



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

KAROLINE LIMA VIEIRA

**ESTUDO DO EFEITO COMPORTAMENTAL DO EXTRATO ETANÓLICO DE
Erythrina velutina EM MODELO DE ESQUIZOFRENIA-SÍMILE INDUZIDO POR
CETAMINA EM CAMUNDONGOS**

FORTALEZA

2017

KAROLINE LIMA VIEIRA

ESTUDO DO EFEITO COMPORTAMENTAL DO EXTRATO ETANÓLICO DE *Erythrina velutina* EM MODELO DE ESQUIZOFRENIA-SÍMILE INDUZIDO POR CETAMINA EM CAMUNDONGOS

Monografia apresentada ao Curso de Ciências Biológicas do Departamento de Biologia da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas.

Orientadora: Prof.^a. Dr.^a Silvânia Maria Mendes Vasconcelos.

Coorientador: Prof. Dr. José Eduardo Ribeiro Honório Júnior.

FORTALEZA

2017

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)

V715e Vieira, Karoline Lima.

Estudo do efeito comportamental do extrato etanólico de Erythrina velutina em modelo de esquizofrenia-símile induzido por cetamina em camundongos / Karoline Lima Vieira. – 2017.
36 f. : il. color.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências, Curso de Ciências Biológicas, Fortaleza, 2017.

Orientação: Profa. Dra. Silvânia Maria Mendes Vasconcelos.

Coorientação: Prof. Dr. José Eduardo Ribeiro Honório Júnior.

1. Esquizofrenia. 2. Cetamina. 3. Erythrina velutina. 4. Campo aberto. 5. IPP. I. Título.

CDD 570

KAROLINE LIMA VIEIRA

ESTUDO DO EFEITO COMPORTAMENTAL DO EXTRATO ETANÓLICO DE *Erythrina velutina* EM MODELO DE ESQUIZOFRENIA-SÍMILE INDUZIDO POR CETAMINA EM CAMUNDONGOS

Monografia apresentada ao Curso de Ciências Biológicas do Departamento de Biologia da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas.

Aprovada em: ___ / ___ / ____.

BANCA EXAMINADORA

Prof.^a. Dr.^a Silvânia Maria Mendes Vasconcelos (Orientadora)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Ma. Charliene Freire Xavier Vieira
Doutoranda em Farmacologia pela Universidade Federal do Ceará (UFC)

Me. Lucas Teixeira Nunes Borges
Doutorando em Farmacologia pela Universidade Federal do Ceará (UFC)

À ciência e a todos que possam se beneficiar
deste trabalho.

AGRADECIMENTOS

À minha família, em especial minha avó Maria do Carmo Santos Lima (*in memoriam*), que me apoiou profundamente e contribuiu de forma vasta em todas as etapas para a realização desse sonho.

À minha orientadora, Prof.^a Dr.^a Silvânia Maria Mendes Vasconcelos, pelos anos de orientação, por ter me acolhido em seu grupo de pesquisa e ter permitido o meu crescimento e aprendizagem.

Ao meu coorientador, Prof. Dr. José Eduardo Ribeiro Honório Júnior, pela orientação e enorme ajuda, pela enorme paciência e pelas várias horas gastas escutando minhas choradeiras e tentando acalmar a minha ansiedade.

Aos participantes da banca examinadora, Ma. Charliene Freire Xavier Vieira e Me. Lucas Teixeira Nunes Borges pelo tempo, pelas valiosas colaborações e sugestões.

Aos meus colegas de laboratório, técnicas, pós-graduandos e ICs, pelas rodas de conversa, apoio e ensinamentos. Em especial, Katia, Lucas, Charly, Prof. Eduardo, Prof.^a Silvânia, Talita, Vilani e Luciana por aguentarem e sustentarem o meu apetite durante todos esses anos.

Aos meus amigos da graduação, já formados e que ainda se formarão: foi difícil, meu povo, mas vamos continuar que vai dar tudo certo!

Às meninas do Girl's Talk e o pessoal do Besteiras, que são uns lindos e sempre me forçaram a ter algum convívio social para não definharmos só nos estudos. Em especial Ingrid (DD), Nágila (Vó), Élide (Zélida), Aline (Shadow), Jamile (Jam), Sérgio (Sergim), David (Papis), João Pedro (JP), Stela (Stelitcha) e Jorge (Jorgim) que foram/são os melhores amigos e companheiros de turma que eu poderia pedir.

À Vitoria Penha e Sammya Sand, por serem as amigas/irmãs que não pedi para ter, mas que ainda bem que apareceram na minha vida. Obrigada pelas broncas, risadas, surtos, dinheiro gasto coletivamente (amigas que gastam juntos, permanecem juntas, já dizia o ditado), e por às vezes me lembrarem de sair de casa quando o estresse aumenta.

Ao Mestre Eiichiro Oda e todos os meus autores de livros preferidos, que embora não façam ideia da minha existência, me ensinaram a ser uma pessoa melhor e a persistir sempre, além de já terem me ajudado a superar momentos muito difíceis da minha vida por meio de suas obras.

A todos que contribuíram de alguma forma para a realização deste trabalho.

Muito obrigado a todos!

“Eis algumas coisas que não podem ser impedidas: um propósito herdado, o sonho de uma pessoa, e a transição de uma época. Enquanto o ser humano procurar por respostas para a liberdade, essas coisas jamais serão impedidas... Jamais.” (ODA, 2013, p. 7)

RESUMO

A esquizofrenia é um transtorno mental grave e crônico que atinge cerca de 21 milhões de pessoas ao redor do mundo, e é caracterizada por sintomas positivos, negativos e cognitivos. O gênero *Erythrina* é composto de plantas da família Fabaceae, tendo histórico de ser usado pela medicina popular em vários âmbitos, inclusive para ansiedade. Usando como base o uso popular e estudos anteriores de efeito no Sistema Nervoso Central, pretendeu-se estudar o efeito antipsicótico do extrato etanólico de *E. velutina* em protocolo de prevenção no modelo animal de esquizofrenia-símile induzida por doses repetidas de cetamina. Camundongos adultos machos (peso: 20-30 g) foram divididos em cinco grupos e tratados com salina ou cetamina 25mg/kg para o modelo e com olanzapina na dose 2 mg/kg ou extratos etanólicos de *E. velutina* nas doses de 200 ou 400 mg/kg. O experimento durou 14 dias, e no último dia, 30 minutos após a última droga ser administrada, foram realizados os testes comportamentais de campo aberto e inibição pré-pulso (IPP). Os resultados do teste de campo aberto mostraram-se favoráveis à dose de 400 mg/kg do extrato, cuja performance se equiparou ao efeito demonstrado pela olanzapina, droga padrão para tratamento de esquizofrenia. O teste de inibição pré-pulso validou o modelo de esquizofrenia, porém os extratos de *E. velutina* tiveram resultados inconclusivos. Faz-se necessário mais estudos para comprovação dos resultados e investigação de outras variáveis.

Palavras-chave: Esquizofrenia. Cetamina. *Erythrina velutina*. Campo aberto. IPP.

ABSTRACT

Schizophrenia is a serious and chronic mental disorder that affects about 21 million people around the world, and is characterized by positive, negative and cognitive symptoms. The genus *Erythrina* is composed of plants of the family Fabaceae, having history of being used by the popular medicine in several scopes, including for anxiety. Based on the popular use and previous studies of effect in the Central Nervous System, it was intended to study the antipsychotic effect of ethanolic extract of *E. velutina* in a prevention protocol in the animal model of schizophrenia-simile induced by repeated doses of ketamine. Male adult mice (weight: 20-30 g) were divided into five groups and treated with saline or ketamine 25 mg/kg for the model and with olanzapine at 2 mg/kg dose or ethanolic extracts of *E. velutina* at doses of 200 or 400 mg/kg. The experiment lasted 14 days, and on the last day, 30 minutes after the last drug was administered, the open-field and pre-pulse inhibition (PPI) behavioral tests were performed. The results of the open-field test were favorable to the 400 mg/kg dose of the extract, whose performance was similar to the effect demonstrated by olanzapine, the standard drug for the treatment of schizophrenia. The pre-pulse inhibition test validated the schizophrenia model, but the extracts of *E. velutina* have inconclusive results. Further studies are required to prove the results and to investigate other variables.

Keywords: Schizophrenia. Ketamine. *Erythrina velutina*. Open-field test. PPI.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Estrutura química da cetamina	17
Figura 2 – Distribuição do gênero <i>Erythrina</i> sp. no território brasileiro.....	18
Figura 3 – Distribuição de <i>E. velutina</i> em território brasileiro.....	19
Figura 4 – Representação de <i>E. velutina</i>	20

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 – Atividade locomotora no teste de campo aberto	26
Gráfico 2 – Número de tentativas de <i>grooming</i> no teste de campo aberto	27
Gráfico 3 – Número de tentativas de <i>rearing</i> no teste de campo aberto	28
Gráfico 4 – Porcentagem de inibição pré-pulso nas intensidades de pré-pulso de 70 dB, 75 dB e 80 dB	29

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Divisão dos grupos experimentais	23
---	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CET	Cetamina
cm	Centímetro
dB	Decibéis
EPM	Erro padrão da média
ERY	Erythrina
HPLC-PDA	<i>High-performance liquid chromatography photodiode array detection</i>
Hz	Hertz
IPP	Inibição pré-pulso
mg/kg	Miligramas por kilograma
min	Minuto
ms	Milisegundo
NMDA	N-metil-D-aspartato
OLA	Olanzapina
P	Pulso
PP	Pré-pulso
s	Segundo
SAL	Salina
SNC	Sistema Nervoso Central
vip	Via intraperitoneal
vo	Via oral

LISTA DE SÍMBOLOS

±	Mais-menos
%	Porcentagem

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
1.1	Esquizofrenia	14
1.2	Fisiopatologia da esquizofrenia	14
1.3	Cetamina como modelo farmacológico de esquizofrenia	16
1.4	<i>Erythrina velutina</i>	17
2	OBJETIVOS	21
2.1	Geral	21
2.2	Específicos	21
3	METODOLOGIA	22
3.1	Animais	22
3.2	Preparação dos extratos	22
3.3	Delineamento experimental	23
3.4	Testes comportamentais	23
3.4.1	<i>Teste de campo aberto</i>	23
3.4.2	<i>Inibição pré-pulso</i>	24
3.5	Análise estatística	25
4	RESULTADOS	26
5	DISCUSSÃO	30
6	CONCLUSÃO	32
	REFERÊNCIAS	33

1 INTRODUÇÃO

1.1 Esquizofrenia

A esquizofrenia é um transtorno mental grave e crônico que atinge cerca de 21 milhões de pessoas ao redor do mundo, segundo a Organização Mundial da Saúde (2014). É caracterizada por sintomas positivos, negativos e cognitivos que atingem o pensamento, a percepção, e o comportamento social e afetivo, além de incluir experiências psicóticas (BARBATO, 1998; LARSON; WALKER; COMPTON, 2010; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2014).

Conhecida por ser um transtorno multidimensional, a esquizofrenia tem sintomas heterogêneos (JOSEPH; NARAYANASWAMY; VENKATASUBRAMANIAN, 2015; SIEVER; KALUS; KEEFE, 1993). Estes geralmente se iniciam ao fim da adolescência ou começo da idade adulta, e costumam deixar prejuízos residuais (FUSAR-POLI et al., 2013). Dentre os sintomas positivos, podem-se destacar distúrbios e desorganização de pensamento, alucinações, delírios, além de comportamento hostil, catatônico e agressivo. Entre os sintomas negativos, incluem-se desmotivação, inibição social, anedonia, “pobreza” de expressão e afetividade danificada. Como sintomas cognitivos, incluem-se deficiências no pensamento de alto nível, atenção, planejamento, tomadas de decisões, memórias de trabalho, visual e espacial, raciocínio, funções executoras e reconhecimento emocional (BOUTROS et al., 2013; JOSEPH; NARAYANASWAMY; VENKATASUBRAMANIAN, 2015; KANCHANATAWAN et al., 2017; LIEBERMAN et al., 1991).

Acredita-se que os sintomas da esquizofrenia são resultados de um desbalanceamento dopaminérgico no sistema nervoso central. Sendo assim, os sintomas positivos decorrem de uma hiperativação da área mesolímbica, enquanto que os sintomas negativos e cognitivos são originários de uma hipoativação mesocortical (MENEGATTI et al., 2004).

A esquizofrenia, atualmente, não tem cura; porém, dispõe de tratamento efetivo contra os sintomas, baseado em farmacoterapia e apoio psicossocial. Entretanto, sabe-se que uma em cada duas pessoas não recebem tratamento apropriado. Inclusive, pessoas com esquizofrenia comumente sofrem estigmatização, preconceito e violação de seus direitos humanos (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2014).

1.2 Fisiopatologia da esquizofrenia

Pesquisas apontam que existem diversos fatores genéticos, bioquímicos e morfológicos que podem contribuir na fisiopatologia da esquizofrenia. Dentre as possibilidades mais aceitas, a hipótese dopaminérgica e a glutamatérgica são as mais estudadas, geralmente.

No que diz respeito à resposta dopaminérgica, em um quadro típico de esquizofrenia, sabe-se que as funções cognitivas e emocionais se encontram alteradas em função de modificações nela (VAN OS; KAPUR, 2009). Essa hipótese surgiu para justificar o fato de que o efeito terapêutico de antipsicóticos clássicos, introduzidos em meados da década de 50 com a descoberta da clorpromazina, se dá através do bloqueio de receptores dopaminérgicos tipo D2, e é a mais antiga e conhecida associação entre fatores neuroquímicos e a manifestação clínica da esquizofrenia (KAPUR; SEEMAN, 2001). Além disso, havia o fato de que a dopamina liberada no sistema nervoso central, após intoxicação com estimulantes como anfetamina, podia causar sintomas psicóticos que se assemelham à esquizofrenia (TSOI et al., 2008; VAN OS; KAPUR, 2009).

Ainda na resposta dopaminérgica, na década de 60, pesquisadores descobriram a clozapina, antipsicótico atípico, em sua busca por antipsicóticos mais efetivos e que tivessem menores efeitos colaterais e extrapiramidais. Sendo a clozapina um fármaco multireceptor, com maior afinidade pelo receptor D4 do que pelo receptor D2, ele foi efetivo no tratamento dos sintomas positivos e, parcialmente, sobre os sintomas negativos e a deficiência cognitiva dos esquizofrênicos. A clozapina também se mostrou capaz de prevenir psicoses em pacientes refratários e intolerantes aos antipsicóticos clássicos (MENEGATTI et al., 2004).

Assim, o antagonismo de receptores do tipo D2-símile parece ser o principal mecanismo de ação relacionado à eficácia terapêutica de alguns antipsicóticos. Além disso, surtos psicóticos podem ser induzidos em indivíduos sadios por drogas que facilitam ou aumentam a neurotransmissão dopaminérgica. A liberação de dopamina induzida por anfetamina, a atividade de DOPA descarboxilase e a densidade de receptores D2 no corpo estriado de esquizofrênicos parece elevada em comparação a indivíduos sadios. Resultado semelhante é verificado em indivíduos esquizofrênicos livres de tratamentos com antipsicóticos (YILMAZ et al., 2012).

Somada à teoria dopaminérgica, a teoria glutamatérgica também mostra forte evidência de estar envolvida na fisiopatologia da esquizofrenia. Estudos mostram que a hipofunção dopaminérgica na via mesocortical é causada por uma diminuição da sinalização glutamatérgica (PIETRASZEK, 2003).

Os receptores N-metil-D-aspartato (NMDA) são controlados pelo glutamato, um

neurotransmissor excitatório primário. Estes receptores NMDA controlam a plasticidade sináptica e a função da memória. Antagonistas de NMDA, como a fenciclidina e a cetamina, induz a hiperatividade do glutamato no córtex pré-frontal causada pela hipofunção dos receptores NMDA, efeitos esses que podem ser associados a esquizofrenia. Esses fármacos têm a capacidade de imitar o comprometimento cognitivo e os sintomas negativos da esquizofrenia além dos costumeiros sintomas positivos, ao contrário da anfetamina que induz apenas os positivos e, assim, serem usados como um modelo de estudo farmacológico mais apropriado que o modelo dopaminérgico (GONZALEZ-BURGOS; LEWIS, 2012; PIETRASZEK, 2003; THOMAS et al., 2017; YOO et al., 2017).

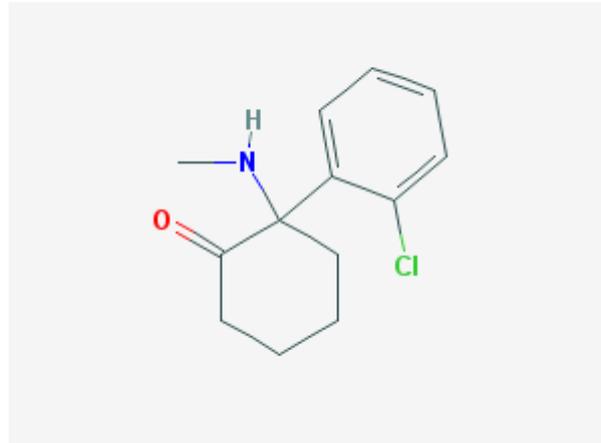
1.1 Cetamina como modelo farmacológico de esquizofrenia-símile

A esquizofrenia é caracterizada por uma alta variação no conjunto de sintomas manifestados, no curso da doença, no prognóstico e no tratamento. Consequentemente, os modelos de estudo da esquizofrenia, usualmente em animais, acabam limitados a certos aspectos do transtorno, existindo uma multiplicidade de fatores que não podem ser reproduzidos na realidade dos animais (FEIFEL; SHILLING, 2017).

O modelo farmacológico de esquizofrenia por cetamina consiste na administração aguda ou repetida de cetamina, um anestésico dissociativo, causando hipofunção dos receptores NMDA (HAUSER; ISBRANDT; ROEPER, 2017). Fundamenta-se na hipótese glutamatérgica da esquizofrenia, a qual presume que a inibição dos receptores NMDA modula o sistema dopaminérgico mesolímbico, levando ao quadro de psicose (THOMAS et al., 2017).

Os antagonistas dos receptores de NMDA, de modo geral, acentuam sintomas psicóticos em indivíduos esquizofrênicos e induzem sintomas positivos e negativos semelhantes a este transtorno em indivíduos saudáveis (THOMAS et al., 2017). Dentre os antagonistas NMDA, a cetamina (Figura 1) tem recebido atenção em uma série de trabalhos na literatura científica, apresentando validade de face, constructo e preditiva (CHINDO et al., 2012).

Figura 1 - Estrutura química da cetamina



Fonte: PUBCHEM

Foi demonstrado que a aplicação repetida de doses subanestésicas de cetamina induz mudanças sutis na distribuição celular de proteínas “sensor de cálcio”, que em parte se assemelham àquelas descritas em cérebros *post-mortem* de humanos esquizofrênicos (BERNSTEIN et al., 2003). Além disso, sabe-se que a cetamina agrava sintomas negativos e induz ou piora o comprometimento cognitivo (PITSIKAS; BOULTADAKIS; SAKELLARIDIS, 2008).

1.2 *Erythrina velutina* Willd.

O Brasil, embora possuidor de uma rica biodiversidade e conhecimentos tradicionais, consome em sua maioria fitoterápicos de desenvolvimento europeu ou americano. Isso se deve ao fato de que somente uma pequena parcela dessa biodiversidade tem sido estudada cientificamente quanto ao seu potencial terapêutico e produção de medicamento fitoterápico.

É justificado, portanto, a preocupação de formar recursos humanos qualificados e desenvolver e manter programas direcionados para a pesquisa científica e tecnológica na área; buscando sempre soluções na privilegiada biodiversidade brasileira, através da descoberta de novas moléculas com atividade terapêutica ou do desenvolvimento de fitoterápicos genuinamente nacionais (SIMÕES; SCHENKEL, 2002).

O gênero *Erythrina* é composto de plantas da divisão Magnoliophyta (Angiospermae), pertencentes à ordem Fabales e a família Fabaceae. O gênero é composto por mais de 120 espécies distribuídas através das regiões tropicais do mundo (DA SILVA et al., 2013), e tem distribuição por quase todo o território brasileiro (LIMA; MARTINS, 2015) (Figura 2). O nome *Erythrina* origina-se do grego *erythros*, que significa vermelho, em referência à cor das flores das plantas (CARVALHO et al., 2009).

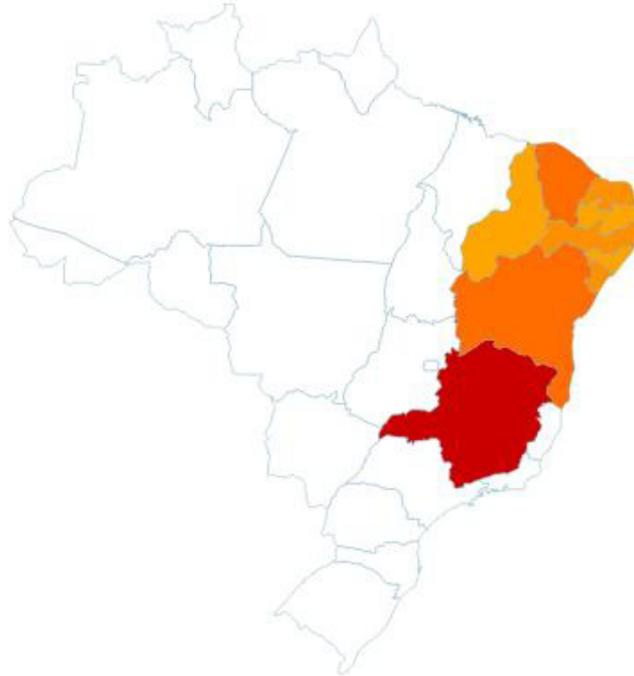
Figura 2 - Distribuição do gênero *Erythrina* sp. no território brasileiro



Fonte: LIMA; MARTINS, 2015

No Brasil temos 11 espécies de *Erythrina*, sendo duas endêmicas (LIMA; MARTINS, 2015). O gênero *Erythrina* é conhecido como mulungu, denominação que abrange as espécies *E. velutina* Willd. e *E. verna* Vell., sendo ambas largamente utilizadas na medicina popular brasileira como calmantes e anestésicos (CARVALHO et al., 2009; DA SILVA et al., 2013; LORENZI, H.; MATOS, 2008). A figura 3 representa a distribuição de *Erythrina velutina* em território nacional (MARTINS, 2015).

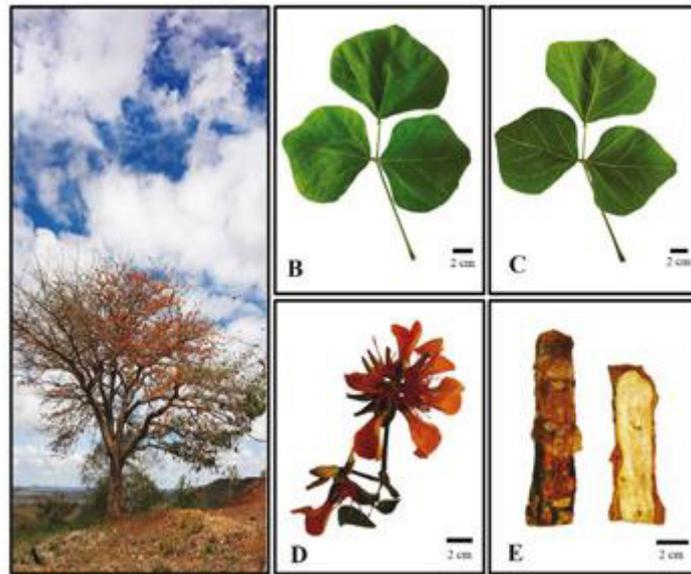
Figura 2 - Distribuição de *E. velutina* em território brasileiro



Fonte: MARTINS, 2015

Dentre as ações farmacológicas pesquisadas sobre *E. velutina*, o efeito ansiolítico é o mais evidente. Vasconcelos *et al.* (2004) demonstrou que esta espécie possui ação ansiolítica, no teste de *plus maze*, quando administrado em doses de 200 a 400 mg/kg em tratamento agudo. Outra ação importante de *E. velutina* é o efeito depressor do SNC. A administração aguda, em doses altas (800 mg/kg, v. o. ou i. p.), do extrato hidroalcoólico de *E. velutina* apresentou ação depressora no SNC de camundongos (VASCONCELOS *et al.*, 2004). Efeitos semelhantes foram observados com frações clorofórmicas obtidas da casca do caule de *E. velutina* (VASCONCELOS *et al.*, 2009).

Baseado no uso popular da planta como sedativo e aos efeitos farmacológicos encontrados no Sistema Nervoso Central, resolveu-se pesquisar, no presente projeto, os efeitos antipsicóticos dos extratos etanólicos padronizados (HPLC-PDA) obtidos das folhas (Figura 4) de *E. velutina* em camundongos em um modelo de esquizofrenia induzida pela administração de doses repetidas de cetamina na prevenção. Dessa forma, simulou-se, no protocolo de prevenção, uma terapia de manutenção de recaída da esquizofrenia (ou seja, prevenção na recaída dos sintomas da esquizofrenia em pacientes estabilizados).

Figura 3 – Representação de *E. velutina*

Fonte: DA SILVA et al., 2013. Legenda: A. Indivíduo no campo; B. Face adaxial da folha; C. Face abaxial da folha; D. Ramo florido; E. Aspecto do caule.

2 OBJETIVOS

2.1 Geral

Estudar o efeito antipsicótico do extrato etanólico de *E. velutina* em protocolo de prevenção no modelo de esquizofrenia-símile induzida por doses repetidas de cetamina em camundongos.

2.2 Específicos

- Averiguar a prevenção das alterações comportamentais típicas do modelo de esquizofrenia-símile induzida por cetamina em camundongos adultos pelo tratamento com extrato etanólico obtidos das folhas de *E. velutina*, através da realização de teste que avalia sintomas cognitivos: inibição pré-pulso.
- Averiguar a prevenção das alterações comportamentais típicas do modelo de esquizofrenia-símile induzida por cetamina em camundongos adultos pelo tratamento com extrato etanólico obtidos das folhas de *E. velutina*, através da realização de teste de campo aberto, que avalia sintomas positivos.

3 METODOLOGIA

Segundo Meyer e Feldon (2010) e Salgado *et al.* (2006), o uso de modelos animais para o estudo da esquizofrenia permite um controle experimental rigoroso e facilita o estudo das bases neurobiológicas e dos distúrbios comportamentais relevantes relacionados ao transtorno, além de permitir estabelecer e avaliar novas estratégias terapêuticas farmacológicas para o seu tratamento.

3.1 Animais

Os camundongos (*Mus musculus*) adultos machos (peso: 20-30 g) utilizados para o estudo foram provenientes do biotério do Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento de Medicamentos (NPDM/UFC). Estes foram divididos em cinco grupos a receberem tratamento (n = 8) e mantidos em ambiente com condições controladas (temperatura de 22°C ± 1°C, ciclo claro/escuro de 12 h, água e ração padrão *ad libitum*). Todos os procedimentos experimentais realizados estavam de acordo com diretrizes do NIH (*National Institute of Health*) (ANIMALS, 2011) já tendo sido aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA/UFC) no número 67/14.

3.2 Preparação dos extratos

As folhas de *E. velutina* utilizadas para a preparação dos extratos foram coletadas no município de Mulungu-CE. A exsicata da espécie está depositada no Herbário Prisco Bezerra/UFC (nº EAC 16046).

Os extratos etanólicos da planta foram produzidos e padronizados segundo metodologia anteriormente desenvolvida pelo Laboratório de Farmacognosia – UFC (SILVA, 2012; VASCONCELOS et al., 2003). Após a caracterização quanto ao teor de fenóis totais por espectrofotometria e teor de flavonoides (marcadores utilizados: hesperidina e homohesperidina) por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com detector de arranjo diodo (HPLC-PDA), os extratos foram submetidos à secagem pela técnica de *spray drying* com incorporação de adjuvantes de secagem (pré-formulação).

A preparação dos extratos de *E. velutina* foi realizada e custeada pelo Laboratório de Farmacognosia/UFC.

3.3 Delineamento experimental

Foi feito um protocolo de prevenção, em que se simulou a fase de manutenção do tratamento deste transtorno. Os animais foram tratados com as doses de 200 ou 400 mg/kg, via oral, do extrato de *E. velutina*. Cetamina foi administrada na dose de 25 mg/kg, via intraperitoneal (DEROZA et al., 2012). Para termos de comparação, utilizou-se a olanzapina 2 mg/kg, via oral, como droga antipsicótica padrão (NINAN; KULKARNI, 1999). Os animais foram tratados conforme segue abaixo (Tabela 1):

Tabela 1 – Divisão dos grupos experimentais

Grupos	1º a 7º dias de tratamento	8º a 14º dias de tratamento
Controle (SAL)	Soro fisiológico 0,9%	Soro fisiológico 0,9%
SAL + CET	Soro fisiológico 0,9%	Soro fisiológico 0,9% - 60min - CET
ERY 200 + CET	ERY 200	ERY 200 - 60min - CET
ERY 400 + CET	ERY 400	ERY 400 - 60min - CET
OLA + CET	OLA	OLA - 60min - CET

Fonte: elaborada pela autora. Legenda: SAL: Soro fisiológico 0,9%, i.p.; CET: cetamina 25 mg/kg, i.p.; ERY: extrato etanólico de *E. velutina* 200 ou 400 mg/kg, v.o.; OLA: olanzapina 2 mg/kg, v. o.

Ao fim do protocolo (14º dia de tratamento), os testes comportamentais foram realizados em todos animais. Os testes iniciaram-se 30 min após a última aplicação das drogas. Realizados os testes, os animais foram sacrificados por overdose de anestésico. As carcaças foram mantidas armazenadas em freezer até serem incineradas.

3.4 Testes comportamentais

3.4.1 Teste de campo aberto

O teste mede a atividade locomotora (FEINSTEIN; KRITZER, 2013). Os animais foram postos individualmente em uma caixa quadrada (30 cm × 30 cm × 15 cm) de paredes de acrílico transparente e o fundo escuro dividido em nove quadrantes, onde eles têm livre locomoção. O teste tem duração de seis minutos, sendo o primeiro minuto dedicado à ambientação do animal.

Os parâmetros medidos no teste foram:

- *Locomoção*: definido como o movimento de caminhar reto sustentado pelas quatro patas e medido como o número de vezes que o animal cruza totalmente um quadrante.
- *Rearing*: definido como o movimento ascendente com as patas dianteiras (“ficar em pé”) e medido pelo número de tentativas.
- *Grooming*: definido como o ato de lamber ou alisar qualquer parte do corpo e medido como o número de tentativas.

3.4.2 *Teste de Inibição Pré-pulso*

A reação corporal dos animais a um estímulo acústico foi monitorada em uma câmara (INSIGHT equipamentos científicos – Brasil modelo EP-175) conectada a um tubo (diâmetro 8,2 cm, comprimento 20 cm) montada em uma caixa fechada ventilada.

Os camundongos foram colocados em um contensor (4,5 cm × 5,0 cm × 5,5 cm), que consiste de barras de aço inoxidável de 3,0 mm de diâmetro com espaçamento de 0,8 cm de distância. O contensor foi mantido preso sobre uma balança de alta sensibilidade (plataforma de resposta) por meio de quatro parafusos. Um alto-falante localizado a 15 cm do contensor fornecia os estímulos de pulso, pré-pulso e ruído de fundo. O contensor, a plataforma e o alto-falante permaneciam dentro da câmara acústica ventilada (64 cm × 60 cm × 40 cm). Procedimentos de calibração foram realizados antes dos experimentos para garantir sensibilidades equivalentes da plataforma de resposta ao longo do período de teste.

A sessão de testes foi iniciada ao se colocar o animal no contensor para a aclimação, ou seja, uma exposição de 5 min ao ruído de fundo (65 dB). Após o período de aclimação, os camundongos foram apresentados a uma série de dez estímulos de treino (pulso sozinho - 120 dB, 50 ms de duração), com um ensaio de inter-intervalo de 20 s. O objetivo desta fase foi permitir a habituação da resposta de sobressalto do animal.

Em seguida, a modulação IPP de sobressalto foi testada no seguinte protocolo: 94 ensaios pseudorandomizados divididos em oito categorias diferentes, intercalados por um intervalo de 20 s: 20 apresentações de pulso sozinho (120 dB, 50 ms de duração), oito apresentações de cada intensidade de pré-pulso sozinho (70, 75 e 80 dB, frequência 3000 Hz, 20 ms de duração), dez apresentações de cada uma das intensidades de pré-pulso + intensidade de pulso (com intervalo de 50 ms entre pré-pulso e pulso) e dez apresentações de ausência de

estímulo (neste bloco o animal só recebeu o estímulo de ruído de fundo) (adaptado de GURURAJAN; TAYLOR; MALONE, 2010).

Cada sessão teve como duração total por volta de 35 min, onde cada animal realizou o teste apenas uma vez.

A média da amplitude de resposta de sobressalto aos ensaios de pulso sozinho (P) e pré-pulso + pulso ($PP + P$) foi calculado pelo software padrão do aparelho para cada animal. Definiu-se o nível de IPP em cada camundongo como a porcentagem da redução da amplitude do sobressalto nos ensaios de $PP + P$ em comparação com a amplitude do sobressalto nos ensaios de P, de acordo com a seguinte fórmula:

$$\% IPP = 100 - [100 \times (PP + P/P)]$$

Usando esta fórmula, um valor de IPP de 0% denota que não houve diferença entre a amplitude da resposta de sobressalto do pulso sozinho e do pré-pulso + pulso, consequentemente, não houve IPP (LEVIN et al., 2011).

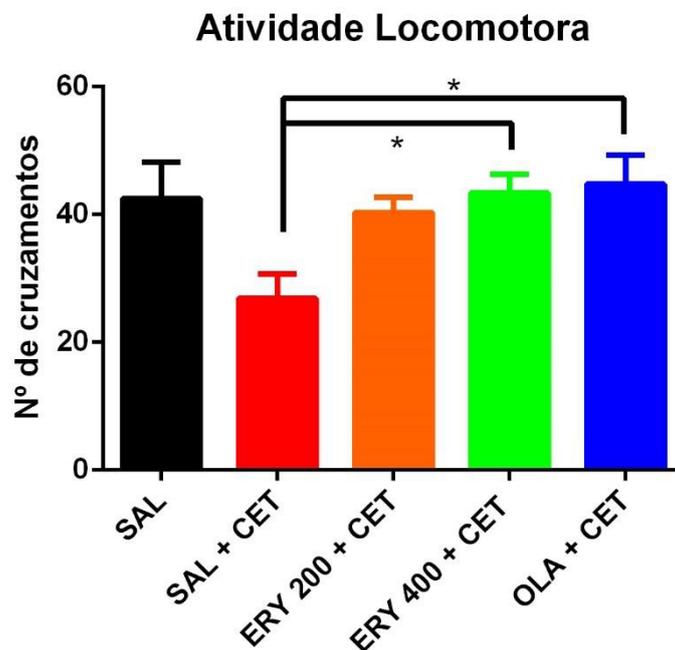
3.5 Análises estatísticas

Para os dados do teste de campo aberto foi realizado análise de variância pela técnica de *One-way* ANOVA para seguido de Tukey como teste *post hoc* (n = 8). Para os dados do teste de inibição pré-pulso, foi realizado análise de variância *Two-way* ANOVA seguido de Tukey como teste *post hoc* (n = 8). Todos os dados foram analisados utilizando o software GraphPad Prism 6.

4 RESULTADOS

No teste de campo aberto, observou-se uma queda da atividade locomotora no grupo tratado somente com cetamina ($26,88 \pm 3,791$); no qual, é revertido no grupo tratado com o extrato de *E. velutina* na dose de 400 mg/kg ($43,38 \pm 2,946$). Esse resultado é semelhante ao obtido no grupo tratado com olanzapina ($44,75 \pm 4,589$) [$F(4, 29) = 3,953, P = 0,0111$] (Gráfico 1).

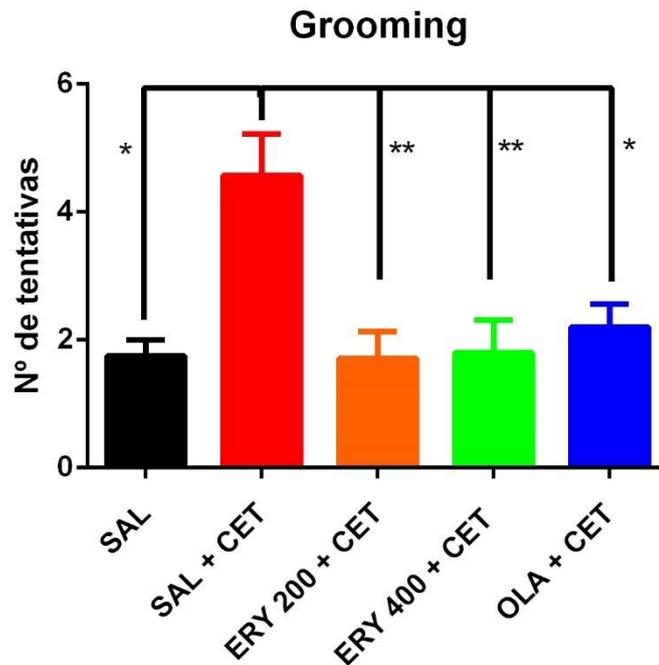
Gráfico 4 - Atividade locomotora no teste de campo aberto



Fonte: dados do experimento. Efeitos no número de cruzamentos no teste de campo aberto pela administração repetida do extrato etanólico de *E. velutina* (200 ou 400 mg/kg, v.o, aplicada do 1º ao 14º dia 30 minutos antes da administração de salina ou cetamina) em camundongos. Os testes ocorreram no 14º dia de tratamento, 30 minutos após a aplicação da última droga. Cada barra representa a média ± EPM (n=8). *One-way* ANOVA seguido de Tukey como teste *post hoc*.

Em relação ao *grooming*, verificou-se um aumento no número de tentativas no grupo cetamina ($4,571 \pm 0,6494$). Esse resultado foi revertido tanto com ambas as doses de Erytrina 200 ($1,714 \pm 0,4206$) e 400 ($1,800 \pm 0,5121$) quanto com a olanzapina ($2,200 \pm 0,3590$) [$F(4, 33) = 5,670, P = 0,0014$] (Gráfico 2).

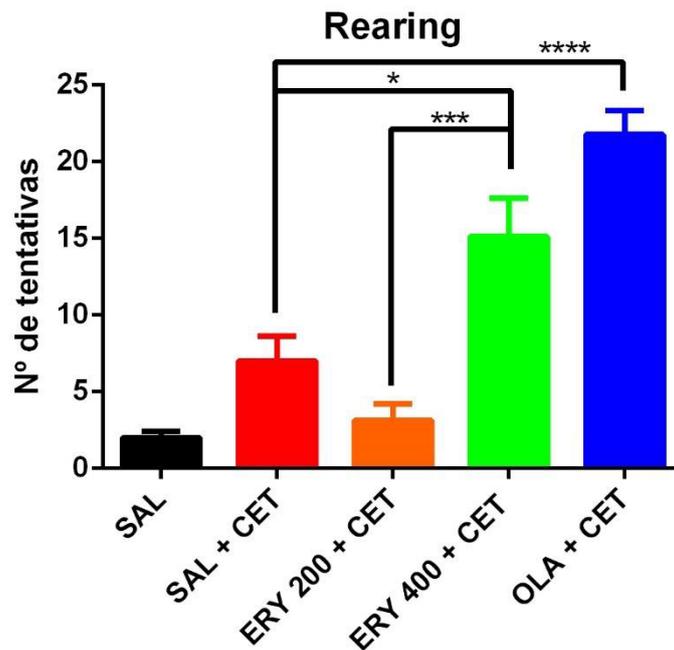
Gráfico 5 - Número de tentativas de *grooming* no teste de campo aberto



Fonte: dados do experimento. Efeitos no número de tentativas de *grooming* no teste de campo aberto pela administração crônica do extrato etanólico de *E. velutina* (200 ou 400 mg/kg, v.o, aplicada do 1º ao 14º dia 30 minutos antes da administração de salina ou cetamina) em camundongos. Os testes ocorreram no 14º dia de tratamento, 30 minutos após a aplicação da última droga. Cada barra representa a média ± EPM (n=8). *One-way ANOVA* seguido de Tukey como teste *post hoc*.

No parâmetro de *rearing* observou-se um aumento das tentativas nos grupos Erytrina 400 ($15,11 \pm 2,514$) e olanzapina ($21,78 \pm 1,570$) em relação aos grupos cetamina ($7,000 \pm 1,626$), controle ($2,000 \pm 0,4082$) e Erytrina 200 ($3,143 \pm 1,079$) [$F(4, 32) = 20,00$, $P < 0,0001$] (Gráfico 3).

Gráfico 6 – Número de tentativas de *rearing* no teste de campo aberto

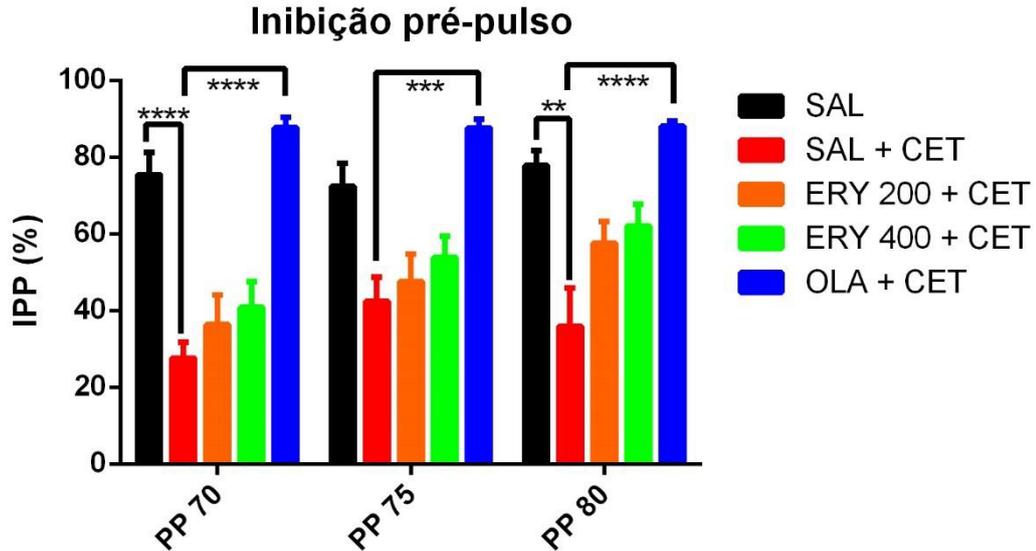


Fonte: dados dos experimentos. Efeitos no número de tentativas de *rearing* no teste de campo aberto pela administração crônica do extrato etanólico de *E. velutina* (200 ou 400 mg/kg, v.o, aplicada do 1º ao 14º dia 30 minutos antes da administração de salina ou cetamina) em camundongos. Os testes ocorreram no 14º dia de tratamento, 30 minutos após a aplicação da última droga. Cada barra representa a média \pm EPM ($n=8$). *One-way* ANOVA seguido de Tukey como teste *post hoc*.

No teste de inibição pré-pulso, viu-se uma diminuição significativa na porcentagem de inibição pré-pulso do grupo cetamina ($27,65533 \pm 4,172595$) comparado ao grupo controle ($75,48375 \pm 5,758299$) na intensidade de pré-pulso de 70 dB. Isso se repete para o grupo cetamina ($35,998 \pm 9,860803$) em relação ao grupo controle ($77,885 \pm 3,82239$) na intensidade de 80 dB. Tais resultados foram revertidos pela olanzapina (70 dB: $87,72143 \pm 2,777681$; 80 dB: $88,02857 \pm 1,42608$), que inclusive causou uma mudança significativa quando comparado ao grupo cetamina ($42,336 \pm 6,492288$) na intensidade de pré-pulso de 75 dB (Olanzapina: $87,59715 \pm 2,29748$) (Figura 4).

Nenhuma alteração significativa foi observada entre os grupos cetamina, Erytrina 200 (70 dB: $36,380 \pm 7,745437$; 75 dB: $47,651 \pm 7,160625$; 80 dB: $57,635 \pm 5,555475$) e Erytrina 400 (70 dB: $40,866 \pm 6,644929$; 75 dB: $53,891 \pm 5,589059$; 80 dB: $62,067 \pm 5,635599$) nas três intensidades de pré-pulso [F (4, 135) = 28,87, P < 0,0001].

Gráfico 7 – Porcentagem de inibição pré-pulso nas intensidades de pré-pulso de 70 dB, 75 dB e 80 dB



Fonte: dados do experimento. Efeitos na porcentagem de inibição pré-pulso no teste de IPP pela administração crônica do extrato etanólico de *E. velutina* (200 ou 400 mg/kg, v.o, aplicada do 1º ao 14º dia 30 minutos antes da administração de salina ou cetamina) em camundongos. Os testes ocorreram no 14º dia de tratamento, 30 minutos após a aplicação da última droga. Cada barra representa a média \pm EPM (n=8). *Two-way* ANOVA seguido de Tukey como teste *post hoc*.

5 DISCUSSÃO

Através da análise dos resultados do teste de campo aberto, foi observado que houve uma compensação na atividade locomotora diminuída pela cetamina dos animais tratados com os extratos etanólicos de *E. velutina* e com olanzapina. Neste parâmetro, o extrato de *E. velutina* na dose de 400 mg/kg se saiu ligeiramente melhor que a dose 200 mg/kg, se comparando ao efeito obtido no tratamento com olanzapina. Resultados semelhantes foram encontrados por Akillioglu *et al.* (2012) que ao manterem um tratamento crônico com MK-801, também um antagonista de receptores NMDA como a cetamina, em camundongos BALB/c, diminuiu-se a atividade exploratória horizontal.

Além disso, em um estudo recente, Rodrigues *et al.* (2017) demonstraram que animais isquêmicos tratados com extrato de *E. velutina* tiveram um aumento da atividade locomotora.

Quanto ao parâmetro de *grooming* observou-se que o aumento considerável no número de tentativas causado pela administração crônica de cetamina foi igualmente revertido à valores próximos ao do controle, tanto pelos extratos como pela olanzapina. Não houve nenhuma diferença significativa nos efeitos destas três drogas.

O comportamento de *rearing* mostrou-se aumentado no grupo cetamina, sendo diminuído novamente pelo extrato de dose 200 mg/kg. Entretanto, tanto o extrato de 400 mg/kg quanto a olanzapina alavancaram o número de tentativas em mais de 115% para o extrato e 211% para a olanzapina.

Esses resultados foram opostos ao encontrados por Feinstein e Kritzer (2013), cujo trabalho demonstrou que animais tratados agudamente com causa um aumento na atividade locomotora e uma diminuição no comportamento de *rearing* e *grooming*. Assim como Réus *et al.* (2018) que usando cetamina como modelo de esquizofrenia na dose de 25 mg/kg, observaram um acréscimo no número de cruzamentos no teste de campo aberto.

Akillioglu *et al.* (2012) inclusive também encontrou uma diminuição no comportamento de *rearing* em camundongos BALB/c; entretanto, observando um aumento em camundongos C57BL/6, se comparados aos BALB/c igualmente tratados com MK-801, sugerindo uma influência genética à resposta a antagonistas de NMDA.

Os resultados de IPP demonstraram que a cetamina foi eficiente em diminuir a porcentagem de inibição pré-pulso dos animais, caracterizando o efeito esquizofrênico-símile, cujo um dos sintomas é a diminuição operacional do filtro sensorio-motor, um sintoma cognitivo (DUNCAN *et al.*, 2003; LE PEN; MOREAU, 2002). Outro estudo, feito por Zugno

et al. (2014), mostrou que o tratamento com cetamina por sete dias na dose de 25 mg/kg, via i.p., induziu o comportamento esquizofrênico-símile observado pelo decréscimo da porcentagem de inibição pré-pulso.

O tratamento com olanzapina foi claramente eficaz. Anteriormente já relatado, pacientes com esquizofrenia tiveram melhoria significativa em suas funções de processamento de informações ao manterem tratamento com clozapina (KUMARI; SONI; SHARMA, 1999). Outro estudo também mostrou que pré-tratamento com olanzapina foi capaz de bloquear a disfunção da inibição pré-pulso em modelo induzido por MK-801 (ZANGRANDO et al., 2013). Embora o tratamento com os extratos de *E.velutina* pareceu ter a tendência a ser efetivo, não foi o suficiente para reverter os valores de IPP% ao patamar do grupo controle. Visto que trabalhos anteriores sugerem um efeito neuroprotetor do extrato de *E. velutina* (MONTE et al., 2014; RODRIGUES et al., 2017), mais estudos precisam ser elaborados para investigar esta condição.

6 CONCLUSÃO

No presente estudo, procurou-se investigar a ação antipsicótica do extrato etanólico de *Erythrina velutina* em protocolo de prevenção de esquizofrenia induzida por cetamina. Os resultados do teste de campo aberto mostraram-se favoráveis à dose de 400 mg/kg do extrato, cuja performance se equiparou ao efeito demonstrado pela olanzapina, droga padrão para tratamento de esquizofrenia. O teste de inibição pré-pulso validou o modelo de esquizofrenia, porém os extratos de *E. velutina* tiveram resultados inconclusivos. Faz-se necessário mais estudos para comprovação dos resultados e investigação de outras variáveis.

REFERÊNCIAS

- AKILLIOGLU, K.; BINOKAY, S.; KOCAHAN, S. The effect of neonatal N-methyl-d-aspartate receptor blockade on exploratory and anxiety-like behaviors in adult BALB/c and C57BL/6 mice. **Behavioural Brain Research**, v. 233, n. 1, p. 157–161, 2012.
- ANIMALS, N. R. C. (US) C. FOR THE U. OF THE G. FOR THE C. AND U. OF L. **Guide for the Care and Use of Laboratory Animals**. 8th. ed. Washington, D.C.: National Academies Press, 2011.
- BARBATO, A. Schizophrenia and public health. **World Health Organization: Division of mental health and prevention of substance abuse.**, p. 1–32, 1998.
- BERNSTEIN, H. G. et al. Brain region-specific changes in the expression of calcium sensor proteins after repeated applications of ketamine to rats. **Neuroscience Letters**, v. 339, n. 2, p. 95–98, 20 mar. 2003.
- BOUTROS, N. N. et al. Negative Symptoms in Schizophrenia. **Clinical Schizophrenia & Related Psychoses**, v. 8, n. 1, p. 28–35B, 21 fev. 2013.
- CARVALHO, A. C. C. S. et al. Evidence of the mechanism of action of *Erythrina velutina* Willd (Fabaceae) leaves aqueous extract. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 122, n. 2, p. 374–378, 18 mar. 2009.
- CHINDO, B. A. et al. Ketamine-enhanced immobility in forced swim test: A possible animal model for the negative symptoms of schizophrenia. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, v. 38, n. 2, p. 310–316, 7 ago. 2012.
- DA SILVA, M. M. B. et al. Anatomy of leaf and stem of *Erythrina velutina*. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 23, n. 2, p. 200–206, 1 mar. 2013.
- DEROZA, P. F. et al. Effect of cigarette smoke exposure in the behavioral changes induced by ketamine. **Schizophrenia Research**, v. 141, n. 1, p. 104–105, 2012.
- DUNCAN, E. et al. Prepulse inhibition of acoustic startle in subjects with schizophrenia treated with olanzapine or haloperidol. **Psychiatry Research**, v. 120, n. 1, p. 1–12, 30 ago. 2003.
- FEIFEL, D.; SHILLING, P. D. Modeling Schizophrenia in Animals. In: CONN, P. M. (Ed.). . **Animal Models for the Study of Human Disease**. 2nd. ed. [s.l.] Elsevier, 2017. p. 587–617.
- FEINSTEIN, I.; KRITZER, M. F. Acute N-methyl-d-aspartate receptor hypofunction induced by MK801 evokes sex-specific changes in behaviors observed in open-field testing in adult male and proestrus female rats. **Neuroscience**, v. 228, p. 200–214, 3 jan. 2013.
- FUSAR-POLI, P. et al. At Risk for Schizophrenic or Affective Psychoses? A Meta-Analysis of DSM/ICD Diagnostic Outcomes in Individuals at High Clinical Risk. **Schizophrenia Bulletin**, v. 39, n. 4, p. 923–932, 1 jul. 2013.
- GONZALEZ-BURGOS, G.; LEWIS, D. A. NMDA Receptor Hypofunction, Parvalbumin-Positive Neurons, and Cortical Gamma Oscillations in Schizophrenia. **Schizophrenia**

Bulletin, v. 38, n. 5, p. 950–957, 1 set. 2012.

GURURAJAN, A.; TAYLOR, D. A.; MALONE, D. T. Effect of testing conditions on the propsychotic action of MK-801 on prepulse inhibition, social behaviour and locomotor activity. **Physiology and Behavior**, v. 99, n. 1, p. 131–138, 12 jan. 2010.

HAUSER, M. J.; ISBRANDT, D.; ROEPER, J. Disturbances of novel object exploration and recognition in a chronic ketamine mouse model of schizophrenia. **Behavioural Brain Research**, v. 332, p. 316–326, 14 ago. 2017.

JOSEPH, B.; NARAYANASWAMY, J. C.; VENKATASUBRAMANIAN, G. Insight in Schizophrenia: Relationship to Positive, Negative and Neurocognitive Dimensions. **Indian Journal of Psychological Medicine**, v. 37, n. 1, p. 5–11, 2015.

KANCHANATAWAN, B. et al. Affective symptoms in schizophrenia are strongly associated with neurocognitive deficits indicating disorders in executive functions, visual memory, attention and social cognition. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, v. 80, p. 168–176, 3 jan. 2017.

KAPUR, S.; SEEMAN, P. Does Fast Dissociation From the Dopamine D2 Receptor Explain the Action of Atypical Antipsychotics?: A New Hypothesis. **American Journal of Psychiatry**, v. 158, n. 3, p. 360–369, 1 mar. 2001.

KUMARI, V.; SONI, W.; SHARMA, T. Normalization of Information Processing Deficits in Schizophrenia With Clozapine. **American Journal of Psychiatry**, v. 156, n. 7, p. 1046–1051, 1 jul. 1999.

LARSON, M. K.; WALKER, E. F.; COMPTON, M. T. Early signs, diagnosis and therapeutics of the prodromal phase of schizophrenia and related psychotic disorders. **Expert Review of Neurotherapeutics**, v. 10, n. 8, p. 1347–1359, 1 ago. 2010.

LE PEN, G.; MOREAU, J. L. Disruption of prepulse inhibition of startle reflex in a neurodevelopmental model of schizophrenia: Reversal by clozapine, olanzapine and risperidone but not by haloperidol. **Neuropsychopharmacology**, v. 27, n. 1, p. 1–11, 1 jul. 2002.

LEVIN, R. et al. Spontaneously Hypertensive Rats (SHR) present deficits in prepulse inhibition of startle specifically reverted by clozapine. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, v. 35, n. 7, p. 1748–1752, 15 ago. 2011.

LIEBERMAN, J. A. et al. Negative Symptoms in Schizophrenia: Relationship to Positive Symptoms and Outcome. In: MARNEROS, A.; ANDREASEN, N. C.; TSUANG, M. T. (Eds.). . **Negative Versus Positive Schizophrenia**. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 1991. p. 109–125.

LIMA, H. C. DE; MARTINS, M. V. **Erythrina**. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB22965>>. Acesso em: 25 nov. 2017.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. 2a. ed. [s.l.] Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 2008.

MARTINS, M. V. **Erythrina velutina Willd**. Disponível em:

<<http://reflora.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB29679>>. Acesso em: 25 nov. 2017.

MENEGATTI, R. et al. Schizophrenia: Forty years of the dopaminergic hypothesis from the medicinal chemistry point of view. **Química Nova**, v. 27, n. 3, p. 447–455, jun. 2004.

MEYER, U.; FELDON, J. Epidemiology-driven neurodevelopmental animal models of schizophrenia. **Progress in Neurobiology**, v. 90, n. 3, p. 285–326, 1 mar. 2010.

MONTE, A. S. et al. P.4.C.005 Effect of flavonoids isolated from *Erythrina velutina* on oxidative stress in mouse brains. **European Neuropsychopharmacology**, v. 24, p. S608–S609, 1 out. 2014.

NINAN, I.; KULKARNI, S. K. Differential effects of olanzapine at dopamine D1 and D2 receptors in dopamine depleted animals. **Psychopharmacology**, v. 142, n. 2, p. 175–181, 1999.

ODA, E. Capítulo 100 - Nasce uma lenda. In: **One Piece**. 1ª ed. São Paulo: Panini Brasil LTDA., 2013. v. 12, p. 7–29.

PIETRASZEK, M. Significance of dysfunctional glutamatergic transmission for the development of psychotic symptoms. **Polish journal of pharmacology**, v. 55, n. 2, p. 133–54, 2003.

PITSIKAS, N.; BOULTADAKIS, A.; SAKELLARIDIS, N. Effects of sub-anesthetic doses of ketamine on rats' spatial and non-spatial recognition memory. **Neuroscience**, v. 154, n. 2, p. 454–460, 23 jun. 2008.

RÉUS, G. Z. et al. The inhibition of the kynurenine pathway prevents behavioral disturbances and oxidative stress in the brain of adult rats subjected to an animal model of schizophrenia. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, v. 81, n. Supplement C, p. 55–63, 2018.

RODRIGUES, F. T. S. et al. Effects of standard ethanolic extract from *Erythrina velutina* in acute cerebral ischemia in mice. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, 2017.

SALGADO, J. V.; HETEM, L. A.; SANDNER, G. Modelos experimentais de esquizofrenia - Uma revisão. **Revista Brasileira de Psiquiatria**, v. 28, n. 2, p. 135–141, 2006.

SIEVER, L. J.; KALUS, O. F.; KEEFE, R. S. The boundaries of schizophrenia. **The Psychiatric clinics of North America**, v. 16, n. 2, p. 217–44, jun. 1993.

SILVA, A. H. **Desenvolvimento e caracterização do extrato de Erythrina velutina para o tratamento de doença neurodegenerativa**. [s.l.] Universidade Federal do Ceará, 2012.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P. A pesquisa e a produção brasileira de medicamentos a partir de plantas medicinais: a necessária interação da indústria com a academia. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 12, n. 1, p. 35–40, 2002.

THOMAS, E. H. X. et al. The influence of the glutamatergic system on cognition in schizophrenia: A systematic review. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 77, p. 369–387, 1 jun. 2017.

- TSOI, D. T.-Y. et al. Humour experience in schizophrenia: relationship with executive dysfunction and psychosocial impairment. **Psychological Medicine**, v. 38, n. 6, p. 801–810, 2008.
- VAN OS, J.; KAPUR, S. Schizophrenia. **The Lancet**, v. 374, n. 9690, p. 635–645, 22 ago. 2009.
- VASCONCELOS, S. M. et al. Central activity of hydroalcoholic extracts from *Erythrina velutina* and *Erythrina mulungu* in mice. **J Pharm Pharmacol**, v. 56, n. 3, p. 389–393, 2004.
- VASCONCELOS, S. M. M. et al. Antinociceptive Activities of the Hydroalcoholic Extracts from *Erythrina velutina* and *Erythrina mulungu* in Mice. **Biological & Pharmaceutical Bulletin**, v. 26, n. 7, p. 946–949, 2003.
- VASCONCELOS, S. M. M. et al. Behavioral study with *Erythrina velutina* fractions. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, v. 2, n. 5, p. 30–33, 1 out. 2009.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. **WHO | Schizophrenia**. Disponível em: <http://www.who.int/mental_health/management/schizophrenia/en/>. Acesso em: 18 nov. 2017.
- YILMAZ, Z. et al. Antipsychotics, dopamine D2 receptor occupancy and clinical improvement in schizophrenia: A meta-analysis. **Schizophrenia Research**, v. 140, n. 1, p. 214–220, 20 nov. 2012.
- YOO, C.-H. et al. Effects of repeated dizocilpine treatment on glutamatergic activity in the prefrontal cortex in an animal model of schizophrenia: An in vivo proton magnetic resonance spectroscopy study at 9.4T. **Neuroscience Letters**, v. 637, p. 57–63, 10 jan. 2017.
- ZANGRANDO, J. et al. Atypical antipsychotic olanzapine reversed deficit on prepulse inhibition of the acoustic startle reflex produced by microinjection of dizocilpine (MK-801) into the inferior colliculus in rats. **Behavioural Brain Research**, v. 257, p. 77–82, 15 nov. 2013.
- ZUGNO, A. I. et al. Omega-3 prevents behavior response and brain oxidative damage in the ketamine model of schizophrenia. **Neuroscience**, v. 259, n. Supplement C, p. 223–231, 2014.