacêutica cápsula para forma líquida, seguindo formulação de Robert A Quercia *et al.* (1997). Tendo em vista que o Omeprazol perde estabilidade em meio ácido, a solução de bicarbonato de sódio é suficiente para manter a estabilidade do fármaco no estômago e permitir sua absorção no intestino.

4.3 Desenho experimental

Foi realizada administração de Omeprazol e do veículo via oral por gavagem durante 28 dias. Após 24h da última administração, os testes comportamentais foram realizados e após eutanásia, o soro foi coletado e as amostras das áreas cerebrais (hipocampo, córtex pré-frontal e corpo estriado) foram dissecadas, pesadas e armazenadas em *freezer* -80°C para posterior realização dos testes neuroquímicos. Os testes comportamentais foram realizados de modo que os mesmos animais passassem por no máximo três testes seguidos, sendo o último o mais estressor, por exemplo: Campo aberto, seguido de reconhecimento de objetos, e por final, nado forçado. Dessa forma, visou-se reduzir a exposição do animal a diferentes estímulos estressores.

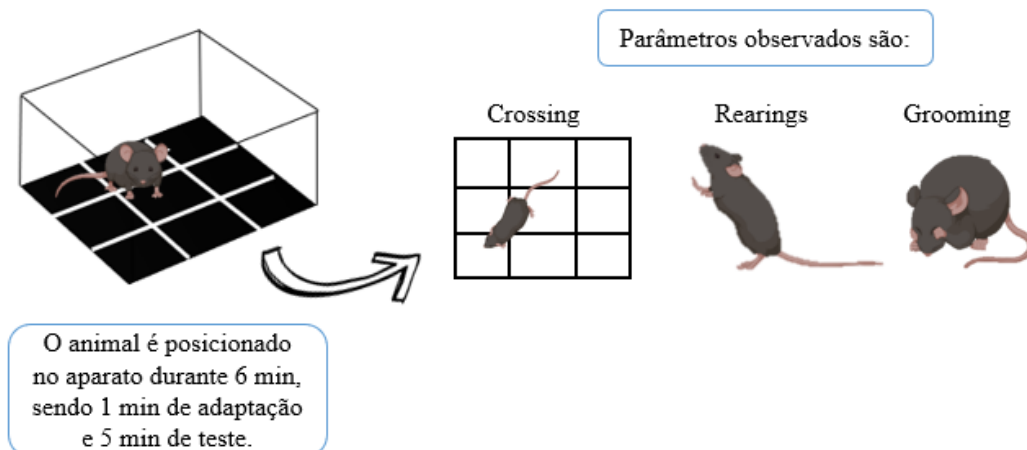
4.4 Testes comportamentais

4.4.1 Avaliação da atividade exploratória e locomotora

4.4.1.1 Teste do Campo Aberto

O aparato de campo aberto para camundongos utilizado é feito de acrílico, paredes transparentes e piso preto (30x30x15cm), dividido em 9 quadrantes iguais. A metodologia de Archer (1973) foi utilizada para avaliar a atividade exploratória do animal durante um tempo de 5 minutos, após 1 minuto de habituação. Foram avaliados os seguintes parâmetros: o número de cruzamentos ou *crossings* percorridos entre os quadrantes, o número de levantamentos verticais ou *rearings* (número de vezes que o animal se ergue nas patas traseiras) e o número de *groomings* (comportamento de autolimpeza). Esses parâmetros foram registrados por meio de observação. O teste foi realizado em uma sala com som atenuado na condição de baixa intensidade de luz vermelha e o aparato foi limpo após cada teste, utilizando álcool a 10%.

Figura 3 – Teste do campo aberto



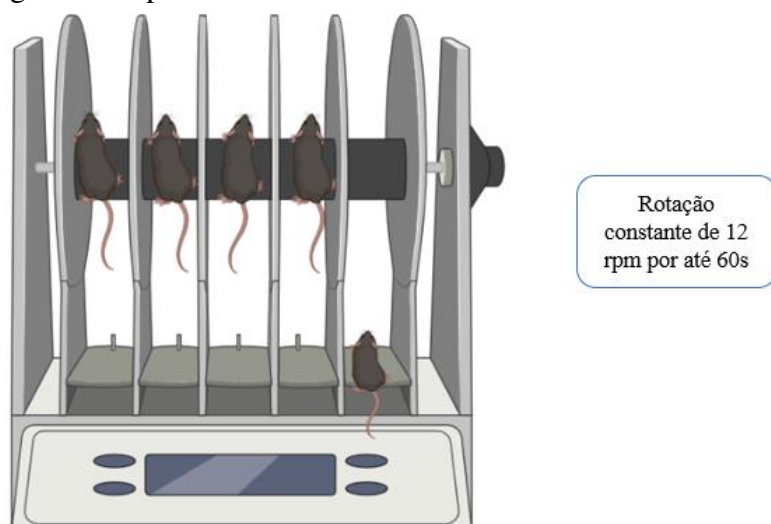
Fonte Autoria própria.

Legenda: Ilustração do animal no teste de campo aberto e dos parâmetros observados.

4.4.1.2 Rotarod

Este teste avaliou o desempenho motor dos animais, utilizando o aparato Rotarod (Ugo Basile, Versile, Italy). Os animais foram colocados com as quatro patas sobre o eixo sob rotação constante de 12 rpm. Após cada ensaio, o aparato foi higienizado. Foram avaliados o número de quedas e o tempo de permanência sobre o eixo por até 60 segundos (DA COSTA *et al.*, 2017; SHIOTSUKI *et al.*, 2010).

Figura 4 – Aparato de Rotarod



Fonte: Autoria própria.

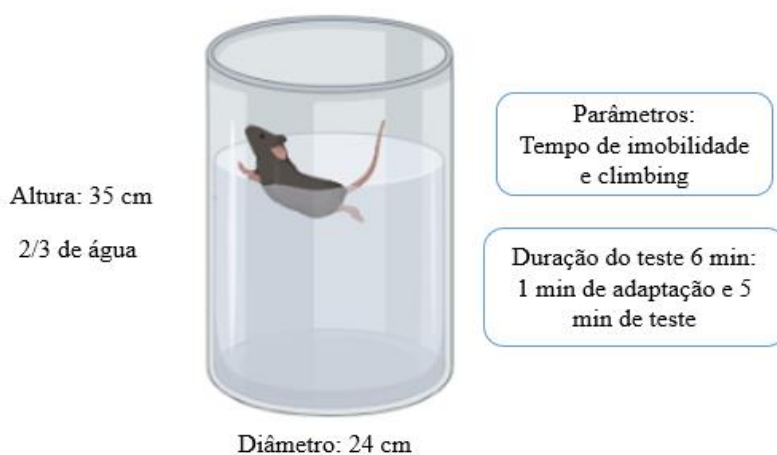
Legenda: Ilustração do teste de Rotarod em funcionamento.

4.4.2 Avaliação do fenótipo depressivo

4.4.2.1 Teste do Nado Forçado

Os animais foram colocados individualmente em um cilindro plástico (altura: 35 cm; diâmetro: 24 cm), contendo 2/3 de água, por um período de 6 min, sendo o primeiro minuto, o período de adaptação, em que não foi realizado nenhum registro. Após esse tempo, foram cronometrados o tempo total de imobilidade e o comportamento de escalada (*climbing*) (PORSOLT *et al.*, 1978). O teste foi realizado em uma sala onde ficava somente o animal a ser testado, e em outra sala ficaram o restante dos animais aguardando o teste. Após o nado forçado, os animais foram colocados em caixa com maravalha seca a uma temperatura acima de 25 °C para evitar hipotermia.

Figura 5 – Teste do Nado Forçado



Fonte: Autoria própria.

Legenda: Ilustração do momento em que o animal é colocado no cilindro do teste nado forçado.

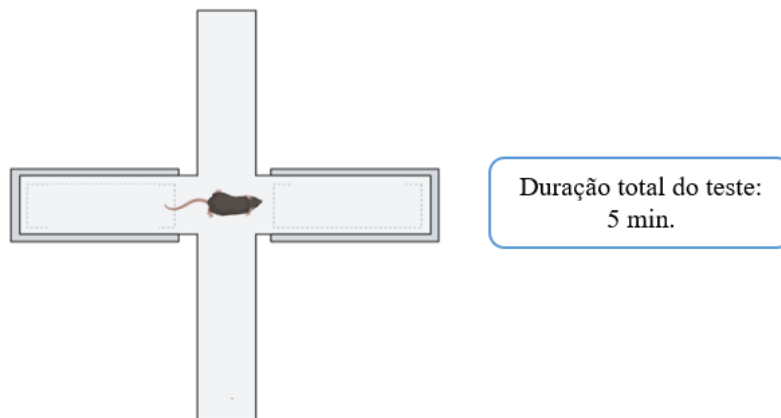
4.4.3 Avaliação do comportamento tipo ansioso

4.4.3.1 Teste do Labirinto em Cruz Elevado

O Labirinto em Cruz Elevado (LCE) consiste de dois braços abertos opostos (30 x 5 x 25 cm) e dois fechados (30 x 5 x 25 cm), também opostos, em forma de cruz. Os braços abertos e fechados estão conectados por uma plataforma central (5 x 5 cm). As paredes laterais dos braços fechados são confeccionadas em acrílico transparente e o chão em acrílico preto. O aparelho fica elevado a uma altura de 45 cm do nível do chão. Neste teste os camundongos foram posicionados no centro do aparelho com a cabeça voltada

para um dos braços fechados e o seu comportamento foi observado por 5 min. As medidas comportamentais registradas no LCE foram: frequência de entradas e o tempo despendido nos braços abertos e nos fechados (LISTER, 1987).

Figura 6 – Teste do Labirinto em Cruz Elevado



Altura de 45 cm do nível do chão

Fonte: Autoria própria.

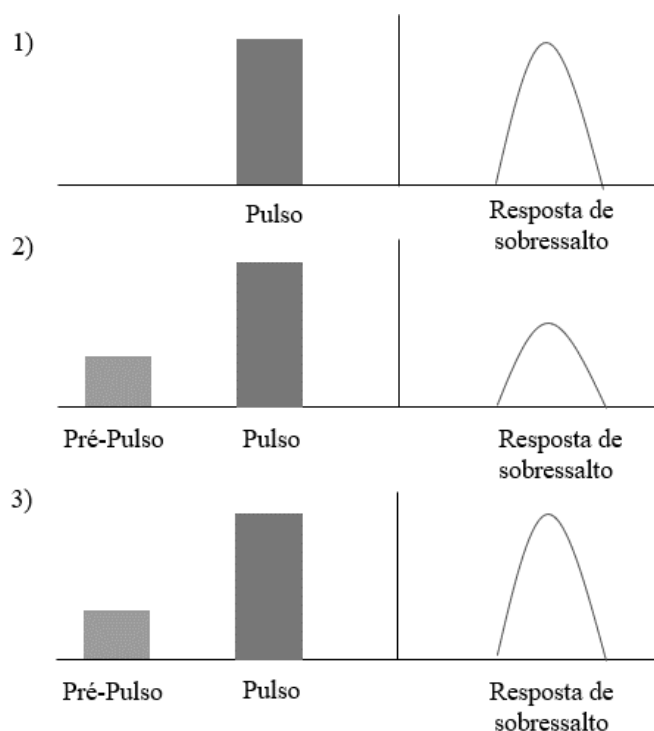
Legenda: Vista superior do aparato do labirinto em cruz elevado.

4.4.4 Avaliação do filtro sensório-motor

4.4.4.1 Teste de Inibição Pré-Pulso (IPP)

O princípio do teste se baseia na capacidade natural dos vertebrados em modular o reflexo de sobressalto acústico através do mecanismo do filtro sensório motor. Em condições fisiológicas, após serem submetidos a um estímulo sonoro, chamado de pulso, é gerada uma resposta de sobressalto equivalente, e na presença anterior de um estímulo de intensidade menor, chamado de pré-pulso, essa resposta de sobressalto tende a diminuir, configurando a inibição pré-pulso (HOFFMAN; SEARLE, 1968). Esse é um mecanismo de proteção que tem como objetivo promover a filtração do excesso de informação do meio. No entanto, quando há prejuízo do filtro sensório motor, há alteração da inibição pré-pulso, evidenciada pela resposta ao pulso indiferente à presença do pré-pulso (Figura 7) (GÓMEZ-NIETO; HORMIGO; LÓPEZ, 2020).

Figura 7 – Ilustração do princípio do teste de inibição pré-pulso



Fonte: Autoria própria.

Legenda: Ilustração da resposta de sobressalto em condições fisiológicas, frente ao pulso (1) e na presença do pré-pulso (2). E quando há prejuízo no filtro sensorio motor (3), evidenciado pela resposta de sobressalto independente da presença anterior do pré-pulso.

O teste da inibição pré-pulso foi realizado utilizando o equipamento SR-LAB-*Startle Response System* e seguindo a metodologia de KINKEAD *et al.*, (2006). Para esse teste, os seguintes estímulos sonoros foram utilizados: pulso de 120 dB (P) e pré-pulsos de 70 dB (PP70), de 75 dB (PP75) e de 80 dB (PP80).

O protocolo consistiu no período de aclimação, no qual o animal colocado no contensor teve exposição de 5 minutos ao ruído de fundo de 65 dB, e em 6 blocos nos quais os camundongos foram apresentados a uma série de 10 *trials* com estímulos diferentes, são eles:

Bloco I, ensaio de treino e cujo resultados não foram utilizados na fórmula, apresentação de P com 40 ms de duração;

Bloco II, apresentação de P com 40 ms de duração;

Bloco III, apresentação de PP70 dB com 20 ms de duração, seguido de pausa de 80 ms, e depois exposição de P por 40 ms de duração;

Bloco IV apresentação de PP75 dB com 20 ms de duração seguido de pausa de 80 ms, e depois exposição de P por 40 ms de duração

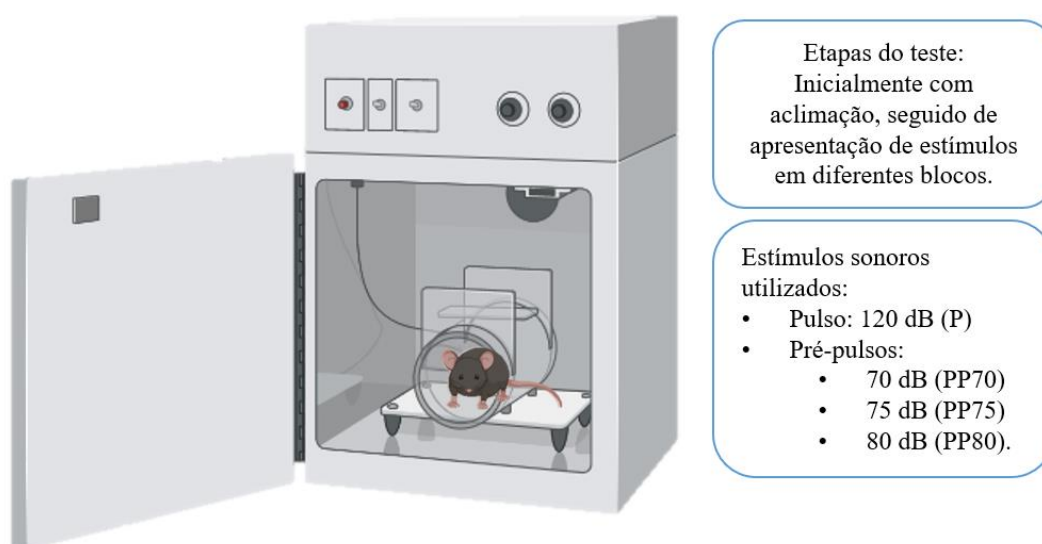
Bloco V apresentação de PP80 dB com 20 ms de duração seguido de pausa de 80 ms, e depois exposição de P por 40 ms de duração

Bloco VI ausência de estímulo, nesse bloco o animal somente recebeu o estímulo de ruído de fundo (65dB).

A ordem de apresentação dos blocos foi de forma randômica e o intervalo entre os *trials* foram aleatoriamente escolhidos para serem apresentados pelo software. O cálculo da Inibição Pré-pulso foi realizado segundo a fórmula abaixo.

$$IPP = 100 \times P - \frac{(PP + P)}{P}$$

Figura 8 – Teste de Inibição pré-pulso



Fonte: Autoria própria.

Legenda: Ilustração do posicionamento do animal na câmara do equipamento SR-LAB-Startle Response System antes do início do teste.

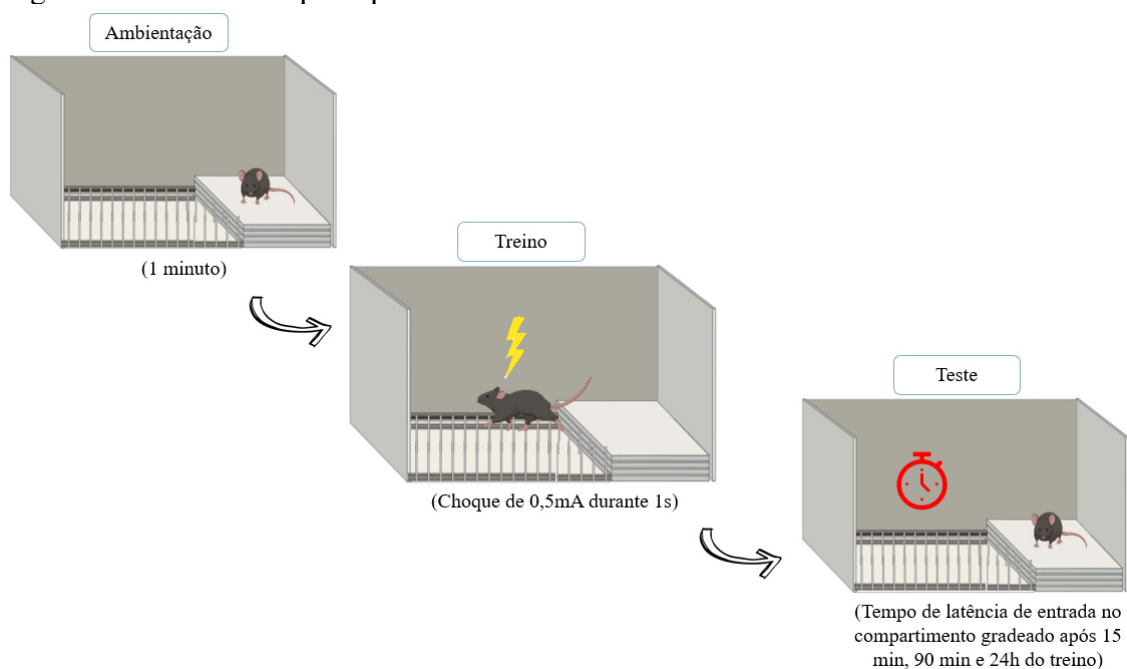
4.4.5 Avaliação da memória e cognição

4.4.5.1 Teste da Esquiva Passiva

Esse teste foi utilizado para a avaliação da memória aversiva. O aparato consiste de uma caixa de acrílico (48x22x22cm), dividida em dois compartimentos, um elevado e um gradeado com piso eletrificado. O animal foi colocado no compartimento elevado e deixado para ambientação durante um minuto, e então, retirado.

Após 30 segundos o animal foi colocado novamente no compartimento elevado e ao descer para o compartimento gradeado o animal recebeu um choque de 0,5mA, durante 1 segundo. Após o treino, o animal foi retirado e após 15, 90 minutos e 24h foi colocado novamente no compartimento elevado e a latência de entrada no compartimento gradeado foi registrada (KAMEYAMA; NABESHIMA; KOZAWA, 1986).

Figura 9 – Teste da Esquiva passiva



Fonte: Autoria própria.

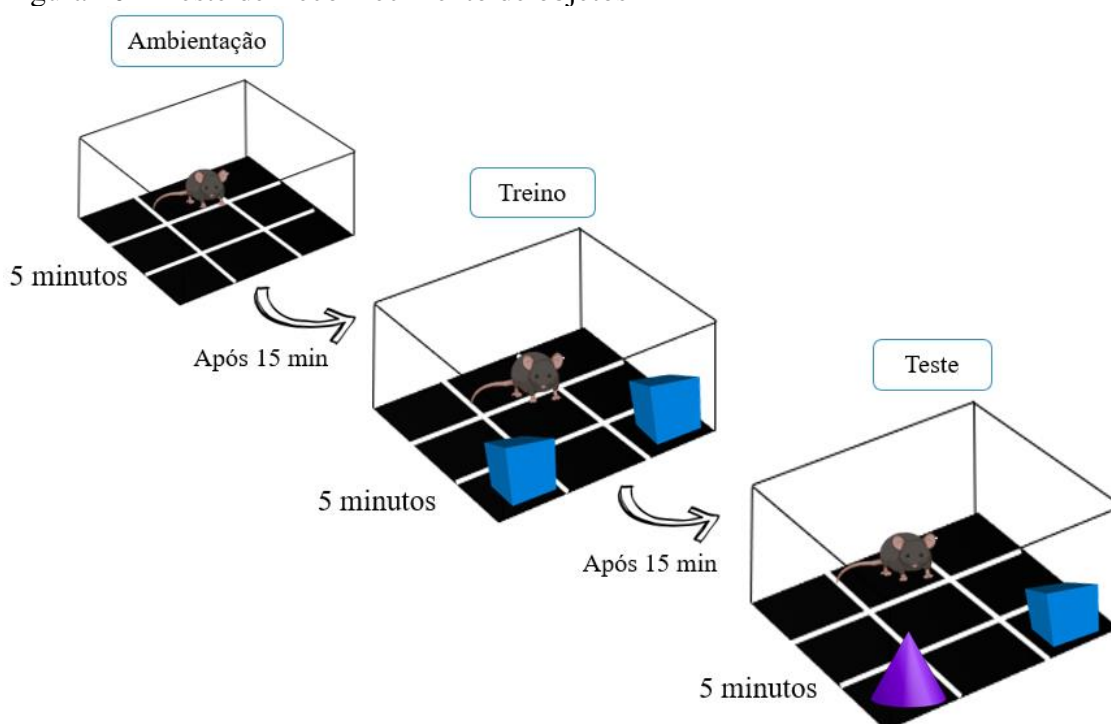
Legenda: Demonstração da fase de ambientação e do treino do teste de Esquiva Passiva.

4.4.5.2 Teste do reconhecimento de objetos

O teste de reconhecimento de objetos é baseado na tendência natural dos roedores buscarem o novo (ENNACEUR; DELACOUR, 1988). Na primeira etapa do teste, chamada de ambientação, o animal é posicionado no aparato de acrílico de dimensões (30x30x15) durante 5 min. Após decorrido esse tempo, o animal foi retirado e foi aguardado o tempo de 15 minutos para então colocá-lo novamente no aparato, agora com a presença de dois Objetos Iguais (OI) durante 5 minutos. Após esse tempo, o animal foi retirado e foi aguardado o tempo de 15 minutos, para então, ser colocado novamente no aparato para a etapa de teste, na qual um dos objetos iguais é substituído por um objeto Novo (ON) (Figura 10). O resultado, expresso como Índice de Reconhecimento (IR), foi obtido a partir da seguinte fórmula:

$$IR = \frac{\text{Tempo ON} - \text{Tempo OI}}{\text{Tempo ON} + \text{Tempo OI}}$$

Figura 10 – Teste de Reconhecimento de objetos



Fonte: Autoria própria.

Legenda: Ilustração do animal durante o teste de reconhecimento de objetos.

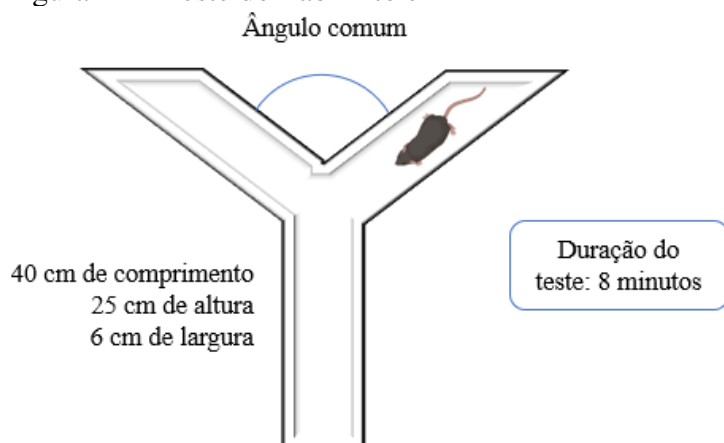
4.4.5.3 Labirinto em Y

A memória espacial de trabalho de curto prazo pode ser avaliada pelo teste de Labirinto em Y. A alternância espontânea entre os braços do aparato é impulsionada pelo comportamento cognitivo exploratório inato dos camundongos, onde eles tendem a explorar áreas não visitadas anteriormente (KRAEUTER; GUEST; SARNYAI, 2019). O aparato consiste em três braços idênticos de 40 cm de comprimento, 25 cm de altura e 6 cm de largura cada um convergindo a um ângulo comum.

Cada camundongo foi colocado na extremidade de um braço e permanecendo no aparato por 8 minutos para explorar o ambiente. 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. Alternância Correta (AC) é considerada quando o animal visita um novo braço e não retorna ao braço anteriormente visitado. Assim, a porcentagem das alternações foi calculada segundo a fórmula abaixo (DALL'IGNA et al., 2007; MAURICE; LOCKHART; PRIVAT, 1996).

$$AC = \frac{n^{\circ} \text{ de AC}}{\text{Total de Alternâncias}} \times 100$$

Figura 11 – Teste do Labirinto em Y



Fonte: Autoria própria.

Legenda: Ilustração do animal no aparato do labirinto em Y durante a execução do teste.

4.5 Análise ponderal

Os animais foram pesados e os pesos registrados em gramas desde o início do protocolo até o 28º dia com intervalos entre 48h a 72h. A análise estatística foi realizada a partir do percentual de ganho de peso.

4.6 Dissecação das áreas cerebrais

Após os testes de comportamento, os animais foram eutanasiados através de guilhotina, um animal por vez, e o aparelho foi higienizado entre cada eutanásia para que não houvesse odor de sangue do animal anterior. O aparato de guilhotina ficou em uma sala diferente do ambiente em que o restante dos animais aguardava, para não gerar estresse. Após a eutanásia, foi feita a dissecação das áreas cerebrais: hipocampo, córtex pré-frontal e corpo estriado. Cada área foi colocada em papel de alumínio, sobre gelo e pesadas em miligramas utilizando balança analítica, depois foram armazenadas em *freezer* a -80°C para análise posterior (BURKE; GREENBAUM, 1987).

4.7 Determinação dos parâmetros de estresse oxidativo e inflamatórios

4.7.1 Determinação das concentrações de Glutathiona Reduzida (GSH)

Os níveis de GSH foram avaliados para estimar defesas endógenas contra o estresse oxidativo. 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 os níveis de GSH foram determinados por espectrofotometria a 412 nm, calculada com base numa curva padrão de glutathiona e expressos como mcg de GSH/g de tecido úmido (SEDLAK; LINDSAY, 1968).

4.7.2 Avaliação do grau de lipoperoxidação - TBARS

O grau de lipoperoxidação nas áreas cerebrais foi medido através da determinação dos níveis de malondialdeído, a partir de sua reação com o ácido barbitúrico (JANERO, 1990), seguindo o protocolo a seguir. Foram preparados os homogenatos das áreas cerebrais a 10% em tampão fosfato de potássio monobásico, 50 mM, pH 7,4 e 63µL destes, foram adicionados a 100 µL de ácido perclórico 35% em tubos *Eppendorf*, que foram centrifugados a 10000 rpm por 10 minutos a 4°C. Em seguida 150 µL do sobrenadante foi adicionado a 50 µL de ácido tiobarbitúrico 1,2%, que ficaram em banho-maria a 95°C por 30 minutos. Por fim, 150 µL da mistura foram adicionados aos poços da placa de ELISA e, posteriormente, foi feita a leitura a 535nm. Os resultados foram expressos em µg de MDA/g de tecido.

4.7.3 Determinação da concentração de Nitrato/Nitrito

A avaliação da produção de óxido nítrico foi realizada de forma indireta através da dosagem dos níveis de Nitrato/Nitrito, que são produtos da reação entre o ON e o oxigênio. Esta dosagem indireta é feita devido ao ON apresentar uma meia vida extremamente curta no plasma e tecidos além de sua baixíssima concentração (ARCHER, 1993).

Desta forma, os níveis de nitrito/nitrato foram determinados nos homogenatos das áreas cerebrais. Para esse experimento 100 µL do Reagente de Griess (ácido fosfórico 5%, sulfonilamida 1% em ácido fosfórico 5%, NEED 0,1% e água destilada) foram adicionados a 100 µL do sobrenadante do homogenato e incubados a temperatura ambiente por 10 min. A curva padrão foi elaborada com várias concentrações de NaNO₂ (variando de 0,75 a 100 mM) sob as mesmas condições. Os brancos foram preparados pela adição de 100 µL do Reagente de Griess a 100 µL do tampão usado para o homogenato (fosfato de potássio monobásico 50 mM, pH 7,4). A absorbância foi medida

em leitor de microplacas em 540 nm, e o resultado expresso em μmol de nitrito/g de tecido (GREEN *et al.*, 1981).

4.7.4 Determinação dos níveis de IL-1 β e TNF- α

Para determinação dos parâmetros inflamatórios se optou pela dosagem nas áreas cerebrais do hipocampo e do córtex pré-frontal por serem áreas mais relacionadas a depressão e demência em estudos experimentais, além da dosagem de citocinas no soro que permite análise a nível sistêmico. A dosagem dos níveis de IL-1 β e TNF- α foi realizada através da preparação de homogenatos do hipocampo e do córtex pré-frontal (tampão PBS 0.02mol/L, pH 7.0-7.2). Foi realizado ensaio imunoenzimático (ELISA; Biosource, EUA) de acordo com a orientação dos fabricantes. A dosagem das citocinas também foi realizada por ELISA em amostras de soro retirado dos animais, de acordo com as instruções do fabricante e os resultados foram expressos em pg/g.

4.8 Análise estatística

A análise estatística dos dados foi realizada através do software *GraphPad Prism* versão 8 para *Windows* (*GraphPad Software*, San Diego California, EUA). Os resultados que obedeceram a uma distribuição paramétrica foram analisados pelo teste de *t-student*. Os dados não-paramétricos foram analisados pelo mesmo programa utilizando o teste de Mann-Whitney. Para os resultados que apresentaram mais de uma variável analisada simultaneamente foi utilizado *two-way* ANOVA seguido pelo teste de Bonferroni (*post hoc*). Em todas as análises estatísticas, os valores foram representados pela Média \pm Erro Padrão da Média (EPM) com valores significativos quando $p < 0,05$.

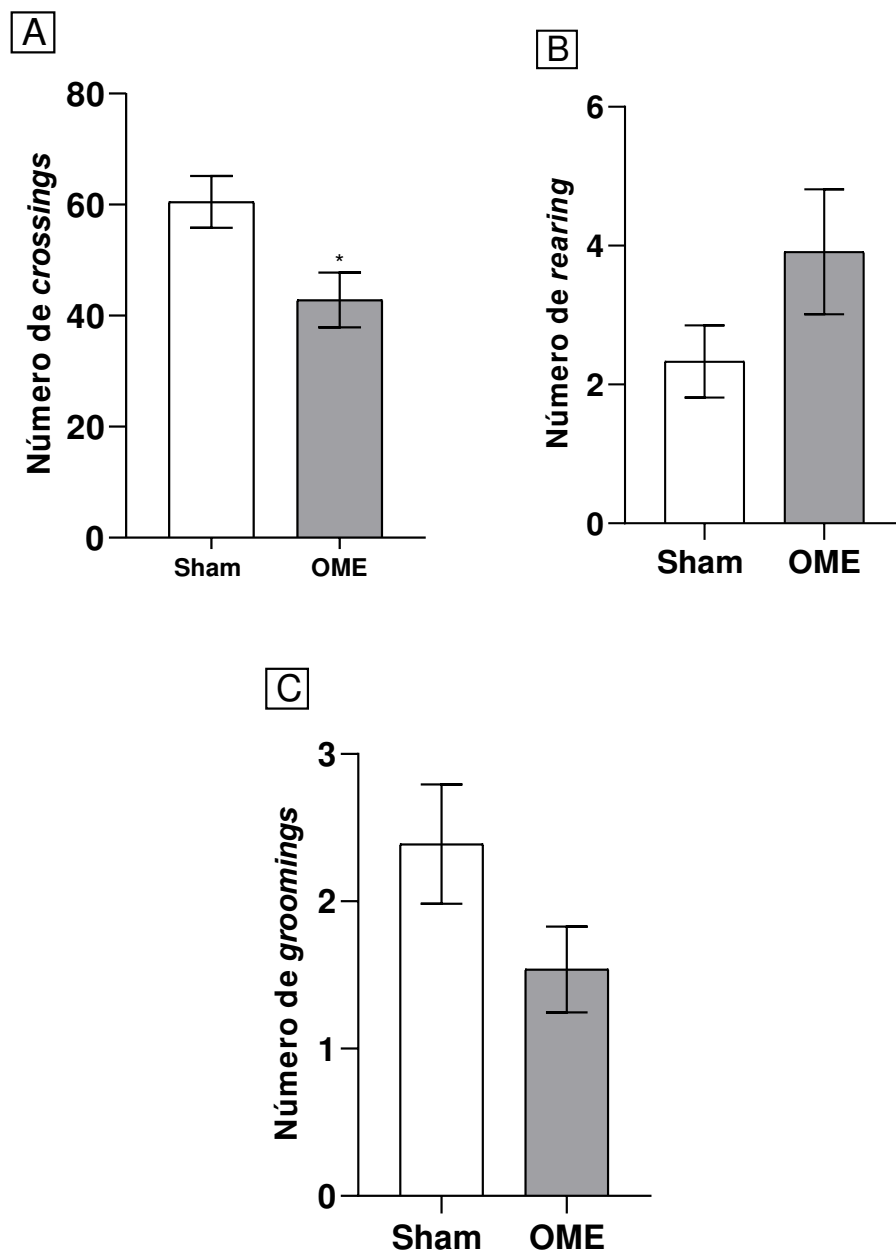
5 RESULTADOS

5.1 Avaliação comportamental

5.1.1 *Efeitos da administração crônica de Omeprazol na atividade locomotora e exploratória nos testes de Campo Aberto e Rotarod.*

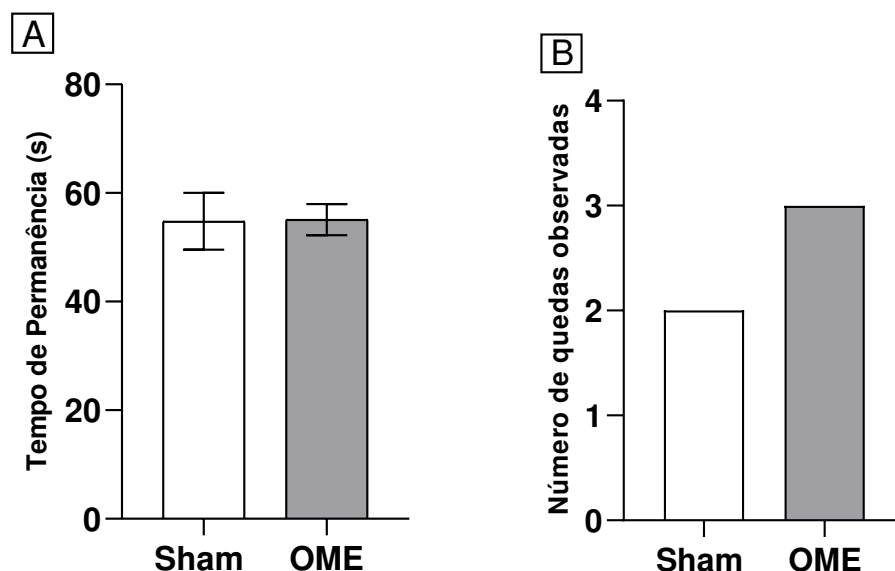
Houve uma diminuição significativa no número de *crossings* dos animais do grupo OME em relação ao grupo Sham (Sham $60,47 \pm 4,66$; OME $42,83 \pm 4,92$, $p < 0,05$). Em relação ao número de *rearings*, não houve diferença significativa entre os grupos Sham e OME (Sham $2,33 \pm 0,52$; OME $3,91 \pm 0,90$, $p > 0,05$) e também não foi encontrada diferença significativa entre os grupos no parâmetro de *grooming* (Sham $2,39 \pm 0,40$; OME $1,54 \pm 0,29$) (Gráfico 1). No teste de Rotarod, não foram encontradas diferenças significativas entre os grupos nos parâmetros de tempo de permanência (Sham $54,78 \pm 5,22$ OME $55,10 \pm 2,85$, $p > 0,05$) e de número de quedas (Sham 2 ± 0 OME 3 ± 0 , $p > 0,05$) (Gráfico 2).

Gráfico 1 – Análise da atividade exploratória/locomotora no teste de Campo Aberto em camundongos tratados cronicamente com Omeprazol.



Os animais (n=8-10 animais/grupo) receberam administração de Omeprazol (8mg/kg) no grupo OME e do veículo no grupo Sham via oral por gavagem durante 28 dias, após 24h da última administração o teste de Campo Aberto foi realizado, sendo avaliados os seguintes parâmetros *crossing* (A), *rearing* (B) e *grooming* (C) durante 5 minutos. Os resultados estão representados como Média ± EPM. O teste estatístico utilizado para análise dos resultados foi o t-Student (*p<0,05). Abreviações: Sham: Veículo e OME: Omeprazol.

Gráfico 2 – Avaliação do desempenho motor no teste de Rotarod em camundongos tratados cronicamente com Omeprazol

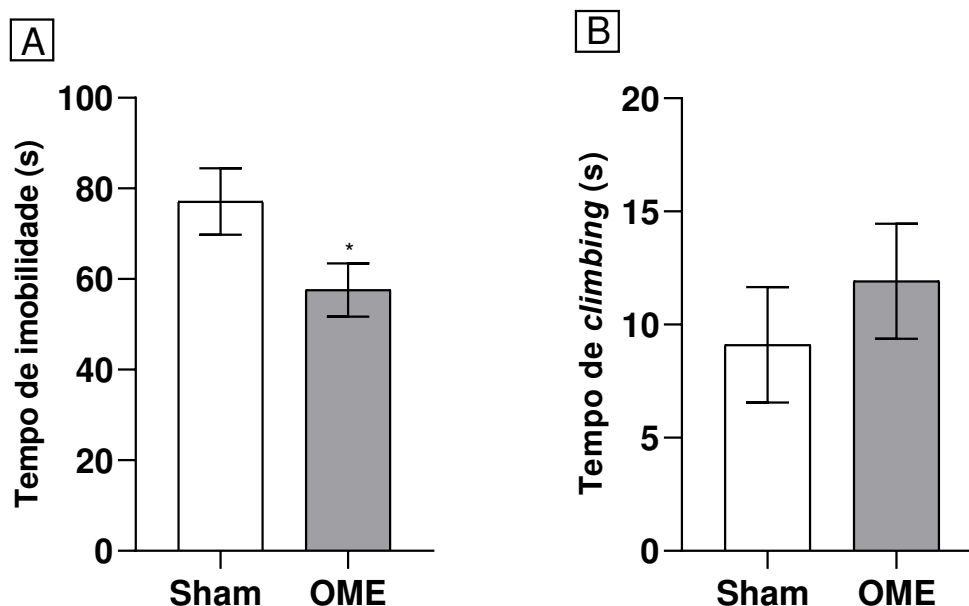


Os animais (n=8-10 animais/grupo) receberam administração de Omeprazol (8mg/kg) no grupo OME e do veículo no grupo Sham via oral por gavagem durante 28 dias, após 24h da última administração o teste de Rotarod foi realizado, sendo avaliados os seguintes parâmetros: tempo de permanência no eixo em segundos (A) e número de quedas (B) e o sob velocidade 12 rpm/min durante 60 segundos. Os resultados estão representados como Média \pm EPM. O teste estatístico utilizado para análise dos resultados foi o t-Student. Abreviações: Sham: Veículo e OME: Omeprazol.

5.1.2 Efeitos da administração crônica de Omeprazol no comportamento depressivo símile no teste de Nado Forçado

Os resultados encontrados mostram que o grupo que recebeu Omeprazol em comparação com o grupo que recebeu o veículo (Sham) apresentou uma diminuição no tempo de imobilidade (Sham 77,11 segundos \pm 7,35 OME 57,61 segundos \pm 5,88, $p < 0,05$) e não teve diferença significativa no tempo de *climbing* (Sham 9,11 segundos \pm 2,55 OME 11,92 segundos \pm 2,54, $p > 0,05$) (Gráfico 3).

Gráfico 3 – Análise do comportamento depressivo similar no teste de Nado Forçado em camundongos tratados cronicamente com Omeprazol

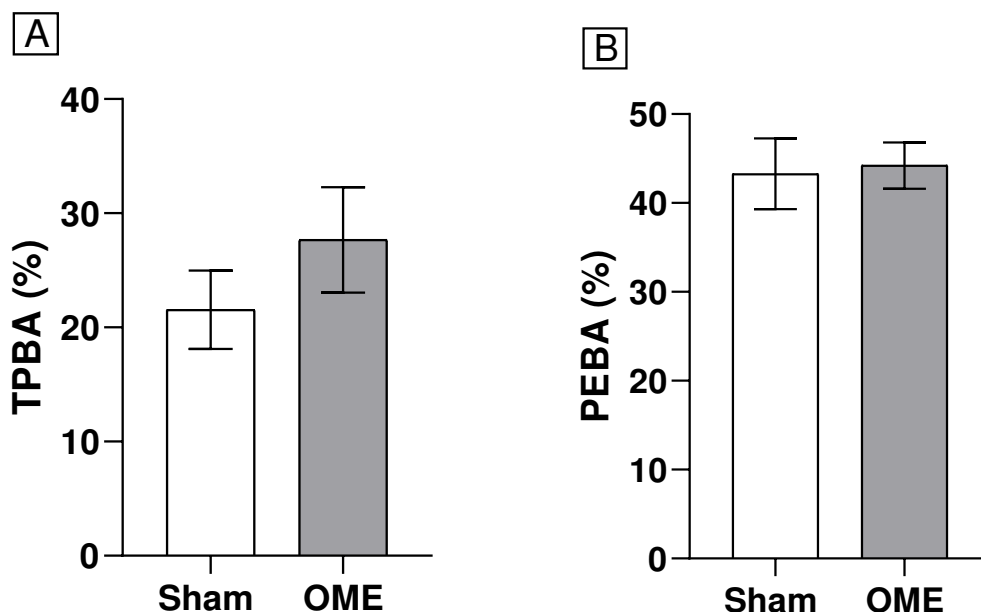


Os animais (n=8-10 animais/grupo) receberam administração de Omeprazol (8mg/kg) no grupo OME e do veículo no grupo Sham via oral por gavagem durante 28 dias, após 24h da última administração o teste de Nado Forçado foi realizado, sendo avaliados os seguintes parâmetros Tempo de imobilidade em segundos (A) e o tempo de *climbing* em segundos (B) durante 5 minutos. Os resultados estão representados como Média \pm EPM. O teste estatístico utilizado para análise dos resultados foi o T-Student (*p<0,05). Abreviações: Sham: Veículo e OME: Omeprazol.

5.1.3 Efeitos da administração crônica de Omeprazol no comportamento ansioso similar no teste Labirinto em Cruz Elevada

O teste de Labirinto em Cruz Elevada avalia o comportamento preditivo de ansiedade, analisando o percentual do tempo de permanência e do percentual do número de entradas nos braços abertos (TPBA e PEBA). Como resultado desse teste, não foi encontrada diferença significativa entre os grupos Sham e OME nesses parâmetros (PEBA: Sham 43.29 ± 3.96 ; OME: 47.14 ± 2.33 , $p > 0,05$ e TPBA: Sham 21.55 ± 3.44 ; OME 30.05 ± 7.31 , $p > 0,05$) (Gráfico 4).

Gráfico 4 – Análise do comportamento ansioso símile no teste de Labirinto em Cruz Elevado em camundongos tratados cronicamente com Omeprazol

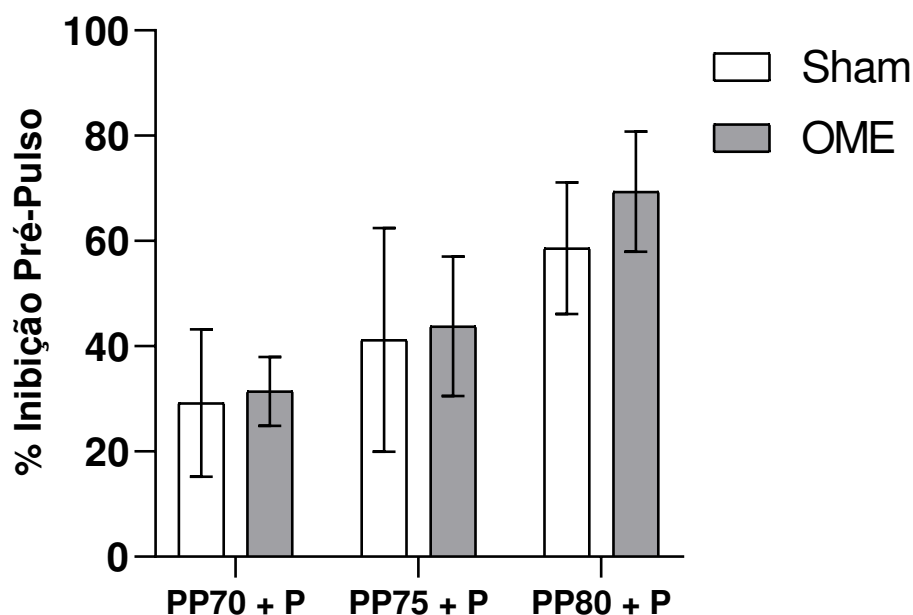


Os animais (n=8-10 animais/grupo) receberam administração de Omeprazol (8mg/kg) no grupo OME e do veículo no grupo Sham via oral por gavagem durante 28 dias, após 24h da última administração o teste de Labirinto em Cruz Elevado foi realizado, sendo avaliados os seguintes parâmetros: percentual de tempo (A) e de percentual do número de entradas nos braços abertos (B) durante 5 minutos. Os resultados estão representados como Média \pm EPM. O teste estatístico utilizado para análise dos resultados foi o t-Student. Abreviações: Sham: Veículo; OME: Omeprazol; TPBA: Percentual de permanência nos braços abertos; PEBA: Percentual de entradas nos braços abertos.

5.1.4 Efeitos da administração crônica de Omeprazol na Inibição Pré-Pulso

No teste de Inibição Pré-Pulso não foram encontradas diferenças significativas entre os grupos Sham e OME na exposição aos pré-pulsos (70, 75 e 80 dB) seguido do pulso (120 dB). Foi feita a média dos resultados dos três PP + P, como em triplicata (Sham $42,23 \pm 4,47$; OME $48,19 \pm 4,514$, $p > 0,05$) (Gráfico 5).

Gráfico 5 – Análise do filtro sensório motor no teste de Inibição Pré-Pulso em camundongos tratados cronicamente com Omeprazol



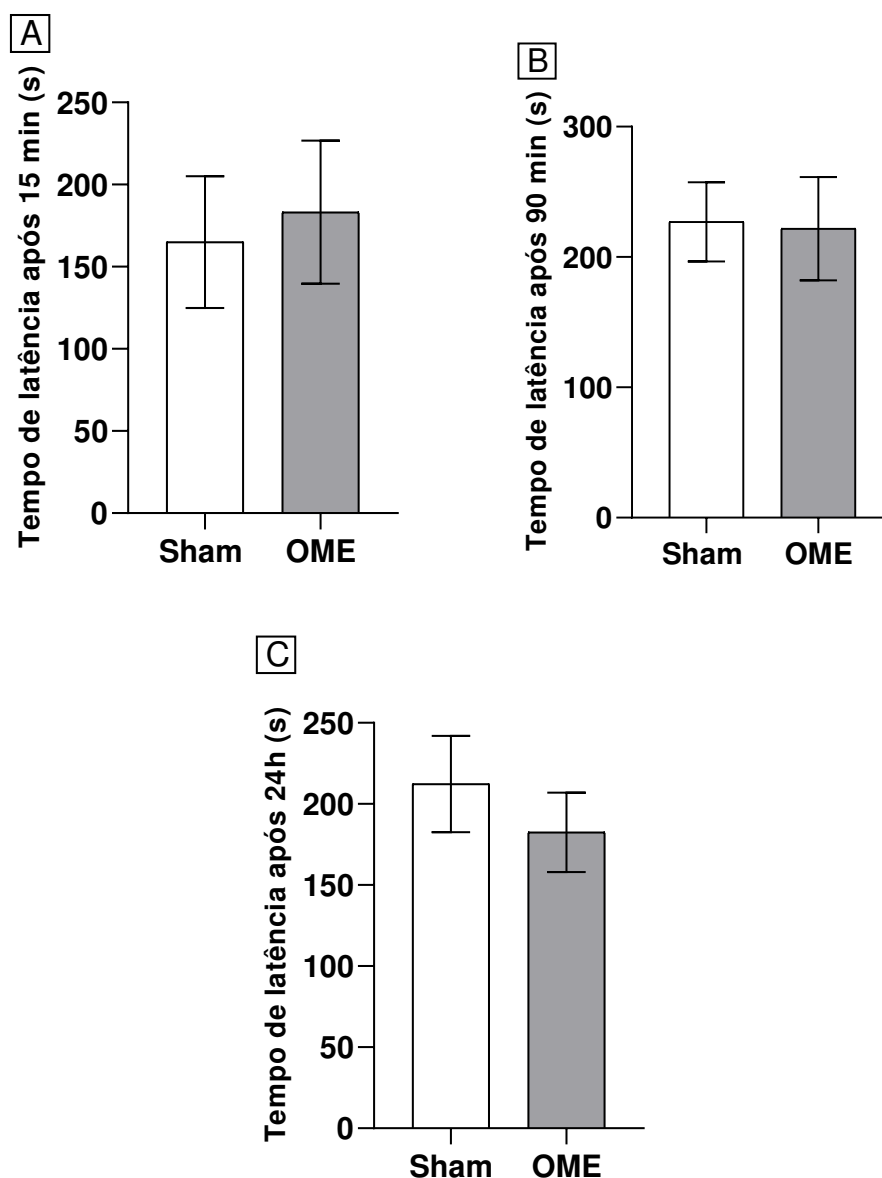
Os animais (n=8-10 animais/grupo) receberam administração de Omeprazol (8mg/kg) no grupo OME e do veículo no grupo Sham via oral por gavagem durante 28 dias, após 24h da última administração o teste de Inibição Pré-Pulso foi realizado, sendo avaliado o percentual de inibição de pré-pulso em diferentes exposições de pré-pulso e pulso (PP70 + P; PP75 + P e PP80 + P). Os resultados estão representados como Média \pm EPM. O teste estatístico utilizado para análise dos resultados foi o *two way* ANOVA seguido pelo teste de Tukey. Abreviações: Sham: Veículo e OME: Omeprazol.

5.1.5 Efeitos da administração crônica de Omeprazol na memória e cognição

5.1.5.1 Teste de Esquiva Passiva

Nesse teste não foram encontradas diferenças significativas entre os animais dos grupos Sham e OME. Tempo de latência após 15 min (Sham $165 \pm 40,12$; OME $183,2 \pm 43,59$, $p > 0,05$), 90 min (Sham $227 \pm 30,3$; OME $221,8 \pm 39,6$, $p > 0,05$) e 24h (Sham $212,3 \pm 29,69$; OME $182,5 \pm 24,49$, $p > 0,05$) (Gráfico 6).

Gráfico 6 – Análise da memória aversiva de curto e longo prazo no teste de Esquiva Passiva em camundongos tratados cronicamente com Omeprazol

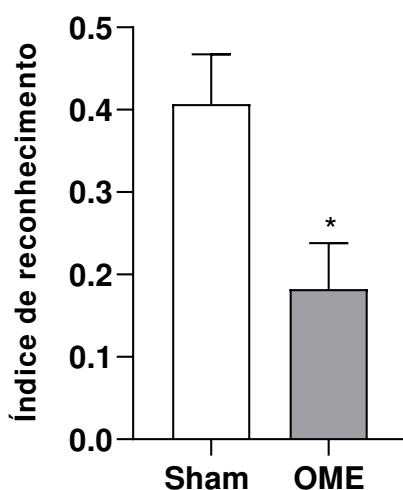


Os animais (n=8-10 animais/grupo) receberam administração de Omeprazol (8mg/kg) no grupo OME e do veículo no grupo Sham via oral por gavagem durante 28 dias, após 24h da última administração o teste de Esquiva Passiva foi realizado, sendo avaliado o tempo de latência em diferentes tempos: após 15 min (A), após 90 min (B) e após 24h (C) por até no máximo 300 segundos. Os resultados estão representados como Média ± EPM. O teste estatístico utilizado para análise dos resultados foi o t-Student para resultados paramétricos e para resultados não paramétricos foi utilizado o teste Mann-Whitney. Abreviações: Sham: Veículo e OME: Omeprazol.

5.1.5.2 Teste de Reconhecimento de Objeto

O grupo OME apresentou uma redução no tempo gasto explorando o objeto novo em comparação ao grupo Sham (Sham 5.81 ± 0.66 ; OME 3.81 ± 0.61 , $p < 0,05$) (Gráfico 7).

Gráfico 7 – Avaliação da memória de reconhecimento no teste de Reconhecimento de Objeto em camundongos tratados cronicamente com Omeprazol

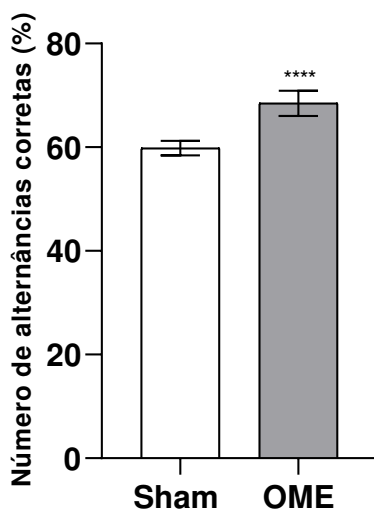


Os animais (n=8-10 animais/grupo) receberam administração de Omeprazol (8mg/kg) no grupo OME e do veículo no grupo Sham via oral por gavagem durante 28 dias, após 24h da última administração o teste de Reconhecimento de objeto foi realizado, sendo avaliado o tempo de exploração no objeto novo por até no máximo 5 minutos. Os resultados estão representados como Média \pm EPM. O teste estatístico utilizado para análise dos resultados foi o teste de Man-Whitney (* $p < 0,05$). Abreviações: Sham: Veículo e OME: Omeprazol.

5.1.5.3 Teste de Labirinto em Y

Foi observado que o grupo de camundongos que recebeu Omeprazol teve aumento significativo do percentual de sequências corretas em relação ao grupo Sham (Sham $59,81 \pm 1,40$; OME $68,48 \pm 2,43$, $p < 0,0001$) (Gráfico 8).

Gráfico 8 – Avaliação da memória de trabalho no teste Y Maze em camundongos tratados cronicamente com Omeprazol



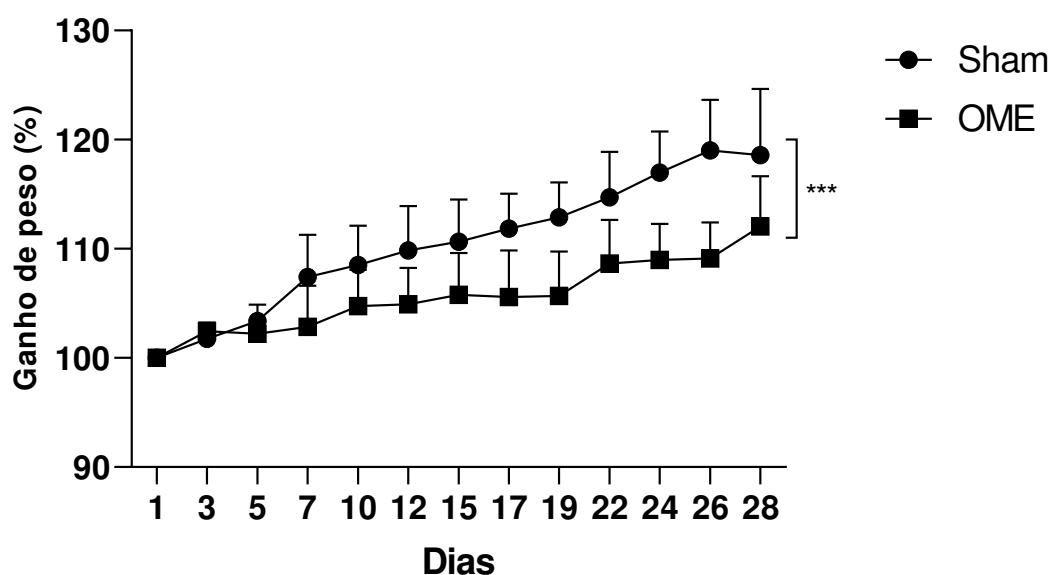
Os animais (n=8-10 animais/grupo) receberam administração de Omeprazol (8mg/kg) no grupo OME e do veículo no grupo Sham via oral por gavagem durante 28 dias, após 24h da última administração o teste

Labirinto em Y foi realizado, sendo avaliado o percentual de sequencias corretas por até no máximo 8 minutos. Os resultados estão representados como Média \pm EPM. O teste estatístico utilizado para análise dos resultados foi o t-Student (*** $p < 0,0001$). Abreviações: Sham: Veículo e OME: Omeprazol.

5.2 Análise ponderal

O grupo OME apresentou redução do ganho de peso, expresso em porcentagem, significativa quando comparado ao grupo Sham (Sham $110,1 \pm 0,63$ e OME $100,9 \pm 0,33$, $p < 0,001$) (Gráfico 9).

Gráfico 9 – Análise do percentual de ganho de peso dos camundongos tratados cronicamente com Omeprazol

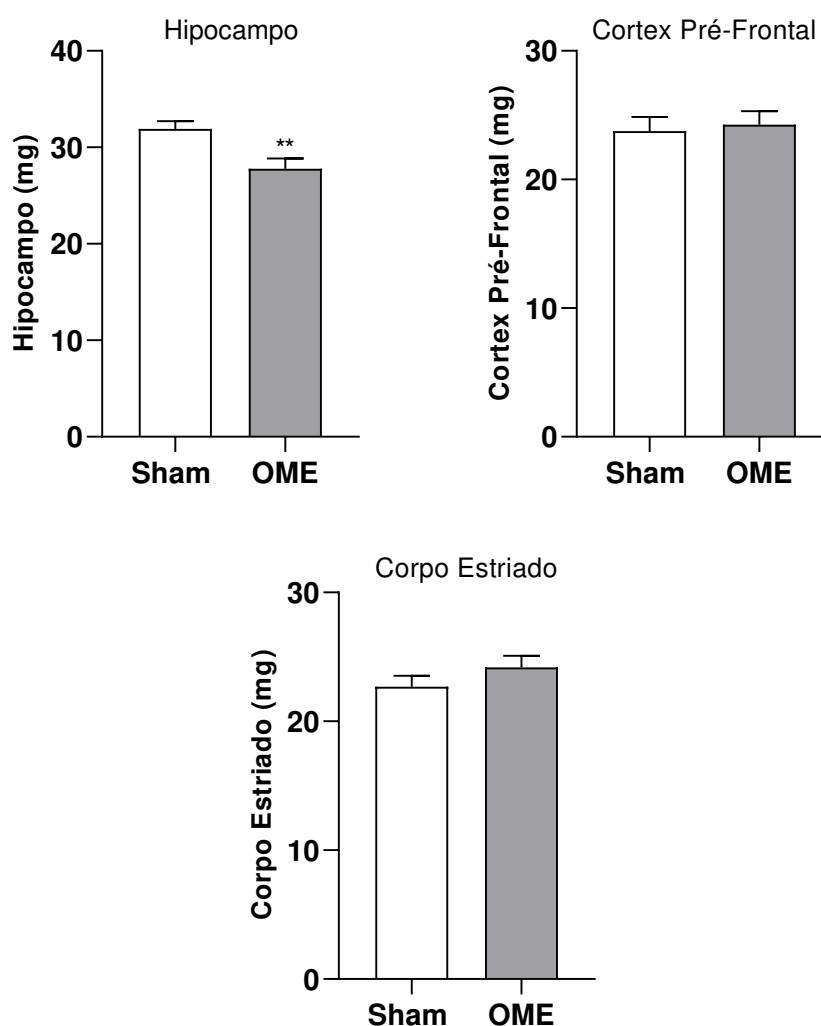


Os animais ($n=8$ animais/grupo) receberam administração de Omeprazol (8mg/kg) no grupo OME e do veículo no grupo Sham via oral por gavagem durante 28 dias, o peso em gramas foi registrado no início (1º dia) até o final protocolo (28º dia) com intervalos entre 48h e 72h. O teste estatístico utilizado para análise dos resultados foi o *two-way* ANOVA (*** $p < 0,001$). Abreviações: Sham: Veículo e OME: Omeprazol.

5.3 Avaliação do peso do hipocampo, córtex pré-frontal e corpo estriado

O grupo OME apresentou redução do peso do hipocampo em comparação ao grupo Sham (Sham $31,92 \pm 0,79$; OME $27,78 \pm 1,07$, $p < 0,001$). Enquanto que o peso do córtex pré-frontal e do corpo estriado não apresentou diferença significativa entre os grupos (Sham $23,77 \pm 1,10$; OME $24,27 \pm 1,03$, $p > 0,05$; Sham $22,70 \pm 0,84$; OME $24,19 \pm 0,90$, $p > 0,05$). Ambos resultados são apresentados no Gráfico 10.

Gráfico 10 – Avaliação do peso das áreas do hipocampo, do córtex pré-frontal e do corpo estriado



Os animais ($n=8-10$ animais/grupo) receberam administração de Omeprazol (8mg/kg) no grupo OME e do veículo no grupo Sham via oral por gavagem durante 28 dias, o peso das áreas do hipocampo, córtex pré-frontal e corpo estriado foi registrado em miligramas após a dissecação. O teste estatístico utilizado para análise dos resultados foi o *t-student* (** $p < 0,01$). Abreviações: Sham: Veículo e OME: Omeprazol.

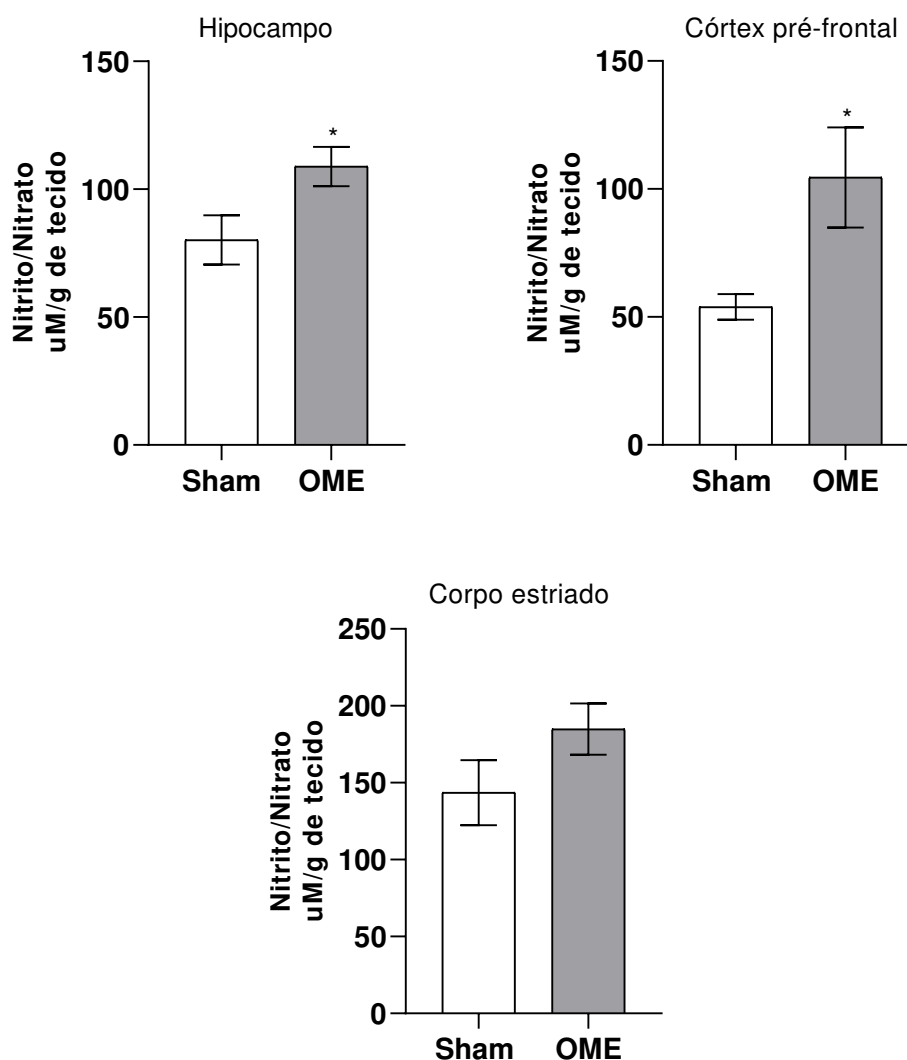
5.4 Avaliação neuroquímica

5.4.1 Determinação de parâmetros do estresse oxidativo

5.4.1.1 Efeito da administração crônica de Omeprazol na concentração de Nitrito/Nitrato em áreas cerebrais

Foi observado que o grupo OME teve um aumento nas concentrações de Nitrito/Nitrato nas áreas do hipocampo e córtex pré-frontal quando comparado com o grupo Sham (Sham $80,15 \pm 9,61$; OME $108,9 \pm 7,70$, $p < 0,05$ e Sham $53,94 \pm 4,96$; OME $104,5 \pm 19,58$, $p < 0,05$), não houve diferença significativa entre os grupos na área do corpo estriado (Sham $143,6 \pm 21,11$; OME $184,9 \pm 16,59$, $p > 0,05$) (Gráfico 11).

Gráfico 11 – Efeito da administração crônica de Omeprazol na concentração de Nitrito/Nitrato em áreas cerebrais



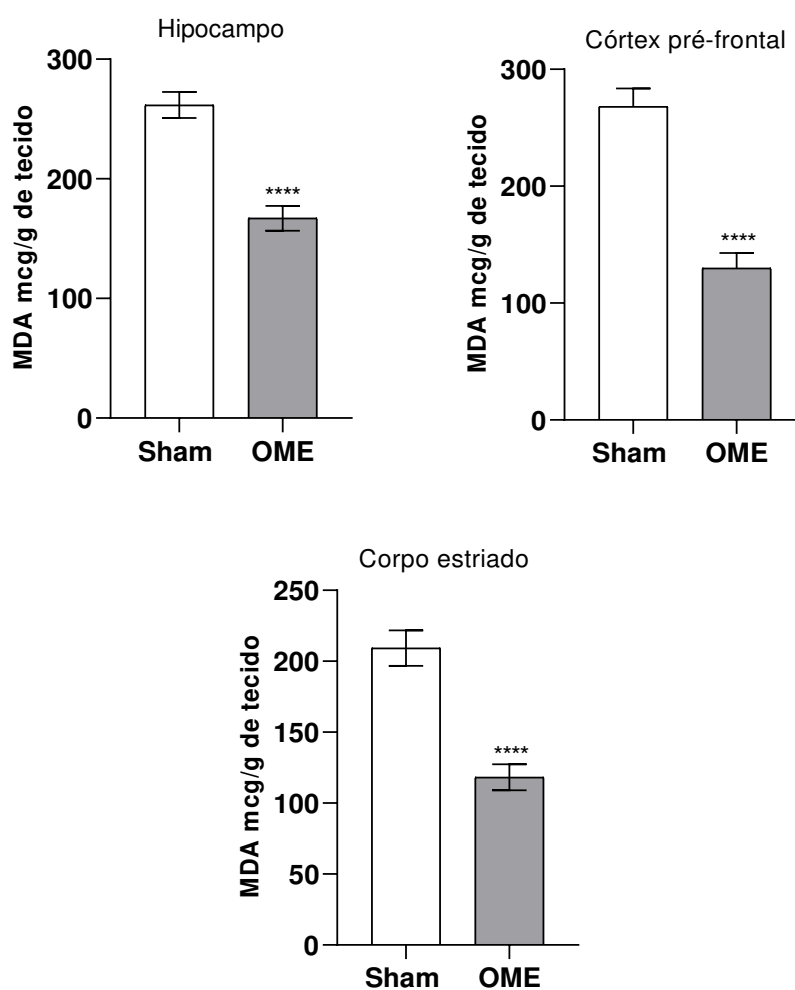
Os animais ($n=8-10$ animais/grupo) receberam administração de Omeprazol (8mg/kg) no grupo OME e do veículo no grupo Sham via oral por gavagem durante 28 dias. Após 24h, as áreas cerebrais (hipocampo,

córtex pré-frontal e corpo estriado) foram coletadas para a determinação da concentração de Nitrito/Nitrato por meio de ELISA. Os resultados estão representados como Média \pm EPM. O teste estatístico utilizado para análise dos resultados foi o t-Student ($*p < 0,05$). Abreviações: Sham: Veículo e OME: Omeprazol.

5.4.1.2 Efeito da administração crônica de Omeprazol na concentração de Malondialdeído (MDA) em áreas cerebrais

O grupo OME apresentou redução significativa na concentração de MDA no hipocampo (Sham $261,7 \pm 10,81$; OME $167 \pm 10,35$, $p < 0,0001$), córtex pré-frontal (Sham $268,2 \pm 15,46$; OME $129,9 \pm 12,94$, $p < 0,0001$) e no corpo estriado (Sham $209,3 \pm 12,49$; OME $118,20 \pm 9,24$, $p < 0,0001$) quando comparados aos animais tratados apenas com o veículo (Gráfico 12).

Gráfico 12 – Efeito da administração crônica de Omeprazol na concentração de MDA em áreas cerebrais

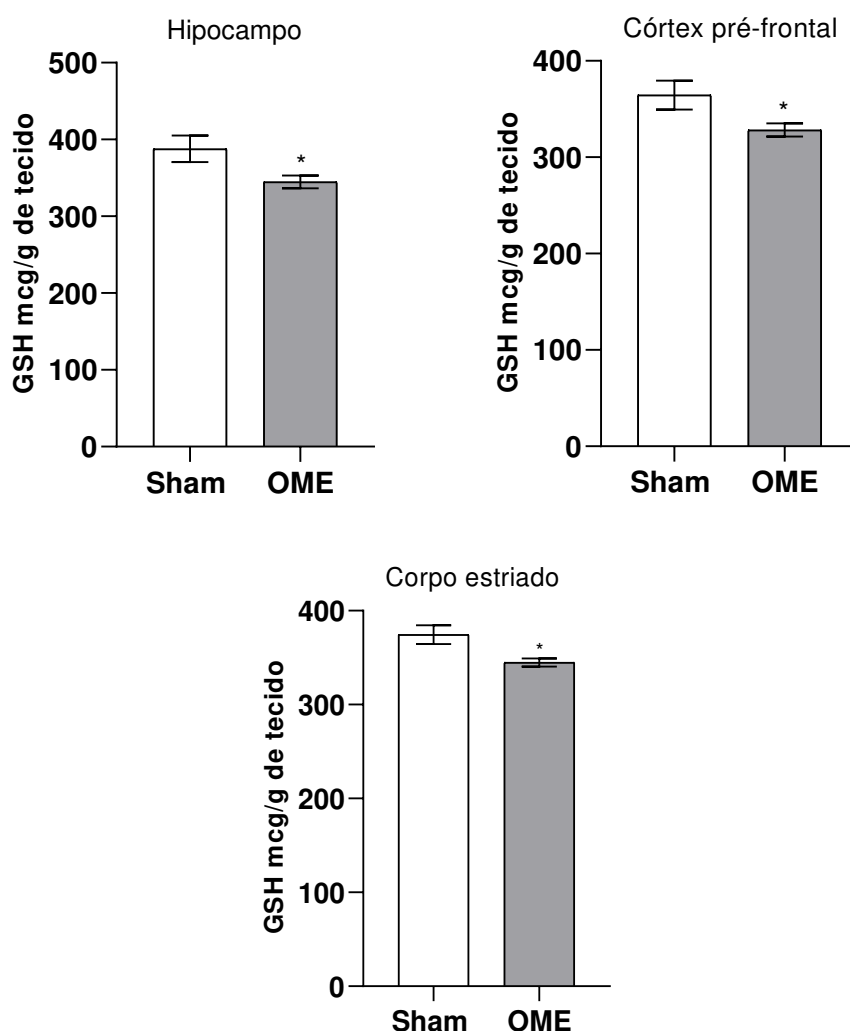


Os animais ($n=8-10$ animais/grupo) receberam administração de Omeprazol (8mg/kg) no grupo OME e do veículo no grupo Sham via oral por gavagem durante 28 dias. Após 24h, as áreas cerebrais (hipocampo, córtex pré-frontal e corpo estriado) foram coletadas para a determinação da concentração de MDA por meio de ELISA. Os resultados estão representados como Média \pm EPM. O teste estatístico utilizado para análise dos resultados foi o t-Student ($****p < 0,0001$). Abreviações: Sham: Veículo e OME: Omeprazol.

5.4.1.3 Efeito da administração crônica de Omeprazol na concentração de Glutathiona Reduzida (GSH) em áreas cerebrais

Foi observado que no grupo OME houve uma redução na concentração de GSH quando comparado com o grupo Sham no hipocampo (Sham $387,8 \pm 17,24$; OME $344,6 \pm 8,33$, $p < 0,05$), córtex pré-frontal (Sham $364,5 \pm 14,93$ OME $328,3 \pm 6,80$, $p < 0,05$) e corpo estriado (Sham $374,6 \pm 10,04$; OME $344,8 \pm 4,35$, $p < 0,05$) (Gráfico 13).

Gráfico 13 – Efeito da administração crônica de Omeprazol na concentração de GSH em áreas cerebrais



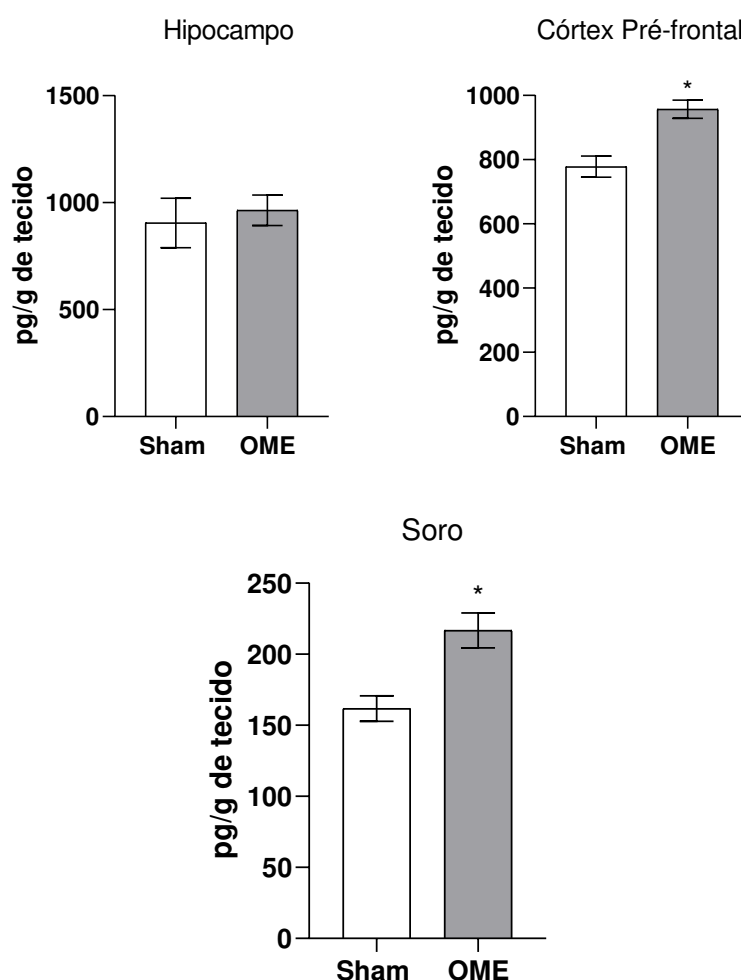
Os animais ($n=8-10$ animais/grupo) receberam administração de Omeprazol (8mg/kg) no grupo OME e do veículo no grupo Sham via oral por gavagem durante 28 dias. Após 24h, as áreas cerebrais (hipocampo, córtex pré-frontal e corpo estriado) foram coletadas para a determinação da concentração de GSH por meio de ELISA. Os resultados estão representados como Média \pm EPM. O teste estatístico utilizado para análise dos resultados foi o t-Student ($*p < 0,05$). Abreviações: Sham: Veículo e OME: Omeprazol.

5.4.2 Determinação de parâmetros de inflamação

5.4.2.1 Efeito da administração crônica de Omeprazol na concentração de Interleucina-1 β no hipocampo, no córtex pré-frontal e no soro de camundongos C57BL/6

Não houve diferença significativa entre o grupo OME e Sham em relação a contração de Interleucina-1 β no hipocampo (Sham $905 \pm 115,2$; OME $964,4 \pm 71,7$, $p > 0,05$). No entanto, foi observada diferença significativa entre os grupos no córtex pré-frontal (Sham $778,2 \pm 33,1$; OME $957,2 \pm 28,18$, $p < 0,05$) e no soro (Sham $161,8 \pm$ OME $216,8 \pm 12,22$, $p < 0,05$) (Gráfico 14).

Gráfico 14 – Efeito da administração crônica de Omeprazol na concentração de Interleucina-1 β no hipocampo, córtex pré-frontal e soro

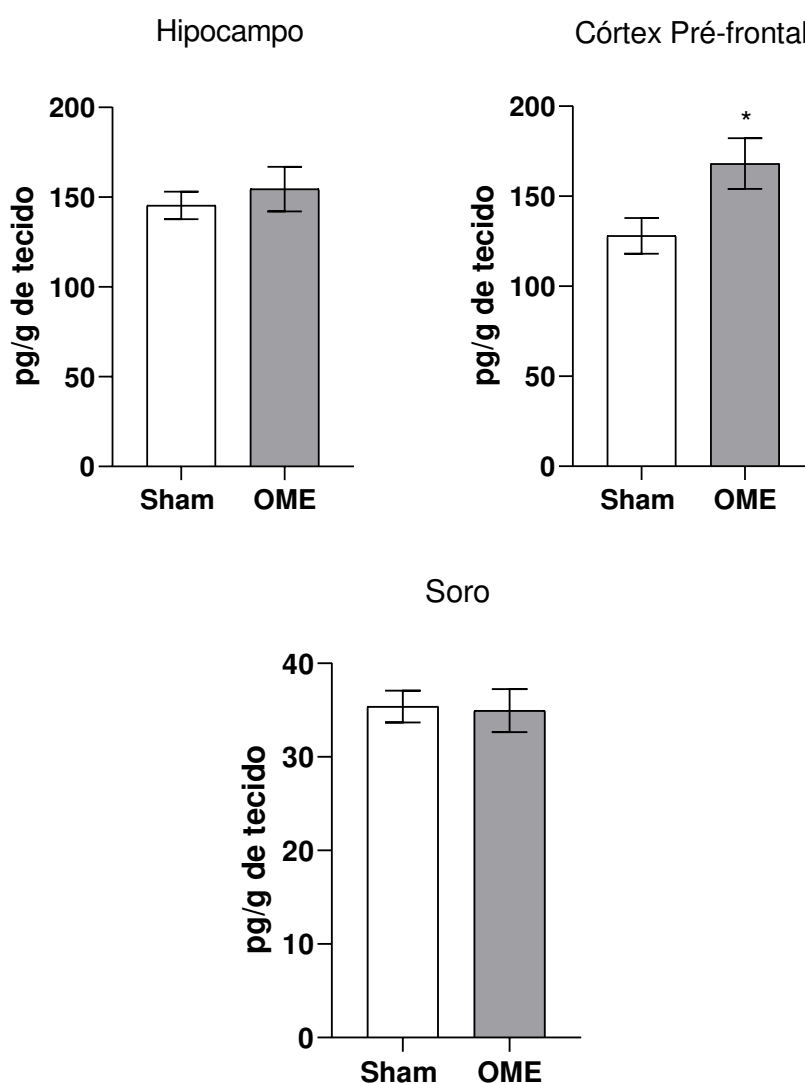


Os animais ($n=8-10$ animais/grupo) receberam administração de Omeprazol (8mg/kg) no grupo OME e do veículo no grupo Sham via oral por gavagem durante 28 dias. Após 24h, as áreas cerebrais (hipocampo, córtex pré-frontal) e o soro foram coletados para a determinação da concentração de Interleucina-1 β por meio de ELISA. Os resultados estão representados como Média \pm EPM. O teste estatístico utilizado para análise dos resultados foi o t-Student ($*p < 0,05$). Abreviações: Sham: Veículo e OME: Omeprazol.

5.4.2.2 Efeito da administração crônica de Omeprazol na concentração de TNF alfa no hipocampo, córtex pré-frontal e soro de camundongos C57BL/6

Não foram encontradas diferenças significativas entre os grupos Sham e OME em relação a concentração de TNF-alfa no hipocampo (Sham $145,4 \pm 7,7$; OME $154,5 \pm 12,45$, $p > 0,05$) e no soro (Sham $35,38 \pm 1,69$; OME $34,96 \pm 2,30$, $p > 0,05$). No entanto, foi encontrada diferença significativa no córtex pré-frontal (Sham 128 ± 10 ; OME $168,1 \pm 14$, $p < 0,05$) (Gráfico 15).

Gráfico 15 – Efeito da administração crônica de Omeprazol na concentração de TNF- α no hipocampo, córtex pré-frontal e soro



Os animais ($n=8-10$ animais/grupo) receberam administração de Omeprazol (8mg/kg) no grupo OME e do veículo no grupo Sham via oral por gavagem durante 28 dias. Após 24h, as áreas cerebrais (hipocampo, córtex pré-frontal) e soro foram coletados para a determinação da concentração de TNF- α por meio de ELISA. Os resultados estão representados como Média \pm EPM. O teste estatístico utilizado para análise dos resultados foi o t-Student ($*p < 0,05$). Abreviações: Sham: Veículo e OME: Omeprazol.

6 DISCUSSÃO

O presente trabalho avaliou os efeitos da administração crônica de Omeprazol em camundongos com o intuito de contribuir na investigação da correlação do uso desse medicamento e o desenvolvimento de comportamentos relacionados a doenças neuropsiquiátricas. Os resultados demonstraram que o fármaco foi capaz de causar alterações a nível comportamental, neuroquímico, no ganho de peso corporal e na redução do peso do hipocampo em camundongos tratados com o fármaco.

No teste de Campo Aberto, amplamente utilizado para analisar a atividade exploratória e locomotora de roedores, é possível realizar análise locomotora e do estado emocional do animal, assim, os resultados podem sugerir se a droga testada apresenta efeitos excitatórios ou inibitórios, ao alterar parâmetros de análise do teste, sendo os mais utilizados o número de cruzamentos (*crossing*), levantamentos verticais (*rearings*) e comportamento estereotipado de autolimpeza (*grooming*) (PRUT; BELZUNG, 2003).

No presente trabalho, o Omeprazol foi capaz de causar redução na atividade locomotora/exploratória, verificada pelo número de cruzamentos no teste do Campo Aberto. No estudo de Ali *et al.* (2020), utilizando o Omeprazol (10mg e 20mg/kg) para investigação de comportamento ansiogênico em ratos, foi encontrado resultado semelhante em relação a redução do número de cruzamentos e os outros parâmetros não foram avaliados. Além disso, no mesmo estudo, os autores demonstraram que esse resultado seria dose-dependente, no qual, os animais que receberam dose maior do fármaco, tiveram maior redução na atividade exploratória/locomotora.

O teste de Rotarod foi realizado para verificar se essa diferença entre os grupos encontrada no parâmetro de *crossing* no Campo Aberto demonstrava impacto no desempenho motor dos animais, e os resultados demonstraram que o fármaco não foi capaz de causar prejuízo no desempenho motor dos animais. Nesse teste, são avaliados o tempo de permanência no eixo do equipamento e o número de quedas. Resultado semelhante foi demonstrado no modelo animal de esclerose múltipla de Sands *et al.* (2014) que também utilizou Omeprazol como fármaco no estudo.

A redução do número de *crossings* é relatada na literatura como sendo associada a comportamentos emocionais, sendo estresse, ansiedade e depressão fatores que podem levar a esse achado (SESTAKOVA *et al.*, 2013). Dessa forma, sugere-se que o fármaco

pode ter causado alteração emocional impactando na atividade exploratória, sem alterar a atividade motora.

A análise do comportamento preditivo de depressão, a partir do parâmetro de tempo de imobilidade no teste do Nado Forçado, indicou que o tratamento com o Omeprazol não levou ao comportamento depressivo-símile nesses camundongos, em vez disso, pode-se observar diminuição no tempo de imobilidade dos animais tratados.

Em estudos clínicos, há achados controversos. Laudisio *et al.* (2018), através da escala de depressão geriátrica em população idosa, relataram que o uso de IBPs pode representar uma causa associada ao desenvolvimento de quadros depressivos na população estudada. O estudo ainda sugere que avaliações de humor sejam realizadas nesses pacientes durante a terapia com IBPs. Esse resultado também é encontrado em outros estudos, em que há uma relação entre o uso de IBPs e risco de desenvolver depressão (HUANG *et al.*, 2018). Já no estudo de Ribeiro *et al.* (2019) realizado com população com suspeita de refluxo laringofaríngeo, utilizando Omeprazol 40 mg duas vezes ao dia durante 6 meses, houve melhora na escala utilizada para analisar a depressão na população estudada. Essa análise foi realizada antes e depois dos 6 meses de tratamento.

Embora não tenha sido encontrado na literatura estudos que mostrem resultados desse mesmo teste em animais tratados com IBPs, Betari *et al.* (2020) avaliaram o tempo de imobilidade no teste de suspensão da cauda em ratos, outro teste reconhecido para analisar o comportamento depressivo-símile. Nesse recente estudo, a administração de alta dose de Omeprazol (100mg/kg) por 4 dias, causou uma redução no tempo de imobilidade, resultado semelhante ao encontrado no presente trabalho.

Em análise *in silico*, foi demonstrado que o Esomeprazol atuaria como inibidor da MAO, enzima responsável por degradar as monoaminas, entre elas, a serotonina. Dessa forma, aumentaria os níveis desse neurotransmissor na fenda sináptica, levando a efeitos positivos no comportamento depressivo símile (PETZER; PIENAAR; PETZER, 2013). Já Betari *et al.* (2020), demonstraram que além de inibir a atividade da MAO, o Omeprazol atuaria inibindo a ação da enzima de síntese da serotonina, a triptofano hidroxilase (TPH). Assim, haveriam ações paradoxais, uma vez que a inibição da MAO, favorece o aumento da concentração de serotonina, e a inibição da TPH, diminui a concentração do mesmo neurotransmissor na fenda sináptica. Diante disso, neste mesmo

estudo, os autores sugerem que a inibição da MAO superaria a inibição da TPH, favorecendo o aumento da concentração de serotonina na fenda sináptica, o que explicaria a diminuição no tempo de imobilidade no teste de suspensão da cauda. Além disso, o estudo também traz resultado interessante de aumento da concentração de serotonina no plasma e cérebro dos ratos tratados com Omeprazol.

No entanto, com esse resultado isolado não se pode afirmar que o Omeprazol tenha atividade antidepressiva, pois a depressão é uma doença multifatorial, envolvendo componentes de inflamação, neurobiológicos e neuroquímicos (MÉNARD; HODES; RUSSO, 2016). Apesar disso, esse achado é interessante e pode ser promissor, sendo necessário mais estudos para comprovar essa possível atividade antidepressiva.

Já o comportamento preditivo de ansiedade foi analisado através do teste de Labirinto em Cruz Elevado. Neste estudo, o Omeprazol não foi capaz de alterar os parâmetros do teste, como o número de entradas e o tempo de permanência nos braços abertos. O princípio do teste se baseia no comportamento natural e conflituoso dos roedores, entre explorar lugares novos e a preferência por lugares fechados. Assim, quanto maior o tempo e o número de entradas nos braços abertos, maior é o indicativo de comportamento não ansioso, já se o animal tende a ficar menos tempo nos braços abertos, indica comportamento ansiogênico (WALF; FRYE, 2007).

No estudo de Ali *et al.* (2020), foi observado que a dose de 20 mg/kg de Omeprazol por administração intraperitoneal em ratos durante 15 dias, teve como resultado diminuição no número de entradas e do tempo nos braços abertos, sugerindo comportamento ansiogênico. Esse resultado é diferente do que foi observado neste presente trabalho, podendo sugerir haver diferenças entre as espécies na obtenção do resultado no teste ou que a dose não foi o suficiente para evidenciar esse efeito, ou ainda que seria necessária a realização de outros testes para acessar esse tipo de comportamento, como o teste de placa perfurada.

O teste de Inibição Pré-Pulso foi utilizado para analisar o filtro sensório-motor, que está relacionado com a diminuição da resposta reflexa de sobressalto acústico que as espécies de vertebrados têm ao serem submetidos a um estímulo sonoro, chamado de pulso, precedido de um pré-pulso de menor intensidade. Assim, é esperado que ocorra uma diminuição da resposta ao pulso quando se é precedido pelo pré-pulso (MORAN *et al.*, 2016).

Em indivíduos com distúrbios neuropsiquiátricos e de neurodesenvolvimento, como esquizofrenia e transtorno de déficit de atenção e hiperatividade, a inibição pré-pulso está prejudicada. Assim, a resposta ao pulso permanece igual, como se a cada pulso fosse uma nova resposta independente da presença anterior do pré-pulso (MENA *et al.*, 2016). Interessantemente, o filtro sensorio-motor também se relaciona à processos cognitivos ainda não muito claros, mas que envolvem a atenção, percepção e aprendizagem do pré-pulso e modulação da resposta de sobressalto, sendo, portanto, ainda mais relevante o seu estudo (LARRAURI; SCHMAJUK, 2006). Além disso, recente estudo de relato de caso, mostrou que o uso de Omeprazol foi associado ao início de sintomas psicóticos em criança de 12 anos, e que estes sinais foram revertidos após a suspensão do medicamento. Porém, tal estudo, apresenta fatores limitantes, pois a criança avaliada possui parentes próximos com histórico de depressão e transtorno bipolar, além de viver em ambiente conflituoso (VAN DER ZALM; TOBÉ; LOGTENBERG, 2020).

No presente trabalho, o tratamento com Omeprazol não foi capaz de causar prejuízo no filtro sensorio-motor, considerando que não houve diferença significativa no teste de inibição pré-pulso nas três intensidades de pré-pulso (70dB, 75dB e 80dB) seguidas do pulso (120dB). Até onde se saiba, não existem ainda na literatura estudos com o Omeprazol e este teste. Assim, com base apenas nos resultados do presente trabalho, sugere-se que o tratamento com Omeprazol não se associou à quadros de esquizofrenia-símile e também não implicou em prejuízo cognitivo relacionado ao filtro sensorio-motor.

Testes de memória e aprendizado também foram realizados em virtude de recentes estudos não-clínicos e clínicos associarem o uso de Omeprazol e de outros IBPs, especialmente cronicamente, com risco aumentado de desenvolvimento de demência (BADIOLA *et al.*, 2013; HAENISCH *et al.*, 2015; TAI *et al.*, 2017).

A memória se refere à capacidade de reter informações e de reavê-las depois. Esse processo é biofisiológico e fundamental para nossa existência. Pode ser classificada de acordo com a sua duração, como de curto prazo, podendo durar alguns segundos ou minutos, e de longo prazo, durando por semanas, meses ou mesmo a vida toda. Além disso, a memória pode ser classificada como: explícita (declarativa), associada a fatos, eventos e pessoas, ou implícita (não declarativa), associada a hábitos e habilidades que temos e fazemos sem perceber (EICHENBAUM, 2017).

A memória possui diferenças na sua formação e consolidação. Desde a localização do processamento e armazenamento, assim como também nas suas sinalizações e sinapses. Por exemplo, as memórias de curto prazo são associadas a redes de sinalização já existentes, enquanto que as de longo prazo são acompanhadas de mudanças estruturais e funcionais de redes neuronais (KRAEUTER; GUEST; SARNYAI, 2019).

Um dos tipos de memória analisada no presente estudo foi a memória aversiva, que é associada a emoções negativas, e essencial para nossa sobrevivência. As principais regiões cerebrais no processamento dessas informações, são a amígdala e o Núcleo Leito da Estria Terminal (NLET). Danos nessas regiões causam prejuízo em tarefas cognitivas que usam estímulos de medo ou que provoquem ansiedade (GOOSENS, 2011). Além dessas regiões, o hipocampo também tem importância na memória aversiva associada a emoções negativas (BANNERMAN *et al.*, 2004). Estudos mostram que lesões na porção ventral do hipocampo reduz comportamento de aversão em testes que provocam ansiedade, como na interação social e em testes com estímulo de choque nos pés de roedores (KJELSTRUP *et al.*, 2002; PENTKOWSKI *et al.*, 2006)

O teste de Esquiva Passiva é utilizado para acessar a memória aversiva de curto e longo prazo de animais que foram submetidos a um choque ao explorarem o aparato. Diante do resultado encontrado, sugere-se que o Omeprazol não foi capaz de causar prejuízo à memória aversiva de curto e longo prazo nessa dose e duração de tratamento utilizada, ou ainda, que o estímulo não foi o suficiente para gerar uma memória aversiva. Estudos apontam que estímulos fracos podem não ser capazes de provocar forte associação, levando a um aprendizado também fraco (QUINN *et al.*, 2008).

A memória de reconhecimento é relacionada à capacidade de reconhecer objetos como familiares. Essa capacidade depende da integridade do lobo temporal médio (SQUIRE; WIXTED; CLARK, 2007). O reconhecimento de objetos já conhecidos e a tendência natural de explorar objetos novos foi avaliada através do teste de Reconhecimento de Objetos, teste de referência para acessar esse tipo de memória (ANTUNES; BIALA, 2012).

Neste estudo, o tratamento com Omeprazol foi capaz de prejudicar a memória de reconhecimento, pois o grupo tratado com o fármaco teve menor tempo de exploração ao objeto novo. No estudo clínico controlado de Akter *et al.* (2015), com diferentes IBPs (Omeprazol, Lansoprazol, Esomeprazol, Rabeprazol e Pantoprazol), foi analisado o

impacto desses medicamentos em funções cognitivas, entre elas, a memória visual. Os autores verificaram que o tratamento com IBPs, foi capaz de prejudicar o resultado no teste de memória visual. Ali *et al.* (2020) também evidenciaram resultado de prejuízo em um teste diferente para acessar cognição e memória. No estudo, o teste de labirinto aquático de Morris foi utilizado e os ratos tratados com Omeprazol obtiveram como resultado prejuízo cognitivo através da análise do tempo gasto para encontrar a plataforma após o treino.

Em estudos clínicos envolvendo pacientes com a doença de Alzheimer, o prejuízo da memória de reconhecimento é um achado consistente (GOLDSTEIN *et al.*, 2019; SPAAN, 2016). Evidências mostram forte relação entre a formação e acúmulo de placas beta-amiloides em áreas cerebrais importantes para memória, como no córtex pré frontal e hipocampo (KIM *et al.*, 2020).

Estudos experimentais demonstraram que os IBPs foram capazes de interferir negativamente na formação e eliminação de placas beta-amiloides por diferentes mecanismos. Em relação ao processo de formação dessa placas, Badiola e colaboradores (2013), demonstraram que o Lansoprazol atuaria como modulador inverso de uma das enzimas responsáveis pela formação, a γ -secretase, levando ao aumento de geração de A β -42 e diminuindo de A β -38. O fármaco ainda causaria aumento da atividade da β -secretase, levando a aumento na produção de A β -37 e A β -40. A A β -42 se caracteriza por ser mais patológica e a A β -40 mais abundante na fisiopatologia da DA (YOUNKIN, 1998).

Acredita-se que os IBPs possam se ligar a diferentes bombas de prótons, além das localizadas nas células parietais do estômago, mecanismo pelo qual seu efeito farmacológico é exercido. Além disso, também já foi demonstrado que alguns IBPs, como Lansoprazol e Omeprazol, possuem capacidade de atravessar a barreira hematoencefálica (CHENG *et al.*, 2002; ROJO *et al.*, 2010). Nesse contexto, estudos sugerem que os IBPs atuariam diminuindo a eliminação das A β , por se ligarem e bloquearem as bombas de prótons vacuolares, responsáveis por manterem o ambiente ácido nos lisossomos da micróglia que é necessário para degradação dessas placas (FALLAHZADEH *et al.*, 2010; NAMAZI *et al.*, 2008).

Diante disso, o presente trabalho, com tratamento de Omeprazol de longo prazo, traz o resultado de prejuízo na memória de reconhecimento a nível não-clínico que se

pode associar aos achados clínicos. Além dos possíveis mecanismos para se explicar esse fenômeno ainda que de modo abrangente, já que a amiloidogênese é uma das hipóteses da fisiopatologia da DA.

A memória de trabalho se refere a informação temporariamente retida para ser utilizada em uma ação futura ou tarefa, podendo ser transformada em longa duração ou ser esquecida rapidamente. O processamento desse tipo de informação ocorre nas regiões frontoparietais, incluído o córtex pré-frontal, mas também em áreas subcorticais, como cerebelo e mesencéfalo (CHAI; ABD HAMID; ABDULLAH, 2018; RUCHKIN *et al.*, 2003).

O teste do labirinto em Y foi utilizado para avaliação da memória de curto prazo a partir da memória de trabalho. O teste se baseia na curiosidade natural dos animais em explorar lugares anteriormente não visitados, assim, é esperado que o animal ao ser posicionado no aparato, passe a percorrer por diferentes braços do labirinto em alternância. Neste trabalho, o tratamento com Omeprazol foi capaz de melhorar a memória de trabalho dos camundongos, pois o número de acertos foi maior em comparação ao grupo que recebeu o veículo. O impacto dos IBPs na memória e cognição é controverso, há estudos clínicos que apontam para piora no desempenho em testes nos participantes em uso de medicamentos dessa classe, outros já não verificaram impacto e há ainda estudo que traz diminuição do risco de demência.

No estudo clínico de Akter *et al.* (2015), mencionado anteriormente, foi analisado também a memória espacial de trabalho. Nesse teste, foi encontrado aumento no número de erros quando comparado com os resultados dos pacientes antes do tratamento e depois de 7 dias de tratamento com Omeprazol (40mg/dia). Os autores concluem que todos os medicamentos testados tiveram impacto negativo em testes de cognição e memória, sendo o Esomeprazol o que alterou o menor número de testes. Em outro estudo clínico, porém, o tratamento com IBPs em mulheres, com idade entre 25 e 42 anos, não demonstrou impacto sobre a memória de trabalho (LOCHHEAD *et al.*, 2017). No entanto, este último estudo apresenta limitações importantes em comparação com o estudo anterior, pois trata-se de um estudo retrospectivo, observacional não controlado, podendo haver vieses, tendo em vista que as informações dos testes foram retiradas de um grande banco de dados e as informações de medicamentos através de relatos dos pacientes. Já o estudo clínico de Goldstein *et al.* (2017), demonstrou menor risco de declínio cognitivo em indivíduos em uso contínuo e intermitente de IBPs com ajuste para possíveis fatores de confusão. No

entanto, o estudo também conta com limitações, como a informação de uso dos medicamentos a partir de autorrelato dos participantes.

Diante do resultado do presente trabalho, podemos inferir, ainda que de modo geral, que as funções do córtex pré-frontal dos camundongos parecem ter sido preservadas após a administração crônica de Omeprazol, embora tenha sido verificado aumento dos níveis de citocinas pró-inflamatórias nesta área, que será discutido mais adiante.

Evidências têm demonstrado que as citocinas pró-inflamatórias podem modular aspectos cognitivos e de memória, ora apresentando-se interessante para aquisição, consolidação e recuperação, ora prejudicando, a depender do estímulo, duração e níveis (DONZIS; TRONSON, 2014). Dessa forma, sugere-se que o perfil pró-inflamatório evidenciado no córtex pré-frontal nas condições do presente trabalho, pode ter sido favorável para melhora da memória de trabalho, ou ainda a possibilidade do envolvimento de outras áreas relacionadas a memória de trabalho que não foram avaliadas no presente estudo. Além disso, o fármaco pode ter sido capaz de causar alteração em favor de outros fatores envolvidos, como as vias serotoninérgica e colinérgica (GONZÁLEZ-BURGOS; FERIA-VELASCO, 2008).

Os achados comportamentais evidenciados neste estudo apontam para alterações no comportamento tipo depressivo, indicando melhora no tempo de imobilidade e possível atividade antidepressiva que requer mais estudos focados nessa alteração. Já em relação a memória e cognição, foi verificado melhora na memória de trabalho, enquanto que piora na memória de reconhecimento.

Em relação a análise ponderal, foi observado que o Omeprazol foi capaz de reduzir o ganho de peso corporal dos camundongos tratados. Embora ainda não haja consenso sobre a alteração de peso durante a administração de IBPs, o resultado do presente estudo corrobora com o de Cui *et al.* (2001), no qual a administração crônica de Omeprazol (400mmol/kg) por 77 dias em ratos, causou redução do ganho de peso sem alteração no ganho de comprimento corporal, massa gorda e magra. Esse achado também foi evidenciado no estudo de Sands *et al.* (2014) com administração de Omeprazol (15 mg/kg duas vezes ao dia) durante 38 dias em camundongos C57BL/6.

Apesar de ainda não se saber ao certo os mecanismos pelos quais os IBPs levam a esse achado, a redução do ganho de peso durante a administração de IBPs foi associada a alteração na microbiota intestinal no estudo de Shin e colaboradores (2016), após a

administração de Lansoprazol (5 mg/kg/dia) durante 50 semanas em ratos, e no estudo de Sand *et al.* (2014) citado anteriormente. Embora não tenha sido avaliado a alteração da microbiota no presente estudo, foi evidenciado o aumento de IL-1 β no sangue periférico. O estudo experimental de Chaskiel *et al.* (2019) verificou que essa citocina atuaria induzindo perda de apetite e consequente perda de peso em ratos após a administração periférica de IL-1 β e lipopolissacarídeo (LPS).

A perda de apetite e redução de peso corporal são achados relevantes quando se trata de doenças neuropsiquiátricas (AZIZ *et al.*, 2008). Estudos apontam para pior prognóstico quando há redução de apetite/peso em pacientes com comprometimento cognitivo leve e demência (COVA *et al.*, 2016; SAHA *et al.*, 2016). Dessa forma, a partir do resultado do presente estudo junto às evidências mencionadas, sugere-se que durante a administração crônica com Omeprazol, o acompanhamento do peso deve ser considerado, principalmente em pacientes mais idosos e que já apresentem déficit cognitivo.

A partir da análise do peso das áreas cerebrais, foi possível observar que o tratamento com Omeprazol foi capaz de reduzir o peso do hipocampo, sem alterar as demais áreas. Estudos clínicos e experimentais trazem que a redução do volume do hipocampo se relaciona à déficits de memória e cognição (HARDCASTLE *et al.*, 2020; RAHMAN *et al.*, 2016; YIN *et al.*, 2011). Interessantemente, esse achado se correlaciona ao prejuízo da memória de reconhecimento encontrado no presente trabalho, já que esse tipo de memória tem importante envolvimento do hipocampo.

O estudo de Broadbent *et al.* (2010) verificou que lesões nessa área levam a redução de seu volume e subsequente prejuízo a memória de reconhecimento. Embora tenha sido utilizado como parâmetro de análise o peso das áreas cerebrais no presente trabalho, um estudo recente traz correlação entre o resultado do peso e do volume do hipocampo (EU *et al.*, 2021). Dessa forma, sugere-se que o Omeprazol, nas condições do presente trabalho, pode estar envolvido na redução do peso do hipocampo e ao prejuízo da memória de reconhecimento.

O estresse oxidativo se refere aos danos em células e tecidos, causados por uma desregulação entre a produção e acúmulo de radicais livres e os mecanismos de eliminação destes. Os radicais livres são subprodutos do metabolismo do oxigênio e ainda podem ser produzidos por agentes estressores externos, como a luz ultravioleta. Certos

níveis de radicais livres são fisiologicamente tolerados pelo organismo e também tem funções fisiológicas, porém quando há fatores que aumenta a produção ou que diminui a capacidade do corpo em eliminar esses agentes, o estresse oxidativo pode levar a danos em proteínas, lipídeos e ácidos nucléicos (PIZZINO *et al.*, 2017).

Nesse contexto, o cérebro, devido ao alto consumo de oxigênio, alta concentração de ácidos graxos poli-insaturados e de íons ferro, torna-se mais sensível à danos oxidativos (BARBOSA; DE MEDEIROS; AUGUSTO, 2006). Inclusive estudos mostram forte associação entre doenças neuropsiquiátricas e o estresse oxidativo (GANDHI; ABRAMOV, 2012; LIN; BEAL, 2006; SALIM, 2017). Na doença de Alzheimer, os danos oxidativos estão relacionados a perda neuronal e progressão do declínio cognitivo (GELLA; DURANY, 2009). As placas beta-amiloides, importantes na fisiopatologia da doença, têm em sua produção a participação de radicais livres, e que em progressão leva a neurodegeneração (PAUL; EKAMBARAM, 2011).

O óxido nítrico (ON) é uma molécula versátil que pode atuar como neurotransmissor e também como radical livre potencialmente tóxico especialmente em situações de estresse oxidativo (BECKMAN; KOPPENOL, 1996). Neste estudo, o tratamento com Omeprazol aumentou as concentrações de nitrato/nitrito no hipocampo e no córtex pré-frontal.

Um estudo recente identificou que os IBPs estão envolvidos com vias de síntese de L-arginina por meio da alteração no perfil da microbiota intestinal (VICH VILA *et al.*, 2020). A L-arginina é o precursor da síntese de ON a partir da atividade das isoformas de enzimas de síntese de ON (nNO, eNO e iNO), todas encontradas no cérebro, principalmente nNO e eNO (GUIX *et al.*, 2005).

O ON pode desempenhar ações paradoxais, principalmente no SNC (GUIX *et al.*, 2005). Essa característica foi evidenciada no estudo experimental de Ergün; Ergün, (2007), em que foi demonstrado que a L-arginina em doses baixas não causaria alteração no tempo de imobilidade no teste do nado forçado, porém em dose um pouco maior levaria a redução do tempo de imobilidade, já em doses mais altas levaria a efeito depressivo símile, evidenciado pelo aumento no tempo de imobilidade (ERGÜN; ERGÜN, 2007).

A participação do ON em processos cognitivos e de memória é alvo de muitas pesquisas, e pode-se perceber também essa característica dual. Estudos experimentais nos

quais a administração de L-arginina ou de doadores de ON, verificaram aumento na concentração de ON no cérebro, e como resultado obtiveram melhora e piora em diferentes testes para acessar memória e cognição (PAUL; EKAMBARAM, 2011).

Apesar de não ter sido encontrado outros resultados na literatura com dosagem de nitrato/nitrito em áreas cerebrais durante uso de IBPs, o estudo de Almasaudi *et al.* (2016) ao analisar efeitos do mel de Manuka em modelo de úlcera induzida por etanol, foi observado que os animais tratados apenas com Omeprazol (40mg/kg por 7 dias), tiveram aumento na concentração de ON na mucosa gástrica quando comparado ao grupo com úlcera induzida.

A partir do que foi exposto, é possível compreender a versatilidade do ON e como este pode atuar ora levando a alterações positivas, como a melhora do comportamento depressivo e aspectos cognitivos e de memória, ora negativos quando associados a estresse oxidativo. No presente trabalho, foi observado redução do tempo de imobilidade o que indica melhora do comportamento depressivo *símile* e também melhora na memória de trabalho, podendo estes achados estarem associados aos níveis aumentados de ON.

Com base nas considerações anteriores e a partir dos resultados do presente trabalho, especula-se que esse aumento nos níveis de nitrato/nitrito possa estar relacionado às vias de síntese de L-arginina, por alteração da microbiota intestinal pelo Omeprazol, e além disso, com as citocinas pró-inflamatórias, que será discutido mais adiante.

O malondialdeído é um subproduto da peroxidação lipídica que ocorre nas membranas. Ao quantificar esse produto se faz uma correlação com o grau de peroxidação lipídica que está ocorrendo nos tecidos (AYALA; MUÑOZ; ARGÜELLES, 2014). Neste estudo, o tratamento com Omeprazol causou redução na concentração de MDA nas três áreas cerebrais. Este resultado corrobora com outros trabalhos que utilizaram Omeprazol em diferentes modelos animais. A redução nos níveis de MDA foi encontrada em amostras de cérebro em modelo de traumatismo craniano e no tecido cardíaco em modelo de infarto do miocárdio após tratamento com Omeprazol (ÖZAY *et al.*, 2017; PATIL *et al.*, 2019).

Estudos apontam que o aumento dos níveis de MDA se correlacionam com elevação do risco de déficits de memória, incluindo a memória espacial de trabalho, e de depressão (ISLAM *et al.*, 2018; TALAROWSKA *et al.*, 2012). Além disso, substâncias

que são capazes de reverter níveis aumentados de MDA, são associadas a efeitos de melhoria desses aspectos (CHOI *et al.*, 2014; LORIGOOINI *et al.*, 2020).

Tendo em vista que os níveis de MDA são marcadores de peroxidação lipídica, esses resultados, junto com o do presente trabalho, mostram um papel de proteção do Omeprazol em relação a diferentes situações, tecidos e tempos de administração em que há o tratamento com IBPs. Além disso, este efeito pode se relacionar a melhora do comportamento depressivo-símile e da memória de trabalho evidenciada no presente estudo.

Por outro lado, neste trabalho, o tratamento com Omeprazol diminuiu a concentração de glutathiona reduzida. A GSH é uma das principais enzimas que fazem parte das defesas endógenas do corpo contra o estresse oxidativo (PALTA *et al.*, 2014; SIWEK *et al.*, 2013). O estudo experimental de Patil *et al.* (2019) demonstrou não haver diferença significativa nos níveis de GSH após tratamento com Omeprazol em curto tempo de administração de 7 dias. Já no estudo de Chanchal *et al.* (2016), após administração de Omeprazol por 14 dias em ratos, verificou aumento nos níveis de GSH no nervo ciático. Resultado semelhante foi encontrado em modelo agudo de 24h de traumatismo cerebral, onde verificaram que o tratamento com Omeprazol também foi capaz de aumentar a concentração de GSH (ÖZAY *et al.*, 2017).

No entanto, em estudo clínico recente, usuários em uso de Omeprazol por mais de 6 meses apresentaram redução significativa de glutathiona peroxidase no plasma (DRIES *et al.*, 2021). Diante do que foi apresentado somado aos resultados do presente estudo, sugere-se que a administração crônica de Omeprazol, pode ser um fator que impacta diretamente na concentração de GSH, levando a sua diminuição.

Na avaliação do estresse oxidativo, foi verificado que a administração de Omeprazol foi capaz de, por um lado, aumentar os níveis de nitrato/nitrito e diminuir os de MDA, e por outro, diminuir os níveis do importante antioxidante endógeno, a GSH. Com isso, pode-se sugerir um impacto moderado no estresse oxidativo, pois houve resultado positivo em relação a peroxidação lipídica, evidenciada pela redução de MDA.

Os níveis de citocinas pró-inflamatórias no cérebro e no soro são indicadores de inflamação. Esses níveis podem estar aumentados em situações de estresse, infecções e doenças crônicas como, diabetes, e também em doenças neuropsiquiátricas, como depressão (BANKS; KASTIN, 1991; PUGAZHENTHI; QIN; REDDY, 2017). No

presente trabalho, o tratamento com Omeprazol causou aumento nos níveis de IL-1 β no córtex pré-frontal e no soro dos camundongos, já em relação aos níveis de TNF- α , houve aumento apenas no córtex pré-frontal.

Contraditoriamente, na literatura, os trabalhos evidenciam uma atividade potencial anti-inflamatória dos IBPs. No estudo de Chanchal *et al.* (2016) em modelo animal de dor neuropática, os níveis dessas citocinas após tratamento por 14 dias com Omeprazol (50mg/kg/dia) em ratos, foram reduzidos em comparação ao grupo que também sofreu lesão. Patil *et al.* (2019) também demonstraram uma redução nos níveis dessas citocinas em um modelo animal de necrose do músculo cardíaco após tratamento com Omeprazol e Lansoprazol (ambos 50mg/kg/dia) por 7 dias em ratos. Em estudo *in vitro* com administração aguda de IBPs, incluindo o Omeprazol, após tratamento com agonista dos receptores *Toll like* em cultura de monócitos humanos, mostrou redução da concentração de citocinas pró-inflamatórias (BALZA *et al.*, 2016).

Apesar desses estudos evidenciarem potencial atividade anti-inflamatória dos IBPs, o presente estudo foi realizado com um período de administração crônica de 28 dias em camundongos saudáveis, podendo sugerir que o uso prolongado pode trazer consequências no aumento de citocinas pró-inflamatórias em áreas cerebrais e no soro.

É possível especular que esse achado possa estar relacionado à alteração da microbiota e ao aumento da permeabilidade intestinal causados pelo uso crônico de IBPs. Foi verificado que os IBPs estão entre as classes de medicamentos comuns que mais alteram a composição e diversidade da microbiota intestinal, sendo capazes de causar alterações superiores aos antibióticos (IMHANN *et al.*, 2016; VICH VILA *et al.*, 2020). Além disso, estudos trazem que entre as alterações estaria o aumento de espécies dos gêneros *Streptococcus*, *Staphylococcus* e *Escherichia*, sendo, portanto, consideradas mais pró-inflamatórias (FREEDBERG *et al.*, 2015; IMHANN *et al.*, 2016; STERBINI *et al.*, 2016). O impacto dos IBPs na permeabilidade intestinal ainda conta com poucos estudos, mas já apontam para essa possibilidade (MULLIN *et al.*, 2008; TAKASHIMA *et al.*, 2020). Takashima e colaboradores. (2020) verificaram o aumento da permeabilidade intestinal após tratamento com Rabeprazol (40mg/kg) durante 7 dias. Nesse sentido, o estudo do eixo cérebro-intestino tem conquistado espaço no meio científico e está cada vez mais claro que as alterações a nível de microbiota intestinal podem se relacionar às alterações a nível central (GENEROSO *et al.*, 2020).

No presente trabalho, foi evidenciado níveis aumentados de nitrato/nitrito e de citocinas nas áreas cerebrais, podendo estes estarem relacionados. A micróglia tem fundamental importância nas respostas inflamatórias no SNC, além disso também já bem estabelecido que há ativação microglial frente ao estímulo inflamatório de IL1- β e do TNF- α e que essa ativação da micróglia pode levar a síntese de NO (ZIELASEK; HARTUNG, 1996).

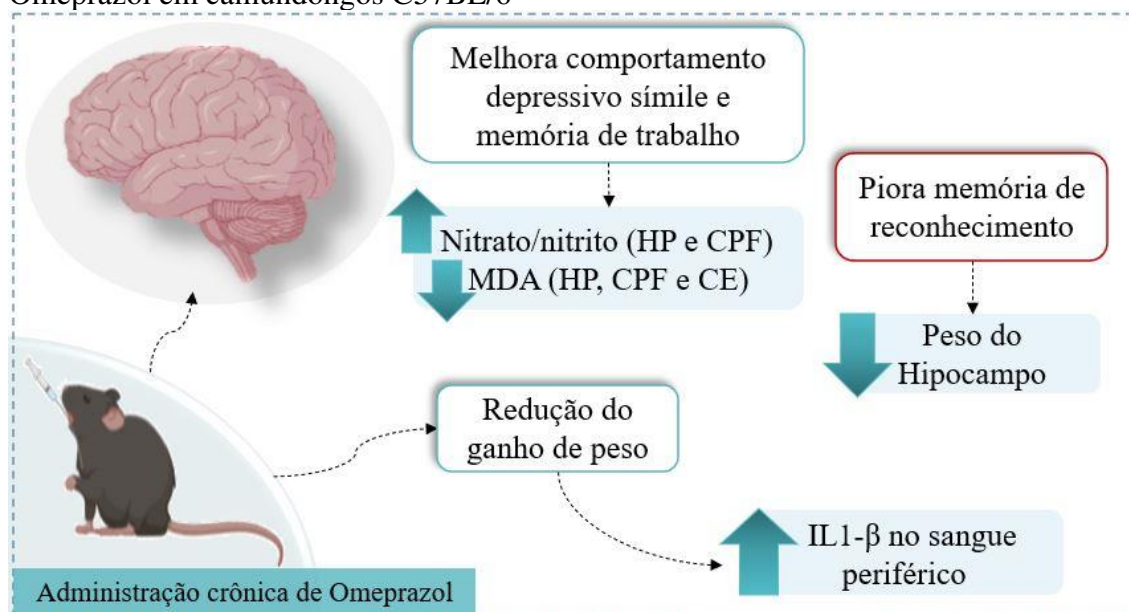
Em suma, relacionando os efeitos comportamentais às alterações neuroquímicas, pode-se sugerir que os níveis aumentados de nitrato/nitrito e diminuição dos níveis de MDA podem se associar a melhora do comportamento depressivo símile e da memória de trabalho, apesar dos níveis de citocinas aumentados nas áreas do hipocampo e córtex pré-frontal. Já o prejuízo da memória de reconhecimento parece estar mais envolvido com a redução do peso do hipocampo, enquanto a redução do ganho de peso corporal, nos camundongos tratados com Omeprazol, pode ter relação com os níveis de IL- β no sangue periférico.

7 CONCLUSÃO

A administração crônica de Omeprazol em camundongos adultos foi capaz de causar alterações comportamentais e neuroquímicas, listadas em detalhes abaixo e apresentadas em resumo na Figura 12.

- Diminuiu a atividade exploratória sem interferir no desempenho motor, evidenciado pelos testes de campo aberto e rotarod, respectivamente;
- Causou efeito antidepressivo-símile demonstrado pela redução do tempo de imobilidade, no teste de nado forçado;
- Não induziu efeito ansiogênico, detectado através do teste do labirinto em cruz elevado;
- Não levou a prejuízo do filtro sensorio motor pela avaliação do teste de inibição pré-pulso;
- Não causou alteração na memória aversiva avaliada pelo teste de esquiva passiva;
- Induziu melhora na memória de trabalho, evidenciada no teste de labirinto em Y;
- Induziu piora na memória de reconhecimento, evidenciada pelo teste de reconhecimento de objetos;
- Causou redução do ganho de peso corporal e diminuição do peso do hipocampo.
- Aumentou os níveis de nitrato/nitrito e diminuiu os níveis de GSH e MDA em todas as áreas analisadas;
- Aumentou parâmetros de inflamação observado pelo aumento de IL- β no córtex pré-frontal e soro, e TNF- α no córtex pré-frontal.

Figura 12 – Figura esquemática do resumo dos efeitos da administração crônica de Omeprazol em camundongos C57BL/6



Legenda: Efeitos do Omeprazol após administração crônica de 28 dias via oral por gavagem em camundongos C57BL/6. Abreviações: HP: Hipocampo; CPF: Córtex Pré-Frontal; CE: Corpo Estriado; MDA: Malondialdeído; IL1- β : Interleucina-1 β .

8 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com os resultados deste trabalho, pôde-se demonstrar que a administração crônica de Omeprazol em camundongos, em dose comparada a utilizada na clínica, foi capaz de causar alterações a nível de comportamento, inflamação e estresse oxidativo. O uso prolongado e indiscriminado ainda se configura como risco potencial à saúde, ainda que com alguns resultados promissores em relação a melhora do comportamento depressivo similar e da memória de trabalho que merecem ser melhor investigados.

Este estudo traz resultados inéditos, principalmente em relação aos testes comportamentais, nos quais foi verificado melhora do comportamento depressivo similar e memória de trabalho, podendo estas estarem relacionadas aos resultados neuroquímicos de aumento dos níveis de nitrato/nitrito e de redução dos níveis de MDA. Adicionalmente foi observado prejuízo na memória de reconhecimento que pode estar relacionado com a diminuição do peso hipocampal. Ainda foi possível observar redução do ganho de peso dos animais, e possível relação com o aumento de citocina pró-inflamatória no sangue periférico e o papel da alteração da microbiota evidenciada em outros estudos.

Portanto, este trabalho contribuiu com a investigação dos efeitos centrais desse medicamento e reforça a necessidade de mais estudos para compreender os mecanismos pelos quais o fármaco atua diretamente e/ou indiretamente no SNC, como por exemplo, através de seu impacto na microbiota intestinal, sendo, portanto, relevante a investigação desse aspecto em estudos futuros. Além disso, reitera a importância de esclarecer e incentivar o uso racional dos IBPs pela população e dar suporte intelectual aos demais pesquisadores da área e aos profissionais de saúde em sua prática clínica.

REFERÊNCIAS

ABRAHAM, N. S. **Proton pump inhibitors: Potential adverse effects***Current Opinion in Gastroenterology*Curr Opin Gastroenterol, , nov. 2012. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23010681/>>. Acesso em: 5 abr. 2021

AGUILERA-CASTRO, L.; MARTÍN-DE-ARGILA-DEPRADOS, C.; ALBILLOS-MARTÍNEZ, A. **Practical considerations in the management of proton-pump inhibitors***Revista española de enfermedades digestivas : organo oficial de la Sociedad Española de Patología Digestiva*Rev Esp Enferm Dig, , 1 mar. 2016. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26666270/>>. Acesso em: 18 jun. 2021

AKTER, S. et al. Cognitive impact after short-term exposure to different proton pump inhibitors: Assessment using CANTAB software. **Alzheimer's Research and Therapy**, v. 7, n. 1, p. 1–12, 2015.

ALI, S. B. et al. Elevated anxiety, hypoactivity, memory deficits, decreases of brain serotonin and 5-HT-1A receptors expression in rats treated with omeprazole. **Toxicological Research**, n. 0123456789, 2020.

ALMASAUDI, S. B. et al. Antioxidant, anti-inflammatory, and antiulcer potential of manuka honey against gastric ulcer in rats. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2016, 2016.

ANSARI, M. A.; SCHEFF, S. W. Oxidative stress in the progression of alzheimer disease in the frontal cortex. **Journal of Neuropathology and Experimental Neurology**, v. 69, n. 2, p. 155–167, fev. 2010.

ANTUNES, M.; BIALA, G. **The novel object recognition memory: Neurobiology, test procedure, and its modifications***Cognitive Processing*, 2012.

ARCHER, J. **Tests for emotionality in rats and mice: A review***Animal Behaviour*Anim Behav, , 1973. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/4578750/>>. Acesso em: 16 jun. 2021

ARCHER, S. Measurement of nitric oxide in biological models. **The FASEB Journal**, v. 7, n. 2, p. 349–360, fev. 1993.

AYALA, A.; MUÑOZ, M. F.; ARGÜELLES, S. **Lipid peroxidation: Production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal***Oxidative Medicine and Cellular Longevity*Landes Bioscience, , 2014. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24066722/>>. Acesso em: 11 abr. 2021

AZIZ, N. A. et al. Weight loss in neurodegenerative disorders. **Journal of Neurology**, v. 255, n. 12, p. 1872–1880, dez. 2008.

BADIOLA, N. et al. The Proton-Pump Inhibitor Lansoprazole Enhances Amyloid Beta Production. **PLoS ONE**, v. 8, n. 3, p. 58837, 2013.

BALZA, E. et al. Proton pump inhibitors protect mice from acute systemic

inflammation and induce long-term cross-tolerance. **Cell Death and Disease**, v. 7, 2016.

BANKS, W. A.; KASTIN, A. J. Blood to brain transport of interleukin links the immune and central nervous systems. **Life Sciences**, v. 48, n. 25, 1991.

BANNERMAN, D. M. et al. **Regional dissociations within the hippocampus - Memory and anxiety** *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* Pergamon, , 1 maio 2004.

BARBOSA, L. F.; DE MEDEIROS, M. H. G.; AUGUSTO, O. Danos oxidativos e neurodegeneração: O que aprendemos com animais transgênicos e nocautes? **Quimica Nova**, v. 29, n. 6, p. 1352–1360, 2006.

BECKMAN, J. S.; KOPPENOL, W. H. **Nitric oxide, superoxide, and peroxynitrite: The good, the bad, and the ugly** *American Journal of Physiology - Cell Physiology* American Physiological Society, , 1996. Disponível em: <<https://journals.physiology.org/doi/abs/10.1152/ajpcell.1996.271.5.C1424>>. Acesso em: 28 abr. 2021

BETARI, N. et al. Inhibition of Tryptophan Hydroxylases and Monoamine Oxidase-A by the Proton Pump Inhibitor, Omeprazole-In Vitro and In Vivo Investigations. v. 11, 2020.

BETTERIDGE, D. J. **What is oxidative stress?** *Metabolism: Clinical and Experimental*. **Anais...**2000

BROADBENT, N. J. et al. Object recognition memory and the rodent hippocampus. **Learning and Memory**, v. 17, n. 1, p. 794–800, 2010.

BUBLITZ, M. et al. In and out of the cation pumps: P-Type ATPase structure revisited. **Current Opinion in Structural Biology**, v. 20, n. 4, p. 431–439, 2010.

BURKE, R. E.; GREENBAUM, D. Effect of Postmortem Factors on Muscarinic Receptor Subtypes in Rat Brain. **Journal of Neurochemistry**, v. 49, n. 2, p. 592–596, 1 ago. 1987.

CHAI, W. J.; ABD HAMID, A. I.; ABDULLAH, J. M. **Working memory from the psychological and neurosciences perspectives: A review** *Frontiers in Psychology* Frontiers Media S.A., , 27 mar. 2018. Disponível em: <www.frontiersin.org>. Acesso em: 14 jun. 2021

CHANCHAL, S. K. et al. In vivo and in vitro protective effects of omeprazole against neuropathic pain. **Scientific Reports**, v. 6, p. 1–10, 2016.

CHASKIEL, L. et al. Interleukin-1 reduces food intake and body weight in rat by acting in the arcuate hypothalamus. **Brain, Behavior, and Immunity**, v. 81, p. 560–573, 1 out. 2019.

CHATTERJEE, S.; TALWAR, A.; APARASU, R. R. **Anticholinergic medications**

and risk of dementia in older adults: Where are we now? Expert Opinion on Drug Safety Taylor and Francis Ltd., 2 out. 2020. Disponível em:

<<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32797761/>>. Acesso em: 22 mar. 2021

CHENG, F. C. et al. **Determination and pharmacokinetic profile of omeprazole in rat blood, brain and bile by microdialysis and high-performance liquid chromatography** *Journal of Chromatography A*. [s.l.: s.n.]. Disponível em: <www.elsevier.com/locate/chroma>.

CHENG, F. C. et al. Determination and pharmacokinetic profile of omeprazole in rat blood, brain and bile by microdialysis and high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, v. 949, n. 1–2, p. 35–42, 8 mar. 2002b.

CHOI-SLEDESKI, Y. M.; WERMUTH, C. G. Designing Prodrugs and Bioprecursors. In: **The Practice of Medicinal Chemistry: Fourth Edition**. [s.l.] Elsevier Inc., 2015. p. 657–696.

CHOI, Y. Y. et al. Oligonol improves memory and cognition under an amyloid β 25-35-induced Alzheimer's mouse model. *Nutrition Research*, v. 34, p. 595–603, 2014.

COVA, I. et al. Weight loss predicts progression of mild cognitive impairment to Alzheimer's disease. *PLoS ONE*, v. 11, n. 3, 1 mar. 2016.

CUI, G. L. et al. Long-term omeprazole treatment suppresses body weight gain and bone mineralization in young male rats. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, v. 36, n. 10, p. 1011–1015, 2001.

DA COSTA, R. O. et al. The Treadmill Exercise Protects against Dopaminergic Neuron Loss and Brain Oxidative Stress in Parkinsonian Rats. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, v. 2017, 2017.

DAHL, J. et al. The plasma levels of various cytokines are increased during ongoing depression and are reduced to normal levels after recovery. *Psychoneuroendocrinology*, v. 45, p. 77–86, 2014.

DALL'IGNA, O. P. et al. Caffeine and adenosine A2a receptor antagonists prevent β -amyloid (25-35)-induced cognitive deficits in mice. *Experimental Neurology*, v. 203, n. 1, p. 241–245, 1 jan. 2007.

DATAFOLHA. Folha de São Paulo. Conselho Federal de Farmácia (CFF). Maioria no país se automedica até quando tem receita médica, 2019 Disponível em: <<http://www.cff.org.br/userfiles/file/folha%2001.jpg>>. Acesso em: 10 junho 2021.

DINIZ, B. S. et al. Interleukin-1 β serum levels is increased in antidepressant-free elderly depressed patients. *American Journal of Geriatric Psychiatry*, v. 18, n. 2, p. 172–176, 2010.

DISABATO, D. J.; QUAN, N.; GODBOUT, J. P. Neuroinflammation: the devil is in the details. *Journal of Neurochemistry*, v. 139, n. Suppl 2, p. 136–153, 1 out. 2016.

DONZIS, E. J.; TRONSON, N. C. **Modulation of learning and memory by cytokines: Signaling mechanisms and long term consequences** *Neurobiology of Learning and Memory* Academic Press Inc., , 1 nov. 2014. Disponível em: </pmc/articles/PMC4250287/>. Acesso em: 20 jun. 2021

DOWLATI, Y. et al. A Meta-Analysis of Cytokines in Major Depression. **Biological Psychiatry**, v. 67, n. 5, p. 446–457, 1 mar. 2010.

DRIEL, I. R.; CALLAGHAN, J. M. PROTON AND POTASSIUM TRANSPORT BY H^+ / K^+ -ATPases. **Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology**, v. 22, n. 12, p. 952–960, 1 dez. 1995.

DRIES, L. S. et al. Cognition, oxidative stress and vitamin B12 levels evaluation on patients under long-term omeprazole use. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, 22 fev. 2021.

DUTTA, S.; SENGUPTA, P. **Men and mice: Relating their ages** *Life Sciences* Elsevier Inc., , 1 maio 2016.

EICHENBAUM, H. Memory: Organization and Control. **Annual Review of Psychology**, v. 68, p. 19–45, 2017.

ENNACEUR, A.; DELACOUR, J. A new one-trial test for neurobiological studies of memory in rats. 1: Behavioral data. **Behavioural Brain Research**, v. 31, n. 1, p. 47–59, 1 nov. 1988.

ERGÜN, Y.; ERGÜN, U. G. Ö. Prevention of pro-depressant effect of l-arginine in the forced swim test by NG-nitro-l-arginine and [1H-[1,2,4]Oxadiazole[4,3-a]quinoxalin-1-one]. **European Journal of Pharmacology**, v. 554, n. 2–3, p. 150–154, 12 jan. 2007.

EU, W. Z. et al. The effect of nerve growth factor on supporting spatial memory depends upon hippocampal cholinergic innervation. **Translational Psychiatry**, v. 11, n. 1, p. 162, 1 jun. 2021.

EUSEBI, L. H. et al. Proton pump inhibitors: Risks of long-term use. **Journal of Gastroenterology and Hepatology (Australia)**, v. 32, n. 7, p. 1295–1302, 2017.

FALLAHZADEH, M. K.; BORHANI HAGHIGHI, A.; NAMAZI, M. R. **Proton pump inhibitors: Predisposers to Alzheimer disease?** *Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics*, 2010.

FEIGIN, V. L. et al. Global, regional, and national burden of neurological disorders, 1990–2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. **The Lancet Neurology**, v. 18, n. 5, p. 459–480, 1 maio 2019.

FELIPE PEREIRA, V. et al. Brazilian Journal of Development Self-medication in Brazil's public health: The importance of pharmaceutical performance in the multiprofessional team and as an advisor in the rational use of medications / A automedicação na saúde pública do Brasil: Importância da atuação do farmacêutico na equipe multiprofissional e como orientador no uso racional de medicamentos *Brazilian*

Journal of Development. **J. of Develop**, v. 6, n. 8, p. 59182–59196, 19 ago. 2020.

FLORA FILHO, R.; ZILBERSTEIN, B. **Nitric oxide: the simple messenger passing through complexity. Metabolism, synthesis and functions** *Revista da Associação Médica Brasileira* (1992) Associação Médica Brasileira, , 2000. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0104-42302000000300012&lng=en&nrm=iso&tlng=pt>. Acesso em: 11 abr. 2021

FORGACS, I.; LOGANAYAGAM, A. **Overprescribing proton pump inhibitors** *BMJ*, , 5 jan. 2008. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18174564/>>. Acesso em: 24 abr. 2021

FREEDBERG, D. E. et al. Proton Pump Inhibitors Alter Specific Taxa in the Human Gastrointestinal Microbiome: A Crossover Trial. **Gastroenterology**, v. 149, n. 4, p. 883- 885.e9, 2015.

GANDHI, S.; ABRAMOV, A. Y. **Mechanism of oxidative stress in neurodegeneration** *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* Hindawi Limited, , 2012.

GELLA, A.; DURANY, N. **Oxidative stress in Alzheimer disease** *Cell Adhesion and Migration* Taylor and Francis Inc., , 2009. Disponível em: <</pmc/articles/PMC2675154/>>. Acesso em: 7 abr. 2021

GENEROSO, J. S. et al. The role of the microbiota-gut-brain axis in neuropsychiatric disorders. **Brazilian Journal of Psychiatry**, v. 00, n. 00, p. 1–13, 2020.

GHEBREMARIAM, Y. T. et al. **Proton pump inhibitors and vascular function: A prospective cross-over pilot study.** *Vascular Medicine (United Kingdom)*. *Anais...*2015

GOLDSTEIN, F. C. et al. Proton Pump Inhibitors and Risk of Mild Cognitive Impairment and Dementia. **Journal of the American Geriatrics Society**, v. 65, n. 9, p. 1969–1974, 1 set. 2017.

GOLDSTEIN, F. C. et al. Recognition Memory Performance as a Cognitive Marker of Prodromal Alzheimer’s Disease. **Journal of Alzheimer’s disease : JAD**, v. 72, n. 2, p. 507–514, 2019.

GÓMEZ-NIETO, R.; HORMIGO, S.; LÓPEZ, D. E. **Prepulse inhibition of the auditory startle reflex assessment as a hallmark of brainstem sensorimotor gating mechanisms** *Brain Sciences* MDPI AG, , 1 set. 2020. Disponível em: <</pmc/articles/PMC7563436/>>. Acesso em: 18 jun. 2021

GOMM, W. et al. Association of proton pump inhibitors with risk of dementia: A pharmacoepidemiological claims data analysis. **JAMA Neurology**, v. 73, n. 4, p. 410–416, 2016.

GONZÁLEZ-BURGOS, I.; FERIA-VELASCO, A. **Serotonin/dopamine interaction in memory formation** *Progress in Brain Research* Prog Brain Res, , 2008. Disponível

em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18772052/>>. Acesso em: 14 jun. 2021

GOOSENS, K. A. **Hippocampal regulation of aversive memories***Current Opinion in Neurobiology*, 2011.

GORLOVA, A. et al. Alteration of oxidative stress markers and behavior of rats in a novel model of depression. *Acta Neurobiologiae Experimentalis*, v. 79, n. 3, p. 232–237, 2019.

GRAY, S. L. et al. Proton Pump Inhibitor Use and Dementia Risk: Prospective Population-Based Study. *Journal of the American Geriatrics Society*, v. 66, n. 2, p. 247–253, 2018.

GREEN, L. C. et al. Nitrate biosynthesis in man. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, v. 78, n. 12 II, p. 7764–7768, 1981.

GUIX, F. X. et al. **The physiology and pathophysiology of nitric oxide in the brain***Progress in Neurobiology* Pergamon, , 1 jun. 2005.

HAENISCH, B. et al. Risk of dementia in elderly patients with the use of proton pump inhibitors. *European Archives of Psychiatry and Clinical Neuroscience*, v. 265, n. 5, p. 419–428, 2015.

HARDCASTLE, C. et al. Contributions of Hippocampal Volume to Cognition in Healthy Older Adults. *Frontiers in Aging Neuroscience*, v. 12, p. 593833, 5 nov. 2020.

HELGADOTTIR, H.; BJORNSSON, E. S. **Problems associated with deprescribing of proton pump inhibitors***International Journal of Molecular Sciences*, 2019. Disponível em: <www.mdpi.com/journal/ijms>

HENINGER, G. R.; DELGADO, P. L.; CHARNEY, D. S. **The revised monoamine theory of depression: A modulatory role for monoamines, based on new findings from monoamine depletion experiments in humans***Pharmacopsychiatry* Georg Thieme Verlag, , 1996.

HIPÓLITO, P.; ROCHA, B. S. DA; OLIVEIRA, F. J. A. Q. DE. Perfil de usuários com prescrição de omeprazol em uma Unidade Básica de Saúde do Sul do Brasil: considerações sobre seu uso racional. *Revista Brasileira de Medicina de Família e Comunidade*, v. 11, n. 38, p. 1–10, 2016.

HOFFMAN, H. S.; SEARLE, J. L. Acoustic and Temporal Factors in the Evocation of Startle. *The Journal of the Acoustical Society of America*, v. 43, n. 2, p. 269–282, fev. 1968.

HOU, Y. et al. **Ageing as a risk factor for neurodegenerative disease***Nature Reviews Neurology* Nature Publishing Group, , 1 out. 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1038/>>. Acesso em: 2 maio. 2021

HOWREN, M. B.; LAMKIN, D. M.; SULS, J. Associations of depression with c-

reactive protein, IL-1, and IL-6: A meta-analysis. **Psychosomatic Medicine**, v. 71, n. 2, p. 171–186, 2009.

HUANG, J. Q.; HUNT, R. H. Pharmacological and pharmacodynamic essentials of H₂-receptor antagonists and proton pump inhibitors for the practising physician. **Best Practice and Research: Clinical Gastroenterology**, v. 15, n. 3, p. 355–370, 2001.

HUANG, W. S. et al. Use of Proton Pump Inhibitors and Risk of Major Depressive Disorder: A Nationwide Population-Based Study. **Psychotherapy and Psychosomatics**, v. 87, n. 1, p. 62–64, 2018.

IMHANN, F. et al. Proton pump inhibitors affect the gut microbiome. **Gut**, v. 65, n. 5, p. 740–748, 2016.

ISLAM, M. R. et al. Elevated serum levels of malondialdehyde and cortisol are associated with major depressive disorder: A case-control study. **SAGE Open Medicine**, v. 6, p. 205031211877395, 1 jan. 2018.

ITO, T.; JENSEN, R. T. **Association of long-term proton pump inhibitor therapy with bone fractures and effects on absorption of calcium, vitamin B12, iron, and magnesium** *Current Gastroenterology Reports* *Curr Gastroenterol Rep*, , dez. 2010. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20882439/>>. Acesso em: 21 abr. 2021

JAISSER, F. et al. Mechanisms of urinary K⁺ and H⁺ excretion: Primary structure and functional expression of a novel H, K-ATPase. **Journal of Cell Biology**, v. 123, n. 6 I, p. 1421–1429, 1993.

JANERO, D. R. **Malondialdehyde and thiobarbituric acid-reactivity as diagnostic indices of lipid peroxidation and peroxidative tissue injury** *Free Radical Biology and Medicine* Pergamon, , 1 jan. 1990.

JIANG, T.; SUN, Q.; CHEN, S. **Oxidative stress: A major pathogenesis and potential therapeutic target of antioxidative agents in Parkinson's disease and Alzheimer's disease** *Progress in Neurobiology* Elsevier Ltd, , 1 dez. 2016.

JOHNSON, D. A. et al. The Safety of Appropriate Use of Over-the-Counter Proton Pump Inhibitors: An Evidence-Based Review and Delphi Consensus. **Drugs**, v. 77, n. 5, p. 547–561, 2017.

KAMEYAMA, T.; NABESHIMA, T.; KOZAWA, T. Step-down-type passive avoidance- and escape-learning method. Suitability for experimental amnesia models. **Journal of Pharmacological Methods**, v. 16, n. 1, p. 39–52, 1986.

KELLER, J. et al. HPA axis in major depression: Cortisol, clinical symptomatology and genetic variation predict cognition. **Molecular Psychiatry**, v. 22, n. 4, p. 527–536, 1 abr. 2017.

KELLY, O. B. et al. The Inappropriate Prescription of Oral Proton Pump Inhibitors in the Hospital Setting: A Prospective Cross-Sectional Study. **Digestive Diseases and**

Sciences, v. 60, n. 8, p. 2280–2286, 2015.

KIM, D. H. et al. Recognition memory impairments and amyloid-beta deposition of the retrosplenial cortex at the early stage of 5XFAD mice. **Physiology and Behavior**, v. 222, p. 112891, 1 ago. 2020.

KINKEAD, B. et al. Algorithmically designed peptides ameliorate behavioral defects in animal model of ADHD by an allosteric mechanism. **Journal of Neuroscience Methods**, v. 151, n. 1, p. 68–81, 15 fev. 2006.

KJELSTRUP, K. G. et al. **Reduced fear expression after lesions of the ventral hippocampus** **PNAS August**. [s.l.: s.n.]. Disponível em: <www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.152112399>.

KRAEUTER, A. K.; GUEST, P. C.; SARNYAI, Z. The Y-Maze for Assessment of Spatial Working and Reference Memory in Mice. In: **Methods in Molecular Biology**. [s.l.] Humana Press Inc., 2019. v. 1916p. 105–111.

KULAK, A. et al. **Redox dysregulation in the pathophysiology of schizophrenia and bipolar disorder: Insights from animal models** **Antioxidants and Redox Signaling** **Antioxid Redox Signal**, , 20 abr. 2013. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22938092/>>. Acesso em: 28 abr. 2021

KUMAR, R. et al. Proton pump inhibitors act with unprecedented potencies as inhibitors of the acetylcholine biosynthesizing enzyme—A plausible missing link for their association with incidence of dementia. **Alzheimer's and Dementia**, 2020.

LAM, J. R. et al. Proton pump inhibitor and histamine 2 receptor antagonist use and vitamin B12 deficiency. **JAMA - Journal of the American Medical Association**, v. 310, n. 22, p. 2435–2442, 11 dez. 2013.

LARRAURI, J.; SCHMAJUK, N. **Prepulse inhibition mechanisms and cognitive processes: a review and model**. **EXS**, 2006.

LAUDISIO, A. et al. Use of proton-pump inhibitors is associated with depression: A population-based study. **International Psychogeriatrics**, v. 30, n. 1, p. 153–159, 2018.

LEE, C. H.; GIULIANI, F. **The Role of Inflammation in Depression and Fatigue** **Frontiers in immunology** **NLM (Medline)**, , 2019. Disponível em: <[pmc/articles/PMC6658985/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35888855/)>. Acesso em: 18 jun. 2021

LIN, M. T.; BEAL, M. F. **Mitochondrial dysfunction and oxidative stress in neurodegenerative diseases** **Nature**, 19 out. 2006.

LINDQVIST, D. et al. Oxidative stress, inflammation and treatment response in major depression. **Psychoneuroendocrinology**, v. 76, p. 197–205, 1 fev. 2017.

LISTER, R. G. The use of a plus-maze to measure anxiety in the mouse. **Psychopharmacology**, v. 92, n. 2, p. 180–185, jun. 1987.

LOCHHEAD, P. et al. Association Between Proton Pump Inhibitor Use and Cognitive

Function in Women. **Gastroenterology**, v. 153, n. 4, p. 971- 979.e4, 2017.

LORIGOOINI, Z. et al. Trigonelline through the Attenuation of Oxidative Stress Exerts Antidepressant- and Anxiolytic-Like Effects in a Mouse Model of Maternal Separation Stress. **Pharmacology**, v. 105, n. 5–6, p. 289–299, 1 maio 2020.

MADORE, C. et al. **Microglia, Lifestyle Stress, and NeurodegenerationImmunity**Cell Press, , 18 fev. 2020. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31924476/>>. Acesso em: 22 mar. 2021

MARCUARD, S. P.; ALBERNAZ, L.; KHAZANIE, P. G. Omeprazole therapy causes malabsorption of cyanocobalamin (vitamin B12). **Annals of Internal Medicine**, v. 120, n. 3, p. 211–215, 1994.

MAURICE, T.; LOCKHART, B. P.; PRIVAT, A. **Amnesia induced in mice by centrally administered 13-amyloid peptides involves cholinergic dysfunctionBrain Research**. [s.l: s.n.].

MCDONALD, E. G. et al. Continuous Proton Pump Inhibitor Therapy and the Associated Risk of Recurrent Clostridium difficile Infection. **JAMA Intern Med**, v. 175, n. 5, p. 784–791, 2015.

MENA, A. et al. Reduced Prepulse Inhibition as a Biomarker of Schizophrenia. **Front. Behav. Neurosci**, v. 10, p. 202, 2016.

MÉNARD, C.; HODES, G. E.; RUSSO, S. J. **Pathogenesis of depression: Insights from human and rodent studiesNeuroscience**Elsevier Ltd, , 2016. Disponível em: <</pmc/articles/PMC4664582/>>. Acesso em: 9 maio. 2021

MODYANOV, N. N. et al. The family of human Na,K-ATPase genes ATP1AL1 gene is transcriptionally competent and probably encodes the related ion transport ATPase. **FEBS Letters**, v. 278, n. 1, p. 91–94, 14 jan. 1991.

MORAN, L. M. et al. The role of sensory modality in prepulse inhibition: An ontogenetic study. **Developmental Psychobiology**, v. 58, n. 2, p. 211–222, 2016.

MULLIN, J. M. et al. Esomeprazole induces upper gastrointestinal tract transmucosal permeability increase. **Alimentary Pharmacology and Therapeutics**, v. 28, n. 11–12, p. 1317–1325, dez. 2008.

MUMTAZ, F. et al. **Neurobiology and consequences of social isolation stress in animal model—A comprehensive reviewBiomedicine and Pharmacotherapy**Elsevier Masson SAS, , 1 set. 2018.

NAMAZI, M. R.; JOWKAR, F.; MA, M. **A succinct review of the general and immunological pharmacologic effects of proton pump inhibitorsJournal of Clinical Pharmacy and Therapeutics**. [s.l: s.n.].

NG, A. et al. IL-1 β , IL-6, TNF- α and CRP in Elderly Patients with Depression or Alzheimer's disease: Systematic Review and Meta-Analysis. **Scientific Reports**, v. 8, n. 1, p. 12050, 1 dez. 2018.

NOVOTNY, M.; KLIMOVA, B.; VALIS, M. PPI long term use: Risk of neurological adverse events? **Frontiers in Neurology**, v. 10, n. JAN, 2019.

OLBE, L.; CARLSSON, E.; LINDBERG, P. **A proton-pump inhibitor expedition: The case histories of omeprazole and esomeprazole** *Nature Reviews Drug Discovery* Nat Rev Drug Discov, , fev. 2003. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12563304/>>. Acesso em: 17 jun. 2021

ORTIZ-GUERRERO, G. et al. **Proton pump inhibitors and dementia: Physiopathological mechanisms and clinical consequences** *Neural Plasticity*, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1155/2018/5257285>>

ÖZAY, R. et al. The Protective Effect of Omeprazole Against Traumatic Brain Injury: An Experimental Study. **World Neurosurgery**, v. 104, p. 634–643, 1 ago. 2017.

PALTA, P. et al. Depression and oxidative stress: Results from a meta-analysis of observational studies. **Psychosomatic Medicine**, v. 76, n. 1, p. 12–19, 2014.

PATEL, M. Targeting oxidative stress in central nervous system disorders HHS Public Access. **Trends Pharmacol Sci**, v. 37, n. 9, p. 768–778, 2016.

PATIL, A. S. et al. **Protective effect of omeprazole and lansoprazole on β -receptor stimulated myocardial infarction in Wistar rats** *Molecular and Cellular Biochemistry*, 2019.

PATTERSON BURDSALL, D. et al. Use of proton pump inhibitors with lack of diagnostic indications in 22 Midwestern US skilled nursing facilities. **Journal of the American Medical Directors Association**, v. 14, n. 6, p. 429–432, 2013.

PAUL, V.; EKAMBARAM, P. **Involvement of nitric oxide in learning & memory processes** *Indian Journal of Medical Research* Wolters Kluwer -- Medknow Publications, , maio 2011. Disponível em: <</pmc/articles/PMC3121276/>>. Acesso em: 28 maio. 2021

PENTKOWSKI, N. S. et al. Effects of lesions to the dorsal and ventral hippocampus on defensive behaviors in rats. **European Journal of Neuroscience**, v. 23, n. 8, p. 2185–2196, abr. 2006.

PETZER, A.; PIENAAR, A.; PETZER, J. P. The inhibition of monoamine oxidase by esomeprazole. **Drug Research**, v. 63, n. 9, p. 462–467, 2013.

PIZZINO, G. et al. **Oxidative Stress: Harms and Benefits for Human Health** *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* Hindawi Limited, , 2017. Disponível em: <</pmc/articles/PMC5551541/>>. Acesso em: 11 abr. 2021

PORSOLT, R. D. et al. Behavioural despair in rats: A new model sensitive to antidepressant treatments. **European Journal of Pharmacology**, v. 47, n. 4, p. 379–391, 15 fev. 1978.

PRUT, L.; BELZUNG, C. **The open field as a paradigm to measure the effects of drugs on anxiety-like behaviors: A review** *European Journal of Pharmacology* Elsevier, , 28 fev. 2003.

PUGAZHENTHI, S.; QIN, L.; REDDY, P. H. Common neurodegenerative pathways in obesity, diabetes, and Alzheimer's disease. **Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Basis of Disease**, v. 1863, n. 5, p. 1037–1045, 1 maio 2017.

QUINN, J. J. et al. Dorsal hippocampus involvement in delay fear conditioning depends upon the strength of the tone-footshock association. **Hippocampus**, v. 18, n. 7, p. 640–654, 2008.

RAHMAN, M. M. et al. Early hippocampal volume loss as a marker of eventual memory deficits caused by repeated stress. **Scientific Reports**, v. 6, n. 1, p. 1–15, 4 jul. 2016.

REAGAN-SHAW, S.; NIHAL, M.; AHMAD, N. Dose translation from animal to human studies revisited. **The FASEB Journal**, v. 22, n. 3, p. 659–661, 2008.

REYNOLDS, E. **Vitamin B12, folic acid, and the nervous system** *Lancet Neurology* Lancet Neurol, , nov. 2006. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17052662/>>. Acesso em: 5 abr. 2021

RIBEIRO, R. H. T. et al. Depression, Hematologic Parameters, and Blood Levels of Vitamin B 12 in Patients With Laryngopharyngeal Reflux Under Use of Proton Pump Inhibitors. **Clinical Medicine Insights: Ear, Nose and Throat**, v. 12, p. 117955061982868, 2019.

ROBERT A QUERCIA et al. Stability of omeprazole in an extemporaneously prepared oral liquid. **American Journal of Health-System Pharmacy**, v. 54, n. 16, p. 1833–1836, 1997.

ROJO, L. E. et al. **Neuroinflammation: Implications for the Pathogenesis and Molecular Diagnosis of Alzheimer's Disease** *Archives of Medical Research* Arch Med Res, , jan. 2008. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18067990/>>. Acesso em: 5 maio. 2021

ROJO, L. E. et al. Selective interaction of lansoprazole and Astemizole with tau polymers: Potential new clinical use in diagnosis of Alzheimer's disease. **Journal of Alzheimer's Disease**, v. 19, n. 2, p. 573–589, 2010.

ROSENBLAT, J. D. et al. **Inflamed moods: A review of the interactions between inflammation and mood disorders** *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry* Elsevier Inc., , 4 ago. 2014. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24468642/>>. Acesso em: 28 abr. 2021

RUCHKIN, D. S. et al. Working memory retention systems: A state of activated long-term memory. **Behavioral and Brain Sciences**, v. 26, n. 6, p. 709–728, 2003.

SACHS, G. Proton pump inhibitors and acid-related diseases. **Pharmacotherapy: The**

Journal of Human Pharmacology and Drug Therapy, v. 17, n. 1, p. 22–37, 2 jan. 1997.

SAHA, S. et al. Appetite and Weight Loss Symptoms in Late-Life Depression Predict Dementia Outcomes. **American Journal of Geriatric Psychiatry**, v. 24, n. 10, p. 870–878, 1 out. 2016.

SALIM, S. **Oxidative stress and the central nervous system****Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**American Society for Pharmacology and Experimental Therapy, , 1 jan. 2017. Disponível em: </pmc/articles/PMC5193071/>. Acesso em: 20 abr. 2021

SANDS, S. A. et al. **The effect of omeprazole on the development of experimental autoimmune encephalomyelitis in C57BL/6J and SJL/J mice**. [s.l.: s.n.]. Disponível em: <http://www.biomedcentral.com/1756-0500/7/605>. Acesso em: 4 dez. 2020.

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

SELMAJ, K. W. The role of cytokines in inflammatory conditions of the central nervous system. **Seminars in Neuroscience**, v. 4, n. 3, p. 221–229, 1 jun. 1992.

SESTAKOVA, N. et al. **Determination of motor activity and anxiety-related behaviour in rodents: Methodological aspects and role of nitric oxide****Interdisciplinary Toxicology**, 1 set. 2013.

SHIN, C. M. et al. Impact of long-term proton pump inhibitor therapy on gut microbiota in F344 rats: Pilot study. **Gut and Liver**, v. 10, n. 6, p. 896–901, 2016.

SHIN, J. M.; SACHS, G. **Pharmacology of proton pump inhibitors****Current Gastroenterology Reports**Curr Gastroenterol Rep, , 2008. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19006606/>. Acesso em: 13 maio. 2021

SHIOTSUKI, H. et al. A rotarod test for evaluation of motor skill learning. **Journal of Neuroscience Methods**, v. 189, n. 2, p. 180–185, 2010.

SIWEK, M. et al. Oxidative stress markers in affective disorders. **Pharmacological Reports**, v. 65, n. 6, p. 1558–1571, 2013.

SPAAN, P. E. J. Episodic and semantic memory impairments in (very) early Alzheimer's disease: The diagnostic accuracy of paired-associate learning formats. **Cogent Psychology**, v. 3, n. 1, 31 dez. 2016.

SQUIRE, L. R.; WIXTED, J. T.; CLARK, R. E. **Recognition memory and the medial temporal lobe: A new perspective****Nature Reviews Neuroscience**Nat Rev Neurosci, , nov. 2007. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17948032/>. Acesso em: 28 abr. 2021

STERBINI, F. P. et al. Effects of proton pump inhibitors on the gastric mucosa-

associated microbiota in dyspeptic patients. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 82, n. 22, p. 6633–6644, 2016.

SWEADNER, K. J.; DONNET, C. **Structural similarities of Na,K-ATPase and SERCA, the Ca²⁺-ATPase of the sarcoplasmic reticulum** *Biochemical Journal* Portland Press Ltd, , 15 jun. 2001. Disponível em: <www.ncbi.nlm.nih.gov>. Acesso em: 30 mar. 2021

TAI, S. Y. et al. Risk of dementia from proton pump inhibitor use in Asian population: A nationwide cohort study in Taiwan. **PLoS ONE**, v. 12, n. 2, p. 1–14, 2017.

TAKASHIMA, S. et al. Proton pump inhibitors enhance intestinal permeability via dysbiosis of gut microbiota under stressed conditions in mice. **Neurogastroenterology and Motility**, v. 32, n. 7, p. e13841, 1 jul. 2020.

TALAROWSKA, M. et al. Malondialdehyde plasma concentration correlates with declarative and working memory in patients with recurrent depressive disorder. **Molecular Biology Reports**, v. 39, n. 5, p. 5359–5366, maio 2012.

TATA, A. et al. Cholinergic System Dysfunction and Neurodegenerative Diseases: Cause or Effect? **CNS & Neurological Disorders - Drug Targets**, v. 13, n. 7, p. 1294–1303, 2014.

TERMANINI, B. et al. Effect of long-term gastric acid suppressive therapy on serum vitamin B12 levels in patients with Zollinger-Ellison syndrome. **American Journal of Medicine**, v. 104, n. 5, p. 422–430, maio 1998.

THONG, B. K. S.; IMA-NIRWANA, S.; CHIN, K. Y. **Proton pump inhibitors and fracture risk: A review of current evidence and mechanisms involved** *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 2019.

TIWARI, S. et al. **Alzheimer's disease: Pathogenesis, diagnostics, and therapeutics** *International Journal of Nanomedicine* Dove Medical Press Ltd., , 2019. Disponível em: </pmc/articles/PMC6650620/>. Acesso em: 18 jun. 2021

VAN DER ZALM, I. J. B.; TOBÉ, T. J. M.; LOGTENBERG, S. J. J. Omeprazole-induced and pantoprazole-induced asymptomatic hyponatremia: A case report. **Journal of Medical Case Reports**, v. 14, n. 1, 29 jun. 2020.

VICH VILA, A. et al. Impact of commonly used drugs on the composition and metabolic function of the gut microbiota. **Nature Communications**, v. 11, n. 1, 1 dez. 2020.

WALF, A. A.; FRYE, C. A. The use of the elevated plus maze as an assay of anxiety-related behavior in rodents. **Nature Protocols**, v. 2, n. 2, p. 322–328, 2007.

WANG, G. et al. NADPH oxidase contributes to angiotensin II signaling in the nucleus tractus solitarius. **Journal of Neuroscience**, v. 24, n. 24, p. 5516–5524, 16 jun. 2004.

WICKENS, A. P. **Ageing and the free radical theory**. *Respiration Physiology*.

Anais...Respir Physiol, 2001Disponível em:
<<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11718765/>>. Acesso em: 2 maio. 2021

WOLFE, M. M.; SACHS, G. **Acid suppression: Optimizing therapy for gastroduodenal ulcer healing, gastroesophageal reflux disease, and stress-related erosive syndrome***Gastroenterology*W.B. Saunders, , 2000. Disponível em:
<<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10868896/>>. Acesso em: 18 jun. 2021

YIN, J. X. et al. Deficits in spatial learning and memory is associated with hippocampal volume loss in aged apolipoprotein e4 mice. **Journal of Alzheimer's Disease**, v. 27, n. 1, p. 89–98, 2011.

YOUNKIN, S. G. **The role of A β 42 in Alzheimer's disease**. *Journal of Physiology* Paris. **Anais...**Elsevier Masson SAS, 1 jun. 1998

ZIELASEK, J.; HARTUNG, H. P. Molecular mechanisms of microglial activation. **Advances in Neuroimmunology**, v. 6, n. 2, p. 191–222, 1996.

ZIRK-SADOWSKI, J. et al. Proton-Pump Inhibitors and Long-Term Risk of Community-Acquired Pneumonia in Older Adults. **Journal of the American Geriatrics Society**, v. 66, n. 7, p. 1332–1338, 1 jul. 2018.

ZULIANI, G. et al. Plasma cytokines profile in older subjects with late onset Alzheimer's disease or vascular dementia. **Journal of Psychiatric Research**, v. 41, n. 8, p. 686–693, out. 2007.