Luciano Kurtz Jornada

EFEITO DO CHOQUE ELETROCONVULSIVO SOBRE OS PARÂMETROS DE ESTRESSE OXIDATIVO EM CÉREBRO DE RATOS

UNESC

Livros Grátis

http://www.livrosgratis.com.br

Milhares de livros grátis para download.

UNIVERSIDADE DO EXTREMO SUL CATARINENSE

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS MÉDICAS

LUCIANO KURTZ JORNADA

EFEITO DO CHOQUE ELETROCONVULSIVO SOBRE OS PARÂMETROS DE ESTRESSE OXIDATIVO EM CÉREBRO DE RATOS

ORIENTADOR: PROF. DR. JOÃO LUCIANO DE QUEVEDO

CO-ORIENTADOR: PROFA. DRA. ELAINE GAVIOLI

DISSERTAÇÃO APRESENTADA AO CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS MÉDICAS, COMO REQUISITO PARCIAL À OBTENÇÃO DO GRAU DE MESTRE EM CIÊNCIAS MÉDICAS

CRICIÚMA MAIO-2006

AGRADECIMENTOS

Aos meus colaboradores nesta jornada;

Professor Dr. João Luciano de Quevedo, pesquisador cuja energia materializa-se num dos currículos mais impressionantes dentre os doutores da nova geração. Foi o homem que me motivou a voltar à vida acadêmica. Às vezes digo que "*me ajudou a fazer as pazes com a ciência*", embora eu seguidamente ainda "*agrida a mesma"*.

Professor Dr. Felipe Dal Pizzol, cuja grandeza transcende a morfologia. Sua doação a este Curso, somada a sua singular inteligência são objeto da minha maior e mais sincera admiração.

Aos demais professores deste programa de pós-graduação, pela presença constante e disposição imperturbável de aperfeiçoamento de nossos trabalhos. Qualidade só encontrada naqueles que tem profundo conhecimento da área e a teimosia de não rejeitar desafios.

Gustavo Feier, colaborador mais assíduo, que sacrificou momentos preciosos de seu tumultuado lazer e estudos para que esse trabalho fosse levado a termo. Seu mérito não cabe somente nas suas incansáveis horas de laboratório e grande conhecimento científico. Sua disponibilidade é incomum, qualidade com a qual esta dissertação foi muito beneficiada.

Aos demais bolsistas do Laboratório de Neurociências da Universidade do Extremo Sul Catarinense, por terem nos recebido de portas abertas no laboratório e proporcionado um ambiente de colaboração no mais virtuoso sentido da palavra. Em especial à Angeles Vitali, Samira Valvassori e Gislaine Réus pela ajuda tanto nos experimentos que deram certo, bem como nos erros que aprendi a ser chamado de tigre.

Aos colegas de mestrado, que dividiram o precioso tempo, as muitas angústias e as pequenas conquistas, neste período da minha formação, em especial aos companheiros de madrugadas e de BR 101.

Aos pacientes (incluindo os "modelos de pacientes") e alunos, os primeiros por voluntária ou involuntariamente me ensinarem muitas coisas e os últimos por me obrigarem a aprender para ensinar algumas coisas.

Não poderia deixar de citar também, meus mais fiéis amigos: Haldol, Ritalina, Zoloft, Dopamina, Clozapina, Benedita, Tampinha, Maria... que estão sempre a minha disposição.

Aos meus pais, que mesmo distantes me apontaram muitos caminhos.

Por último, mas também poderia ser primeiro, à Carolina, pelo carinho, dedicação, amor e por dar sentido a isso tudo.

ÍNDICE

PARTE I

1. Resumos

1.1 Resumo em Português..... 6

1.2 Resumo em Inglês (abstract)..... 7

2. Lista de Abreviaturas 8

3. Introdução

3.1 Eletroconvulsoterapia..... 9

3.2 Histórico..... 10

3.3 Aspectos Sócio-Culturais..... 11

3.4 Aspectos Clínicos.....13

3.5 Aspectos da Técnica..... 15

3.6 Efeitos Neurobiológicos da ECT..... 16

3.7 Espécies Reativas de Oxigênio e Estresse Oxidativo..... 20

3.8 Sistemas de Defesa Antioxidantes..... 23

3.9 Problema..... 24

4. Objetivos do trabalho..... 25

PARTE II

1. Artigo "Long Lasting Effects of Electroconvulsive seizures on Brain Oxidative Parameters".....27

2. Artigo "Effects of Maintenance Electroshock on the Oxidative Damage Parameters in the Rat Brain"..... 34

PARTE III

1. Sistema Nervoso Central e Estresse Oxidativo..... 53

2. Efeitos tardios em parâmetros oxidativos do cérebro após ECS..... 54

3. Efeitos em parâmetros oxidativos do cérebro de ratos após ECSM..... 56

4. Conclusões 58

REFERÊNCIAS..... 59

PARTE I

1. RESUMOS

1.1. Resumo em Português

A eletroconvusoterapia (ECT) é amplamente usada para tratar transtornos psiquiátricos desde os anos 30. É um tratamento seguro e efetivo para depressão, transtorno bipolar e alguns casos de esquizofrenia. Embora vários avanços tenham ocorrido nos últimos 20 anos no refinamento do uso e administração de ECT para minimizar efeitos colaterais do tratamento, pouco progresso tem se obtido na compreensão dos mecanismos envolvidos na resposta terapêutica e efeitos adversos. Apesar disso, críticos ainda vêem o método como potencialmente danoso e capaz de provocar lesões cerebrais, fatos que carecem de comprovação científica. Nesta dissertação utilizamos modelos de choque eletroconvulsivo (ECS) e simulação de ECS (SHAM) em ratos para investigar marcadores de estresse oxidativo tardio em tecido cerebral. Ratos Wistar machos com 250-300g foram alocados a dois estudos. No primeiro, denominado seguimento tardio, os indivíduos receberam um modelo tradicional de choque agudo e crônico (8ECS), sendo sacrificados após 45, 60, 90 e 120 dias do protocolo de ECS. Foram medidos parâmetros oxidativos no hipocampo, córtex e estriado. No segundo modelo, chamado manutenção, os ratos receberam choques eletroconvulsivos reproduzindo um tratamento de manutenção (ECSM) e foram sacrificados 0, 48 horas ou 7 dias após protocolo ECSM. Foram medidos parâmetros oxidativos nas áreas cerebrais: hipocampo, córtex, cerebelo e estriado. No seguimento tardio foi encontrado algum aumento na peroxidação de lipídeos após ECS crônico no hipocampo e estriado. Houve também maiores taxas de carbonilação de proteínas no protocolo agudo e crônico. Neste estudo, foi demonstrado aumento de catalase no córtex em contraste com diminuição no estriado e hipocampo, que foram menores em diferentes tempos após protocolo agudo e crônico. A Superóxido Dismutase diminuiu em diferentes tempos apenas após protocolo crônico no hipocampo. Na manutenção, após o termino do, não houve indicação de dano a lipídeos e proteína em nenhuma das quatro estruturas, inclusive com diminuição de peroxidação de lipídeos em cerebelo e hipocampo e redução de carbonilação em cerebelo e córtex. Em conclusão, os resultados do primeiro experimento apóiam a proposta de que o choque eletroconvulsivo produz algum dano neural tardio, mas os resultados não foram observados no segundo, modelo de Eletroconvulsoterapia de Manutenção. Neste último houve maior número de ECS e não houve dano, o que sucita a possibilidade do choque eletroconvulsivo produzir alguma atividade de natureza protetora.

1.2. Abstract

Electroconvulsive therapy is widely used to treat certain psychiatric disorders since 1930s. Is an effective and safety treatment for depression, bipolar disorder and for same cases of schizophrenia. Although several advances has occurred over the past 20 years concerning refining the use and administration of electroconvulsive therapy to minimize side effects of this treatment, little progress has been made in understanding the mechanisms underlying its therapeutic or adverse effects. In spite of that, critics still look at the method as potentially injurious and capable of inducing brain lesions, facts that lack the support of scientific evidence. In this dissertation we used models of electroconvulsive shock (ECS) and simulated ECS (SHAM) in rats to investigate its effects on markers of long term oxidative stress in the rat brain. Wistar male rats of 250-300g were assigned to two studies. In the first, named follow-up long lasting, the individuals received a traditional model Acute (1ECS) and Cronic (8ECS), and were subsequently sacrificed at 45, 60, 90 and 120 days after convulsion. We measured oxidative parameters in hippocampus, cortex, and striatum. In the second model, named maintenace, the rats received a mimicking therapeutic of maintenance and were subsequently sacrificed 0, 48 hours and 7 days after a maintenance electroconvulsive shock protocol. We measured oxidative parameters in hippocampus, cortex, cerebellum, and striatum. In long lasting, we demonstrated same increase in lipid peroxidation after multiple ECS in the hippocampus and striatum. This was also the case for protein carbonyls in the single or multiple protocols. In this way, we demonstrated an increase on activity of catalase in cortex in contrast to striatum and hippocampus, were there were decreases sometimes in chronic ECS. The superoxide dismutase activities decrease in different times after single and multiple ECS in the hippocampus only. In Maintenance, after the end of protocol, we demonstrated no alteration in the lipid peroxidation and protein damage in the four structure, inclusive was decrease lipid peroxidation in cerebellum and hippocampus and decreased protein carbonyls in cerebellum and cortex. In conclusion, the results of our first experiment support the proposal that the electroconvulsive shock produce any neural injury, but this results not were observed in the second, the maintenance model of electroconvulsive shock. Probably, were more number of ECS than first and does not have injury, what can support the proposal that the electroconvulsive shock produce activity of a protective nature.

2. LISTA DE ABREVIATURAS

BDNF – Fator neurotrófico derivado do cérebro (b*rain-derived neurotrophic factor)*

CAT - Catalase

DNPH - Dinitrophenylhidrazine

ECS – Choque eletroconvulsivo (*electroconvulsive schok*)

ECSM – Choque eletroconvulsivo de manutenção (*electroconvulsive schok maintenance*)

ECT – Eletroconvulsoterapia

ECTM – Eletroconvulsoterapia de Manutenção

FGF-2 – *basic fibroblast growth factor*

GABA – Ácido gama-aminobutírico

GFAP – Proteína glial fibrilar ácida (*glial fibroblast acid protein*)

IEGs – *immediate early genes*

N-CAM – Molécula neuronal de adesão celular (*Neural-cecular adesion molecule*)

NMDA – N-metil-D-aspartato

RNA – Ácido ribonucleico

ROS – Espécies reativas de oxigênio (*reactive oxigene species*)

SNC – Sistema nervoso central

SOD - Superóxido dismutase

TBARS – Espécie reativa de ácido thiobarbitúrico (*Thiobarbituric Acid Reactive Species)*

5-HT – Serotonina (5-Hidróxi-Triptamina)

3. INTRODUÇÃO

3.1. Eletroconvulsoterapia (ECT)

Está próximo de completar 70 anos que a eletroconvulsoterapia (ECT) foi utilizada pela primeira vez, porém ela ainda continua a ter um importante papel terapêutico no tratamento de vários transtornos psiquiátricos. A ECT é um tratamento eficaz, com resultados superiores a simulação de ECT (realização dos mesmos procedimentos exceto passagem de corrente pelo cérebro e conseqüente convulsão), e também superior a emprego de psicofármacos tradicionais em pacientes com transtorno depressivo maior (Janicak et al,1988; Carney et al , 2003) e episódios maníacos (Small et al, 1988; Sikdar et al 1994), bem como útil para alguns casos de esquizofrenia refratária, testada em combinação com antipsicóticos de primeira geração (Klapheke, 1993; Champattana & Chakrabhand, 2001) e com clozapina – um antipsicótico de segunda geração (Fink, 1998 ; Kupchik et al, 2000).

É um procedimento que consiste na indução de convulsões generalizadas, com duração de 20 a 150 segundos, pela passagem de corrente elétrica pelo cérebro (Sadock & Sadock, 2000). É uma terapia considerada benéfica, embora apresente alguns efeitos adversos cardio-circulatórios, convulsão e apnéia prolongada, cefaléia, dores musculares, náusea, precipitação de surto maníaco e disfunções cognitivas. Estes efeitos têm sido minimizados através de uma avaliação clínica individualizada dos pacientes e adaptações da técnica (APA, 2001), permanecendo um dos mais importantes efeitos colaterais, as disfunções cognitivas (Rami-Gonzales et al, 2001). Existem teorias de que os déficits cognitivos poderiam refletir dano cerebral (Friedberg, 1977; Breggnin, 1993), no entanto investigações não têm encontrado resultados que suportem a hipótese de dano cerebral (Devanand et al., 1994; Zachrisson et al., 2000).

É comum a ocorrência de recaída após um breve período ou recorrência após um longo tempo de sucesso de um curso de ECT. Com isso, tem sido empregada a continuação e a manutenção de ECT (Bourgon & Kelner, 2000; Sackeim et al, 1990). Um número menor de estudos igualmente sugere eficácia e segurança do tratamento ambulatorial prolongado, após sucesso na fase aguda(remissão dos sintomas). Este tipo de terapia visa à prevenção de recaída (continuação) e recorrência (manutenção) (Andrade & Kurinji, 2002; Sackeim et al, 2001). Na prática, a distinção entre continuação e manutenção é arbitrária (Fink et al, 1996). O presente texto empregará o termo mais genérico, eletroconvulsoterapia de manutenção (ECTM), para o tratamento prolongado ou estendido após a resolução agudo do episódio da doença.

3.2. Histórico

O início do desenvolvimento da ECT foi em 1934, com o tratamento bem sucedido da catatonia e de outros sintomas esquizofrênicos empregando-se convulsões induzidas com monobrometo de cânfora (Meduna, 1985). Von Meduna utilizou esse método de tratamento com base nas observações prévias de que os sintomas esquizofrênicos freqüentemente diminuíam após uma convulsão e de que, conforme se supunha incorretamente, a esquizofrenia e a epilepsia não poderiam coexistir em um mesmo paciente, de modo que a indução de convulsões poderia “livrar” o paciente da esquizofrenia. A cânfora foi em seguida substituída por pentilenotetrazol, mas a agonizante fase de espera pela crise convulsiva e o mal estar profundo do paciente nesse período levam a procurar outros métodos de indução da crise convulsiva (Thuillier, 1999). Posteriormente, em abril de 1938, Ugo Cerletti e Lucio Bini relataram que convulsões poderiam ser induzidas com segurança em humanos por um estímulo elétrico (Cerletti, 1940), inaugurando assim o

emprego médico da ECT. Os principais problemas associados à ECT foram os desconfortos dos pacientes devido ao procedimento e às fraturas decorrentes da atividade motora durante a convulsão. Essas intercorrências foram eliminadas pelo uso da anestesia geral e dos relaxantes musculares durante o procedimento (Busnello, 1995).

No Brasil, Álvaro Murillo da Silveira introduziu a eletroconvulsoterapia em 1942, no Hospital Psiquiátrico São Pedro (Porto Alegre – RS), usando um aparelho construído pelo engenheiro Olmiro Ilgenfritz (Busnello, 1995). Nos anos 1960 e 70, há uma marcada diminuição na utilização da ECT, não só pelo advento da psicofarmacologia, mas principalmente pelo movimento antipsiquiátrico, que influenciou as elites universitárias gerando um sentimento de desconforto e raiva na sociedade contra as internações psiquiátricas e a psiquiatria de um modo geral. Nos Estados Unidos, houve uma queda de 46% no uso de ECT, entre os anos de 1975 a 1980 foi demonstrado em um levantamento do National Institutes of Mental Health (Thompson et al., 1994). Recomenda-se que a ECT seja realizada por centros de referência, em bloco cirúrgico com a presença de anestesista, psiquiatra e enfermeira, após criteriosa avaliação de sua indicação e riscos (Eranti e McLoughlin, 2003). Atualmente, caracteriza-se claramente má prática médica, sua realização em enfermarias psiquiátricas com pacientes acordados ou apenas sedados, sem toda uma equipe técnica, investigação e preparação do paciente.

3.3. Aspectos Sócio-Culturais

Talvez não exista outro método tão controverso quanto a ECT. Embora sua eficácia e segurança tenha sido demonstrada em muitas condições psiquiátricas (APA, 2001; McCall et al, 1999) e muitos pacientes tenham declarados satisfeitos com os resultados (Taieb et al,

2001 ; Iodice et al, 2003) , permanece uma imagem negativa na mídia (Freeman & Cheshire, 1986 ; McDonald & Walter, 2001) e população Geral (Lauber et al, 2005).

Ao longo de sua história, as indicações para uso da ECT têm sido ditadas não pelos resultados que demonstra em estudos clínicos, mas pela percepção do público, meio cultural, inclinações dos profissionais que lidam com transtornos mentais graves e peculiaridades da legislação local (Winslade et al, 1984). A mídia, em diversas partes do mundo e no Brasil não é diferente, comumente reporta-se somente a ECT realizada sem anestesia, sem muitos critérios clínicos, não raramente como método puramente punitivo e causador de danos grosseiros e irreparáveis .

Dados demonstram que há, proporcionalmente, um maior emprego de ECT em membros de classe média e alta (Babigian & Guttmacher, 1984), hospitais privados do que públicos (Thompson & Blaine, 1987) e em centros acadêmicos (Hermann et al, 1994), também, negros são sub-representados entre aqueles que recebem ECT (Thompson et al, 1994). A eficácia, principalmente em tratamentos de quadros depressivos e, de certa forma, o seu subemprego foi citado em consagrados periódicos, podendo-se citar: uma revisão sistemática e meta-análise publicada no The Lancet (Carney et al. 2003), bem como os editoriais do The New England Journal of Medicine (Potter & Rudorfer,1993) e British Journal of Psychiatry (Eranti & McLoughlin, 2003) .

Isso nos faz pensar, que atualmente a terapia eletroconvulsiva tem colaborado para exclusão social de uma forma oposta de algumas idéias de senso comum, em determinadas circunstâncias, classes menos privilegiadas tem tido menos acesso a um tratamento seguro e eficaz.

3.4. Aspectos Clínicos

O relatório da força tarefa americana em ECT identificou populações de pacientes para os quais o tratamento é particularmente benéfico e indicado (APA, 2001), não sendo um tratamento de exceção, foi considerando a ECT como primeira escolha quando:

- Há necessidade de uma melhora rápida e consistente, seja por complicações clínicas ou psiquiátricas;
- Os riscos de outros tratamentos são maiores do que os riscos da ECT;
- Existe uma história prévia de resposta pobre a drogas e/ou boa resposta prévia à ECT;
- O paciente prefere esse tipo de tratamento.

Ainda de acordo com a mesma Associação (APA,2001), os critérios para indicação de ECT como o tratamento de segunda escolha são:

- Ausência de resposta terapêutica adequada;
- Efeitos colaterais graves e inevitáveis ou maiores do que podem ser provocados pela ECT;
- Deterioração do quadro clínico psiquiátrico.

Não há contra-indicações absolutas à ECT, entretanto, algumas condições clínicas podem aumentar o risco de complicações da ECT, devendo, então, haver uma avaliação mais precisa do caso e medidas necessárias para a realização do procedimento (Fiegel et al., 1998). Essas condições abrangem: infarto agudo do miocárdio; qualquer condição clínica que aumente a pressão intracraniana; doenças hemorrágicas; aneurismas; glaucoma; hipo ou hipercalcemia; hipertensão arterial sistêmica grave não tratada; condições médicas que podem romper a barreira hematoencefálica (AVC recente, esclerose múltipla).

Todos os pacientes que irão se submeter a ECT devem assinar um termo de consentimento o qual deve incluir a natureza e a gravidade do transtorno psiquiátrico, seu curso provável sem ECT, a natureza do procedimento, o risco e o benefício e as alternativas terapêuticas, incluindo a opção de não tratar o problema.

A taxa de mortalidade da ECT é de 0,002% por sessão e 0,01% por paciente. As alterações mais freqüentes são cardiovasculares e do sistema nervoso central. Cerca de 75% dos óbitos que ocorrem imediatamente após a ECT são de causa cardiovascular. A maioria dos efeitos colaterais é transitória e benigna (Sadock & Sadock, 2000; APA,2001). Os efeitos sobre a memória, geralmente transitórios, possivelmente sejam a maior fonte de pressões negativas quanto ao tratamento. A ECT está associada adificuldades de recordação (amnésia retrógrada) e déficit de novos aprendizados (amnésia anterógrada) (Andrade et al, 2002a; Rami-Gonzalez et al, 2001). Todavia, ressaltamos que existem relatos de amnésia permanente para eventos ocorridos próximos aos dias do tratamento (Squire & Slater, 1983).

Após sucesso no curso de ECT tende-se a instituir uso de psicofármacos, a limitação tem sido altas taxas de recaída ou intolerância a medicação (Sackeim el al, 1990 ; Grunhaus, Pande e Haskett, 1990). Em ambas situações a ECTM tem sido uma opção de escolha (Andrade & Kurinji, 2002). O uso a longo termo, ECTM, tem gerado questionamentos acerca do comprometimento cognitivo. Embora, efeitos colaterais sobre a memória têm sido associados ao número de seções, não têm sido relatados efeitos cognitivos severos em pacientes com longos períodos de ECTM (Wijkstra & Nolen,2005). Apesar da ausência de estudos controlados, de longa duração, não existe evidência de um número máximo de tratamentos (Barnes et al, 1997).

3.5. Aspectos da Técnica

A disposição dos eletrodos pode ser unilateral ou bilateral, estando esta última associada na maioria dos estudos a melhor resposta clínica, porém há maiores taxas de comprometimento cognitivo (Carney et al., 2003). Entretanto um ensaio randomizado controlado (Sackeim, Prudic e Devanand, 2000) achou eficácias semelhantes quando empregadas dosagens elevadas. A forma de onda elétrica empregada pode ser sinusoidal ou de pulso breve, estando esta última associada a melhor recuperação dos efeitos cognitivos (Carney et al., 2003).

As seções (ou tratamentos) são geralmente administradas no início da manhã, em dias alternados, três vezes por semana (Fiegel et al., 1998), podendo ser empregado duas vezes por semana ou diariamente, conforme efeitos colaterais ou urgência de resposta (APA, 2001). O número de seções de ECT é variável, sendo avaliado por meio da resposta clínica. Em média em um curso de tratamento são necessárias de 8 a 12 sessões. Contudo, alguns pacientes necessitam até 20 seções de terapia eletroconvulsiva para remissão dos sintomas. Esta fase do tratamento agudo habitualmente é descrita como um curso de ECT (derivado da expressão *ECT Course*).

ECTM refere-se ao tratamento com intervalos de uma semana a um mês, administrado após sucesso em um curso de ECT. Comumente as seções ficam semanais no primeiro mês, quinzenais no segundo e, a partir do terceiro, uma vez ao mês (Andrade & Kurinji, 2002). Existem relatos e série de casos com períodos prolongados com sucesso, incluindo o de uma senhora de 77 anos, que se submeteu a ECM por mais de sete anos (Wijkstra & Nolen, 2005) e outro paciente que foi submetido a 1250 tratamentos sem evidência de comprometimento cerebral (Lippman et al 1985).

3.6. Efeitos Neurobiológicos da ECT

Os mecanismos de ação (eventos neurobiológicos implicados nos efeitos positivos) da ECT permanecem obscuros, isso não deve ser uma surpresa, visto que a informação sobre muitos transtornos psiquiátricos ainda é muito incompleta. Mais de cem teorias já propostas para explicar os benefícios terapêuticos do ECT. Elas variam de hipóteses de processos psicológicos e psicodinâmicos a alterações em neurotransmissores, efeitos neuroendocrinos, alterações em sistemas de segundos mensageiros e expressão gênica (Sackeim, 1994). Os fatos disponíveis têm demonstrado ser muito mais fácil descobrirem-se alterações em diversos sistemas fisiológicos do que acusar precisamente quais dessas respondem pela eficácia do ECS. Obviamente, um evento tal qual a crise convulsiva, ainda mais provocada pela aplicação de uma descarga elétrica direta, é a manifestação dramática de uma diversidade de processos bioquímicos subjacentes.

A problemática na identificação dos mecanismos de ação do ECT recai no fato de que o ECT afeta muitos sistemas no sistema nervoso central, alem da dificuldade de definir neuroquimicamente as doenças para as quais é empregado. Dessa forma, a estimulação eletroconvulsiva (ECS), aplicada experimentalmente a animais tem sido largamente utilizada como um modelo de ECT (Green & Nutt, 1987). Os modelos de ECS crônico (3 a 8 seções) e agudo (1 seção) são rotineiramente publicados e aceitos como o equivalente animal da ECT em humanos (Cereser et al, 2006; Wennstrom et al, 2006; Hellsten et al, 2005). A técnica mais comum, e também a utilizada neste estudo, consiste da colocação de dois clipes, um em cada orelha da cobaia. Para que o circuito elétrico seja fechado a corrente tem que necessariamente passar pelo cérebro do animal, tal qual ocorre nas descargas elétricas num procedimento de ECT em humanos. Os parâmetros do estímulo elétrico são 150 volts, 60 hertz, por dois segundos (Barrichelo et al, 2004). Choques dentro

dessas especificações são capazes de induzir nos animais uma crise convulsiva tônico-clônica, generalizada, muito semelhante a que o procedimento de ECT induz em humanos.

Dentre as alterações endócrinas, a prolactina foi um dos hormônios mais investigados. Ela é liberada de maneira aguda após cada aplicação, atingindo um pico em 15 a 30 minutos (Whalley et al., 1987). O eixo hipotálamo-hipofise-tireóide demonstra um rápido aumento nos níveis de Hormônio Tireoestimulante (TSH) logo após o ECS. Esse aumento diminui a cada choque, o que pode ser relacionado com a também decrescente duração das convulsões ao longo das diversas sessões de tratamento. Esse fenômeno é comum à maioria dos cursos de ECT, não se relacionando com desfecho clínico (Papakostas et al., 1990).

Outra teoria do mecanismo de ação da ECT, a hipótese diencefálica, assume que a resposta da ECT está relacionado com a estimulação das estruturas subcorticais que regulam a atividade do eixo endócrino hipotálamo-hipófisário. A estimulação desse sistema resultou na liberação de hormônios hipofisários como a adrenocorticotrofina (ACTH), tirotrofina, prolactina, ocitocina e vasopressina. Este eixo neuroendócrino é extensamente estudado em depressão, e é controlado por vários sistemas de neurotransmissores que podem estar envolvidos no desenvolvimento da doença (Esel et al., 2002).

O metabolismo cerebral de glicose e o fluxo sangüíneo cerebral foram avaliados em animais e humanos submetidos a ECT (Obergriesser et al., 2003; Sartorius et al., 2003). Estudos em ratos demonstraram significante redução no metabolismo da glicose um dia após o último ECS (Ackermann et al., 1986). Do mesmo modo, em humanos, uma diminuição nos índices metabólicos foi demonstrada após um curso de ECT (Obergriesser et al., 2003). Um estudo conseguiu demonstrar correlação entre melhor taxa de remissão de

episódio depressivo e diminuição no metabolismo cerebral de glicose imediatamente após a última aplicação da série de ECSs (Ackermann et al., 1986).

Em animais, o uso do eletrochoque foi reportado como potenciador serotoninergico nos neurônios corticais (De Montigny et al., 1984). Foi demonstrado que o receptor 5-HT_{1A} foi potencializado após repetição de ECSs em ratos (Ishiara & Sasa, 1999) e houve um aumento na densidade do receptor no giro dentado do hipocampo (Hayakawa et al.,1994).

Estudos prévios sugerem que a ECT promove alterações duradouras na expressão gênica. Estas alterações na atividade genômica são mediadas por *immediate early genes* (IEGs) que funcionam como código para a transcrição de fatores via estímulos extracelulares na futura expressão de genes (Duman & Hosoda, 1992). Um único ECT resulta em rápido aumento na expressão de IEGs, incluindo c-fos e, ECT crônica resulta em redução de c-fos. Isto é possível porque a ECT crônica modifica o sistema 5HT em particular $5HT_{2A}$, via IEGs como a própria c-fos (Moorman et al., 1996). O *basic fibroblast growth factor* (FGF-2) está implicado na diferenciação de progenitores celulares de neurônios, astrócitos e oligodendrócitos, sendo encontrado, também, na formação de novas sinapses, além de ter um efeito neuroprotetor. Após convulsões induzidas por ECT, ocorre aumento na expressão de RNAm para FGF-2 no hipocampo, que permanece por muitas horas após a convulsão (Gwinn et al., 2002).

Estímulos elétricos induzem ativação de proteínas de regulação associadas ao citoesqueleto (Yamagata et al., 2002). É levantada a possibilidade de que muitos tratamentos antidepressivos, incluindo a ECT, regulem fatores neurotróficos. A sinapsina é uma proteína associada às vesículas sinápticas, tendo um papel regulador na liberação de neurotransmissores, e também na organização da arquitetura do citoesqueleto no terminal pré-sináptico (Yamagata et al., 2002; Yamagata, 2003). Essa proteína é fosforilada por

várias proteínas quinases. A ECT induz uma mudança bidirecional na fosforilação da sinapsina. Imediatamente após a convulsão, ocorre um rápido aumento na desfosforilação da sinapsina, o que implica em uma maior rigidez na organização da actina-citoesqueleto que modula a liberação de vesículas sinápticas. Este fato impede que ocorra uma liberação maciça de neurotransmissores na fenda sináptica, provocada pela ECT, promovendo, assim, um efeito protetor. No entanto, alguns minutos após a convulsão ocorre um aumento na fosforilação da sinapsina, desaparecendo a rede de actina e aumentando a liberação de neurotransmissores e, possivelmente induzindo plasticidade neural, tal como uma reorganização sináptica (Yamagata et al., 2002; Yamagata, 2003).

Estudos já comprovaram previamente a existência de um aumento de moléculas de adesão celular neuronal (N-CAM), as quais são envolvidas na sinaptogênese, seguido de uma série de ECSs em ratos sob condições experimentais (Kragh et al., 1993). Isso sugere que os novos circuitos não são somente formados entre neurônios pré-existentes, mas podem também envolver um grande número de novos neurônios. A proliferação, diferenciação e sobrevivência de neurônios granulares do giro dentado são influenciados por condições fisiológicas e ambientais.

A eletroconvulsoterapia, o procedimento pode causar diminuição na memória, caracterizando a amnésia retrógrada e anterógrada, podendo ser explicadas por uma redução no número de receptores muscarínicos em diversas regiões do cérebro (Gleiter & Nutt, 1989). Adicionalmente, mudanças no sistema glutamatérgico podem estar vinculadas (Chamberlin & Tsai, 1998). De acordo com essas hipóteses, a ECT causa um insulto neuronal por excessiva liberação de aminoácidos excitatórios e ativação de seus receptores. Esses insultos no hipocampo durante as sessões de ECT provavelmente são importantes para a disfunção no processo de consolidação da memória. Além disso, a ECT aumenta a

afinidade no sítio de ligação de receptores 5-HT_{2A}, sendo que a estimulação da neurotransmissão serotoninérgica prejudica o processo de aprendizado e memória (Erakovic et al., 2001).

A peroxidação de lipídeos, indicador de estresse oxidativo, foi alterada em tecido cerebral de ratos em convulsões induzidas por pilocarpina e ácido kainico (Dal-Pizzol et al., 2000). Diferentemente, até 30 dias após ECS (uma seção e curso de 8 seções), não foi encontrado evidência de dano oxidativo (Barrichello et al, 2004 a, Barrichello et al., 2004 b). Estas pesquisas, realizada no nosso laboratório, inclusive foi achado aumento na atividade de enzimas antioxidantes.

3.7. Espécies Reativas de Oxigênio (ROS) e Estresse Oxidativo

A necessidade do O_2 obscurece o fato de que é um gás potencialmente tóxico e mutagênico oferecendo sérios riscos, as espécies aeróbicas sobrevivem devido a defesas antioxidantes que as protegem. Os efeitos dos danos em organismos aeróbicos variam consideravelmente com o tipo de organismo, a idade, estado fisiológico e a dieta. A toxicidade do oxigênio é influenciada pela presença na dieta de variadas quantidades de vitaminas A, E, e C, metais tais como Zinco, Cobre e Ferro, antioxidantes sintéticos e ácidos graxos poliinsaturados (Halliwell & Gutteridge, 1999).

Para formar o oxigênio molecular O2, os dois elétrons do subnível p de um oxigênio fazem intercâmbio com os dois elétrons de outro oxigênio, formando um composto estável com 12 elétrons na última camada (L). Em condições fisiológicas do metabolismo celular aeróbico, o O_2 sofre redução tetravalente, com aceitação de quatro elétrons, resultando na formação de água, durante este processo são formados intermediários reativos como os radicais superóxido (O_2- •), hidroperoxila (HO_2•), hidroxila (OH), e o peróxido de

hidrogênio (H_2O_2) (Ferreira & Matsubara, 1997; Cuzzocrea et al, 2001), conforme figura1. Normalmente a redução completa do O_2 ocorre na mitocôndria, e a reatividade das ROS é neutralizada pela entrada de quatro elétrons (Cohen, 1989).

O radical superóxido reage com alvos biológicos, sendo que o efeitos nos tecidos é resultado da formação secundaria de novos radicais livres em adição à reação do superóxido com lipídios, catecolaminas (Macarthur et al, 2000), e Dna (Dix et al,1996).
O H2O2 é capaz de atravessar camadas lipídicas, podendo reagir com a membrana eritrocitária e com proteínas ligadas ao ferro, sendo assim altamente tóxico para as células, podendo ser aumentada esta toxicidade em presença de ferro (Eaton,1991). O radical mais reativo proposto muitos anos atrás é o HO_2**•-,** produzido pela interação do O_2– • e H_2O_2 pela reação química conhecida como Haber-Weiss, traços do metal ferro na forma de íons, reage com H_2O_2, produzindo o radical hidroxil, o íon ferro não esta presente em vivo, mas os íons são produzidos pela ação do superóxido sobre os íons ferro armazenados em proteínas (Cuzzocrea et al,2001).

O cérebro consome grandes quantidades de oxigênio, em torno de 20% do oxigênio consumido pelo corpo todo, 160 μmol por 100g do peso cerebral por minuto (Magistretti et al,1999). Pelo constante uso do oxigênio nas mitocôndrias para suprir a energia necessária são gerados os radicais livres, tornado o cérebro particularmente suscetível ao estresse oxidativo (Gilgun-Sherki et al., 2002). As ROS tem sido foco de interesse como possíveis candidatos para a elucidação de varias respostas na patogênese do dano agudo do sistema nervoso central e como alvo terapêutico (Bromont et al., 1989, Oliver, et al., 1990), é bem conhecido que as células gliais são mais resistentes ao estresse oxidativo do que os

neurônios, provavelmente devido a *up regulation* da síntese de glutationa (Rice & Russo-Mena, 1998; Iwata-Ichikawa et al., 1999).

Quando existe um aumento na produção ou diminuição das defesas antioxidantes existe uma condição chamada de estresse oxidativo, em que os radicais livres em excesso começam a produzir danos a lipídios, proteínas, DNA, carboidratos (Halliwell & Gutteridge, 1999), inibição das enzimas da cadeia respiratória mitocondrial, inativação do gliceraldeido-3-fosfato dehidrogenase, inibição da atividade da SÓDIO/POTÁSSIO ATPase na membrana plasmática (Cuzzocrea, et al.,2001), levando a subseqüente morte celular pela necrose ou apoptose (Evans,1993). A capacidade das células em diminuir os efeitos do estresse oxidativo é determinada pelo balanço entre as quantidades de espécies oxidantes geradas e a capacidade dos processos metabólicos de sintetizar antioxidantes (Beutler,1989).

O estresse oxidativo gerado tem sido implicado principalmente no mecanismo neuronal de várias patologias cerebrais, incluindo doença de Alzheimer (Calabrese et al., 2003), isquemia cerebral, doença de Parkinson, esclerose lateral amiotrófica familiar, transtorno degenerativo dos neurônios motor (Ames et al.,1993, Moosmann & Behl, 2002), doença de Huntington, esquizofrenia (Rao & Balachandran,2002), Ataxia de Friedreich, citopatologias mitocondriais e outras doenças neuromusculares (Baker & Tarnoplski, 2003). Indicado também como potencial contribuinte para patologias agudas do sistema nervoso central, após dano por acidente hemorrágico cerebral, as espécies ativas de oxigênio podem aumentar muitas vezes ocorrendo danos teciduais por diferentes caminhos molecular e celulares (Gilgun-Sherki et al.,2002).

3.8. Sistemas de defesas antioxidantes

Existem distintas estratégias celulares de defesa contra os processos mediados pelas espécies ativas de oxigênio que incluem defesas enzimáticas e não enzimáticas. Entre as defesas enzimáticas encontramos a superóxido dismutase (SOD) e catalase conforme esquema abaixo (Halliwell & Gutteridge,1999):

$$\left.\begin{array}{l} O_2^{-\bullet} + O_2^{-\bullet} + 2H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2 \\ \text{Enzima-}Cu^{2+} + O_2^{-\bullet} + 2H^+ \rightarrow \text{Enzima-}Cu^{+} + O_2 \\ \text{Enzima-}Cu^{+} + O_2^{-} + 2H^+ \rightarrow \text{Enzima-}Cu^{2+} + H_2O_2 \end{array}\right\} \text{CuZnSOD}$$

$$\left.\begin{array}{l} Mn(III) + O_2^{-\bullet} \leftrightarrow [Mn(III) - O_2^{-\bullet}] \rightarrow Mn^{+2} + O_2 \\ Mn^{+2} + O_2^{-\bullet} \leftrightarrow [Mn^{+2} - O_2^{-\bullet}] \rightarrow Mn(III) + H_2O_2 \end{array}\right\} \text{MnSOD}$$

$$\left.H_2O_2 \rightarrow 2\,H_2O + O_2\right\} \quad \text{Catalase}$$

Nos animais as CuZnSODs estão amplamente distribuídas e compreendem um total de 90% do total das SODs, a maioria da CuZnSOD está localizadas no citosol, algumas aparecem nos lisossomos e núcleo (Halliwell & Gutteridge,1999, Desideri & Falconi 2003). Esta enzima que requer Cobre e Zinco para a sua atividade, tem grande significado fisiológico e potencial terapêutico. As subunidades estão estabilizadas por uma ligação dissulfeto entre cadeias. Esta enzima requer Cu e Zn para a sua atividade biológica e a perda do Cu resulta em completa inativação levando em muitos casos ao desenvolvimento de doenças em humanos (Noor et al., 2002). A MnSOD está amplamente distribuída nas mitocôndrias. A remoção do Mn do sitio de atividade da MnSOD causa perda da atividade

catalítica (Halliwell & Gutteridge,1999, Noor et al.,2002). A SOD converte superóxido em peróxido de hidrogênio e representa a primeira linha de defesa contra a toxicidade do oxigênio (Gilgun-Sherki et al.,2002).

A catalase em mamíferos é uma hemeproteína de ampla distribuição tecidual, localizada em organelas subcelulares conhecidas como peroxissomos. Contém quatro subunidades proteicas, cada qual contém um grupo heme com Fe ligado ao sítio ativo. Forma uma reação altamente eficiente com peróxido de hidrogênio, seu único substrato, para formar água e oxigênio molecular (Halliwell & Gutteridge,1999; Llesuy et al.,2002).

3.9. Problema

O cérebro consome grandes quantidades de oxigênio, em torno de 20% do oxigênio consumido pelo corpo todo, 160 μmol por 100g do peso cerebral por minuto (Magistretti et al.,1999). Pelo constante uso do oxigênio nas mitocôndrias para suprir a energia necessária são gerados os radicais livres, tornado o cérebro particularmente suscetível ao estresse oxidativo (Gilgun-Sherki et al., 2002).

Não foi encontrado na literatura revisada dados sobre efeitos tardios de atividade oxidativa da ECT. Tanto em modelos clínicos quanto animais, não dispomos de dados sobre estressse oxidativo dos tecidos cerebrais em períodos superiores um mês de ciclo de ECT. No que se refere à ECTM não foi encontrado sequer modelo animal de experimento.

Este estudo visou o desenvolvimento de estratégias para investigar parâmetros de estresse oxidativo tardios em modelo animal de eletroconvulsoterapia, com curso de tratamento agudo e de manutenção.

4. OBJETIVOS:

4.1. Geral: Avaliar parâmetros de estresse oxidativo tardio em modelo animal de ECT.

4.2. Específicos: A - Determinar parâmetros de estresse oxidativo em 45, 60, 90 e 120 dias após ECS agudo e crônico (8 seções) em córtex, estriado e hipocampo de ratos, através de indicadores de dano a lipídeos, dano a proteínas e dosagem de enzimas Catalase e Superóxido Dismutase.

B - Determinar parâmetros de estresse oxidativo após 0h, 48hs e 7 dias de ECSM, em córtex, estriado, cerebelo e hipocampo de ratos, através de indicadores de dano a lipídeos e dano a proteínas.

PARTE II

1. Artigo "Long Lasting Effects of Electroconvulsive Seizures on Brain Oxidative Parameters"

2. Artigo "Effects of Maintenance Electroshock on the Oxidative Parameters in the Rat Brain."

1.“Long Lasting Effects of Electroconvulsive Seizures on Brain Oxidative Parameters ”

Artigo publicado no periódico Neurochemical Research 2006 May;31(5):665-70.

Neurochemical Research

Área(s):
Bioquímica. Biofísica
Neurofisiologia. Neuropsicofarmacologia Neurologia

Analisado JCR 2004: ***sim*** Fator de Impacto: ***2.218*** (JCR-2004)

Editor/distribuidor: ***Springer*** ISSN: ***0364-3190*** e-ISSN: ***1573-6903***

Long lasting effects of electroconvulsive seizures on brain oxidative parameters

Gustavo Feier[1], Luciano K. Jornada[1], Tatiana Barichello[1],

Angeles M. Vitali[1], Fernanda Bonatto[2], José Cláudio F. Moreira[2],

Felipe Dal-Pizzol[3], and João Quevedo[1]

[1]Laboratório de Neurociências, Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Universidade do Extremo Sul Catarinense, 88806-000 Criciúma, SC, Brazil;

[2]Centro de Estresse Oxidativo, Departamento de Bioquímica, Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 90035-003 Porto Alegre, RS, Brazil; and

[3]Laboratório de Fisiopatologia Experimental, Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Universidade do Extremo Sul Catarinense, 88806-000 Criciúma, SC, Brazil.

Correspondence: Prof. João Quevedo, M.D., Ph.D. - Laboratório de Neurociências, PPGCS, Universidade do Extremo Sul Catarinense, 88806-00o Criciúma, SC, Brazil. Fax: #55 48 3443 4817. E-mail: quevedo1@terra.com.br

Abstract

This work was performed in order to determine the level of oxidative damage and antioxidant enzymes activities late after acute and chronic electroconvulsive shock (ECS) in rats. We measured oxidative parameters in hippocampus, cortex, and striatum, at 45, 60, 90 and 120 days after a single or multiple ECS. We demonstrated an increase in lipid peroxidation after multiple ECS in the hippocampus and striatum. This was also the case for protein carbonyls in the single or multiple protocols. In this way, we demonstrated an increase in catalase in cortex in contrast to striatum and hippocampus, were there were decreases sometimes in chronic ECS. The superoxide dismutase activities decrease in different times after single and multiple ECS in the hippocampus. Our findings demonstrated that there is a delayed increase after ECS in oxidative damage and decrease in antioxidant enzymes activities in hippocampus and striatum.

Key Words: electroconvulsive shock, electrical stimulation, seizure, oxidative stress

Introduction

Electroconvulsive therapy (ECT) has been used since the late 1930s as an effective and fast-acting treatment for a variety of psychiatric disorders (1) and is defined as a medical procedure in which a brief electrical stimulus is used to induce a cerebral seizure under controlled conditions (2). However, its mechanism of action is not completely understood (2).

Electroconvulsive shock (ECS) in rats is a common animal model of ECT in humans (3,4). ECS has been widely studied, and this has contributed to explain several aspects of ECT effects (5,6,7). In contrast to several other animal models of convulsions, previous studies did not find biochemical and structural evidence of brain damage following a therapeutic course of ECS (4,6,7). In this way, reactive oxygen species (ROS) when produced in excess can cause tissue injury including lipid peroxidation, DNA damage and enzyme inactivation (8,9,10). Under normal circumstances, endogenous antioxidants limit damage unless the oxidant-anti-oxidant balance is disturbed (11). ROS has been implicated in a variety of acute and chronic neuropsychiatric conditions, including convulsion (8,9,10). Although the involvement of ROS during both acute and chronic period of drug-induced status epilepticus has been studied (8), there is no study investigating the putative role of oxidative stress late after ECS-induced convulsions. ECS affects several brain regions, particularly the hippocampus, frontal cortex, striatum, entorhinal cortex, temporal-parietal cortex, and because the greatest benefits of antidepressants and ECT are derived with chronic treatment, the chronic molecular effects of ECS may reveal mechanisms of their therapeutic efficacy (12). Instead of this, few studies have been performed to evaluate the time course and persistence of these effects. Thus, this work was performed in order to determine the level of oxidative damage and

antioxidant enzymes activities late after acute and chronic ECS in multiple brain regions involved in ECT effects.

Experimental Procedure

Animals and study design

Adult and male Wistar rats (250-300g) were obtained from our own breeding colony. They were caged in groups of 5 with free access to food and water and were maintained on a 12-h light-dark cycle (lights on 7:00 am) at a temperature of 23º ± 1º. The experiments were performed between 2 p.m. and 5 p.m.

The rats were divided in two protocols: acute and chronic treatment as we described previously (6,7). In the acute treatment the animals received a single ECS. In the chronic treatment animals received a single ECS per day every other day to a total of eight ECS administrations (this protocol represents a typical ECT section in humans). In both protocols the animals were sacrificed by decapitation at different times after last ECS: 45, 60, 90 and 120 days after (n=5 animals per group). The cortex, hippocampus and striatum (these structures are studied since are involved in the therapeutic and/or adverse effects of ECT in humans) were dissected out immediately after the rat was sacrificed and stored at –80ºC. In vivo studies were performed in accordance with National Institutes of Health guidelines and with the approval of the local ethics committee.

Electroconvulsive stimulation

The electroconvulsive shock was applied via bilateral ear clip electrodes (6,7). The stimulus parameters were 150 V, 60 Hz, sine wave, during 2 seconds. Each stimulation elicited a tonic-clonic seizure. The sham groups (acute and chronic) were handled

identically to the ECS-treated rats except that no current was passed. A single sham group was included in the results section because there was no significant difference among sham groups at different time points. This was done including animals from all sham groups in a single group.

Drugs and chemicals

Thiobarbituric acid, catalase, superoxide dismutase, dinitrophenylhidrazine, adrenaline, hydrogen peroxide, were purchased from Sigma, St. Louis, MO. Glycine was purchased from Nuclear, Diadema, SP, Brasil.

Thiobarbituric Acid Reactive Species (TBARS)

As an index of ROS production we used the formation of TBARS during an acid-heating reaction, which is widely adopted as a sensitive method for measurement of lipid peroxidation, as previously described (13). Briefly, the samples were mixed with 1 mL of trichloroacetic acid 10% (TCA) and 1 mL of thiobarbituric acid 0.67% (TBA), then heated in a boiling water bath for 15 min. TBARS were determined by the absorbance at 535 nm. Results are expressed as MDA (malondialdehyde) equivalents (nmol / mg protein).

Measurement of protein carbonyls

The oxidative damage to proteins was assessed by the determination of carbonyl groups based on the reaction with dinitrophenylhidrazine (DNPH) as previously described (14). Briefly, proteins were precipitated by the addition of 20% trichloroacetic acid, centrifuged at 8000g for 10min and redissolved in DNPH and the absorbance read at 370nm.

Superoxide dismutase activity (SOD)

Brain structures were homogenized in 50 mM glycine buffer (pH 10.2). SOD activity was assayed by measuring the inhibition of adrenaline auto-oxidation, as previously described (15).

Catalase activity (CAT)

To determine CAT activity brain structures were sonicated in 50 mM phosphate buffer (pH 7.0) and the resulting suspension was centrifuged at 3000g for 10 min. The supernatant was used for enzyme assay. CAT activity was assayed by measuring the rate of decrease of H_2O_2 absorbance at 240 nm (16).

Protein Quantification

All the results were normalized by the protein content (17).

Statistical analysis

All data are presented as means ± S.E.M. Differences among experimental groups in experiments evaluating oxidative parameters were determined by One-way ANOVA Multiple comparisons between ECS and sham were performed by a Student-Newman-Keuls test. In all experiments, *P* values less than 0.05 were considered to indicate statistical significance.

Results

Oxidative damage parameters

TBARS levels were not different form control in all times tested after a single ECS (Figure 1A). In the chronic protocol, TBARS levels were increased in relation to sham at the hippocampus after 60, 90 and 120 days and at the striatum at 90 and 120 days, but not at the cortex (Figure 1B). As demonstrated for the TBARS, protein carbonyls after the single ECS were not different from control in the cortex and striatum brain, but were increased in the hippocampus at 60, 90 and 120 days (Figure 2A). For the chronic treatment, the protein carbonyl levels were increased in the hippocampus at 60, 90 and 120 days and in the striatum at 90 and 120 days after the treatment (Figure 2B).

SOD and CAT activities

The adaptation of central nervous system (CNS) after ECS seems to include modulation of antioxidant enzymes. A single ECS produced an increase in CAT activity after 60 and 120 days in the cortex (Figure 3A). In addition SOD activity decreased in the hippocampus 60, 90 and 120 days after, and in the striatum 90 days after a single ECS (Figure 4A). Similarly, during the chronic ECS protocol there was an increase in the cortex CAT activity at 90 and 120 days (Figure 3B), and a decrease in the hippocampus and striatum at 60, 90 and 120 days after chronic ECS (Figure 3B). SOD activity in the cortex decreased in the hippocampus at 45, 60, 90 and 120 days after and increased in the striatum at 45 days after ECS (Figure 4B).

Discussion

All living organisms can suffer oxidative damage, yet the animal brain is often said to be especially sensitive. One reason is its high oxygen consumption: in humans, the brain accounts for only a few percent of the body weight, but about 20% of basal oxygen consumption. Hence it processes a large amount of oxygen in a relatively small tissue mass.

We here demonstrated that after ECS there was a structure-related occurrence of delayed oxidative damage to biomolecules mainly after multiple ECS in the hippocampus and striatum. This was in contrast to previous studies from our group that demonstrated a decrease in oxidative damage parameters in several brain regions immediately after and up to 30 days after a single or multiple electroconvulsive shock (6,7). This delayed occurrence of oxidative damage could be related to different aspects of ECS effects on CNS. The increase in oxidative markers could reflect an increase in metabolic rate, or activation of metabolic pathways important to the therapeutic effects of ECS/ECT. In this way, SPECT and PET studies on the effects of ECT on brain activities in depressed patients have led to conflicting results, ranging from overall decrease (18,19,20) to increase (21). In addition, Yuuki et al (22) demonstrated hypometabolism in some parts of prefrontal regions and hypermetabolism in the parietal and occipital lobes after ECT treatment. In addition, several genes involved in the metabolic regulation are up-regulated chronically after ECS, mainly in the hippocampus (12). The delayed clinical effects of antidepressants and ECT could result from either indirect regulation of neural signal transduction systems or regulation of gene transcription. Indeed, selective effects of antidepressants on specific immediate early genes and transcription factors have been described. These molecules may be important for adaptive neuronal changes resulting

from chronic antidepressant treatment. Region-specific effects of chronic antidepressant treatment on the DNAbinding activities of CRE-, SP1-, and GRE-binding elements in rat hippocampus and frontal cortex are known (2). Taken together, these data demonstrate the possible role of gene expression alternations in the mechanism underlying antidepressant action.

These effects are quite different from other animal models of convulsion. We previously demonstrated that the increase in lipid peroxidation in the hippocampus during the acute period of status epileticus can be extended for several hours after the spontaneous recovery from the status epileticus (at least 12 h) in both pilocarpine or kainic acid models (8). However, during the interictal period, the TBARS levels in the hippocampus are diminished in the pilocarpine model (8). This is in accordance with the results from Altar and cols (12) that demonstrated that none of the 282 gene changes in the hippocampus and temporal lobe associated with epileptogenesis during kindling overlapped with the genes altered after ECS. The mechanisms responsible for these differences and its physiologic/therapeutic significance are not clear, but it is clear that several differences in oxidative parameters occur between these models.

In conclusion, our findings demonstrated that after ECS there was a delayed increase in oxidative damage and decrease antioxidant enzymes activities in several brain regions. Further research must be carried in order to elucidate the mechanism underlying our findings.

Acknowledgments

This research was supported by grants from CNPq/MCT-Brazil, UNESC-Brazil and FAPESC-Brazil.

References

1 American Psychiatric Association (1990) The practice of ECT: recommendations for treatment, training and privileging, Task force report on ECT. American Psychiatric Press, Washington DC

2 Rosen Y, Reznik I, Sluvis A et al (2003) The significance of the nitric oxide in eletro-convulsive therapy: a proposed neurophysiological mechanism. Medical Hypotheses 60(3): 424-429

3 Modigh. K, Balldin J, Eriksson E, et al (1984) Increased responsinveness of dopamine receptors after ECT: a review of experimental and clinical evidence. In Lerer B, Weiner RD, Belmaker RH (Eds.) *ECT: Basic Mechanisms*, John Libbey, London, UK, pp 18-27

4 Porsolt, RD, Bertin, A and Blavet, N (1979) Immobility induced by forced swimming in rats: effects of agents which modify central catecholamine and serotonin activity, *Eur. J. Phamacol*. 57:201-220

5 Newman ME, Gur E, Shapira B, et al (1998) Neurochemical mecanism of action of ECS: evidence from in vivo studies. *J Electroconvulsive Therapy* 14: 153-171

6 Barichello T, Bonatto F, Feier G et. al. (2004a) No evidence for oxidative damage in the hippocampus after acute and chronic electroshock in rats. Brain Res.;1014(1-2):177-83

7 Barichello T, Bonatto F, Agostinho FR et al. (2004b) Structure-related oxidative damage in rat brain after acute and chronic electroshock. Neurochem Res. 29(9):1749-53

8 Dal-Pizzol F, Klamt F, Vianna M et. al. (2000) Lipid peroxidation in hippocampus early and late after status epileticus induced by pilocarpine or kainic acid in Wistar rats. Neuroscience Letters 291:179 - 182

9 Dal-Pizzol F, Klamt F, Frota M.L.C.Jr et al (2001). Neonatal iron exposure induces oxidative stress in adult Wistar rat. Dev Brain Res. 130:109 - 114.

10 Klamt F, Dal-Pizzol F, Frota MLCJr et al (2001) Imbalance of antioxidant defence in mice lacking cellular prion protein. Free Radical Biology & Medicine 30:1137 – 1144.

11 McCord JM, Roy RS (1982) The pathophysiology of superoxide: roles in inflammation and ischemia. Can J Physiol Pharmacol. 60(11):1346-52.

12 Altar CA, Laeng P, Jurata LW et al (2004) Electroconvulsive Seizures Regulate Gene Expression of Distinct Neurotrophic Signaling Pathways. J Neurosci. 24:2667–2677.

13 Draper HH, Hadley M (1990) Malondialdehyde determination as index of lipid peroxidation. Methods Enzymol 186:421-31

14 Levine RL, Garland D, Oliver CN (1990) Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins. Methods Enzymol. 186: 464-478

15 Bannister JV and Calaberese L (1987) Assays for SOD. Methods Biochem Anal. 32:279-312.

16 Aebi H (1984) Catalase in vitro. Methods Enzymol. 105:121-126

17 Lowry OH, Rosebrough AL, Randal RJ (1951) Protein measurement with the folin phenol reagent. J Biol Chem. 193:265-275

18 Nobler MS, Sackeim HA, Prohovnik I et al. (1994) Regional cerebral blood flow in mood disorders, III. Treatment and clinical response. Arch Gen Psychiatry 51: 884–897

19 Nobler MS, Oquendo MA, Kegeles LS et al (2001) Decreased regional brain metabolism after ect. Am J Psychiatry 158:305–308

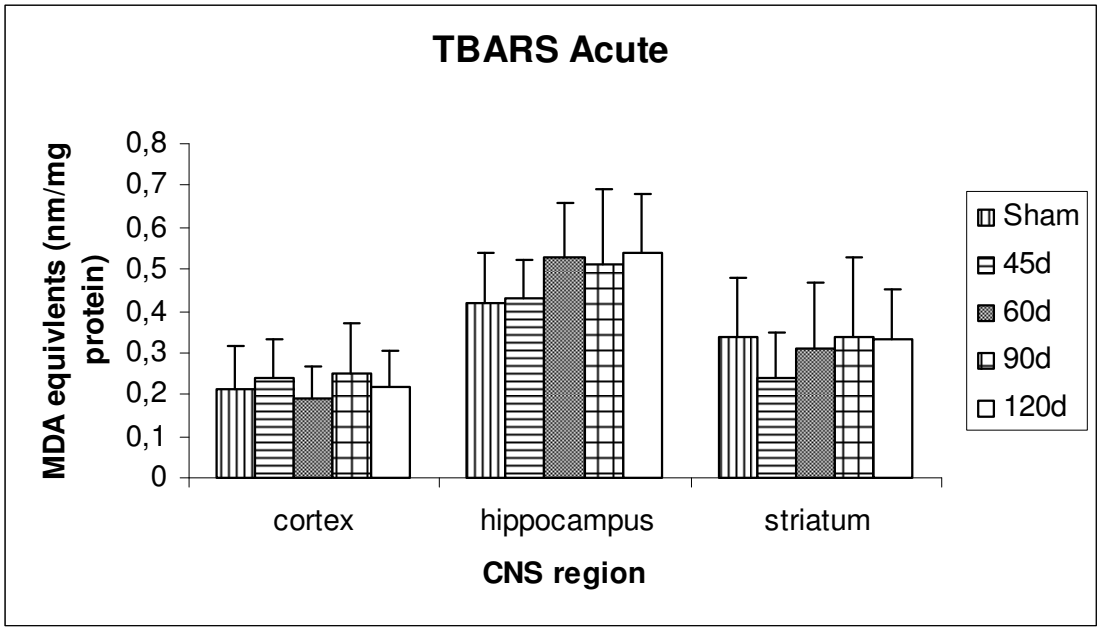
20 Henry ME, Schmidt ME, Matochik JA, et al (2001) Stoddard EP, Potter WZ. The effects of ECT on brain glucose: a pilot FDG PET study. J ECT 17:33–40

21 Mervaala E, Kononen M, Fohr J et al (2001) SPECT and neuropsychological performance in severe depression treated with ECT. J Affect Disord 66:47–58

22 Yuuki N, Ida I, Oshima A, et al (2005) HPA axis normalization estimated by DEX/CRH test, but less alteration on cerebral glucose metabolism in depressed patients receiving ECT after medication treatment failures. Acta Psychiatr Scand 112: 257–265

Figure 1

A


TBARS Acute
MDA equivlents (nm/mg protein)
0,8
0,7
0,6
0,5
0,4
0,3
0,2
0,1
0
cortex
hippocampus
striatum
CNS region
Sham
45d
60d
90d
120d

B

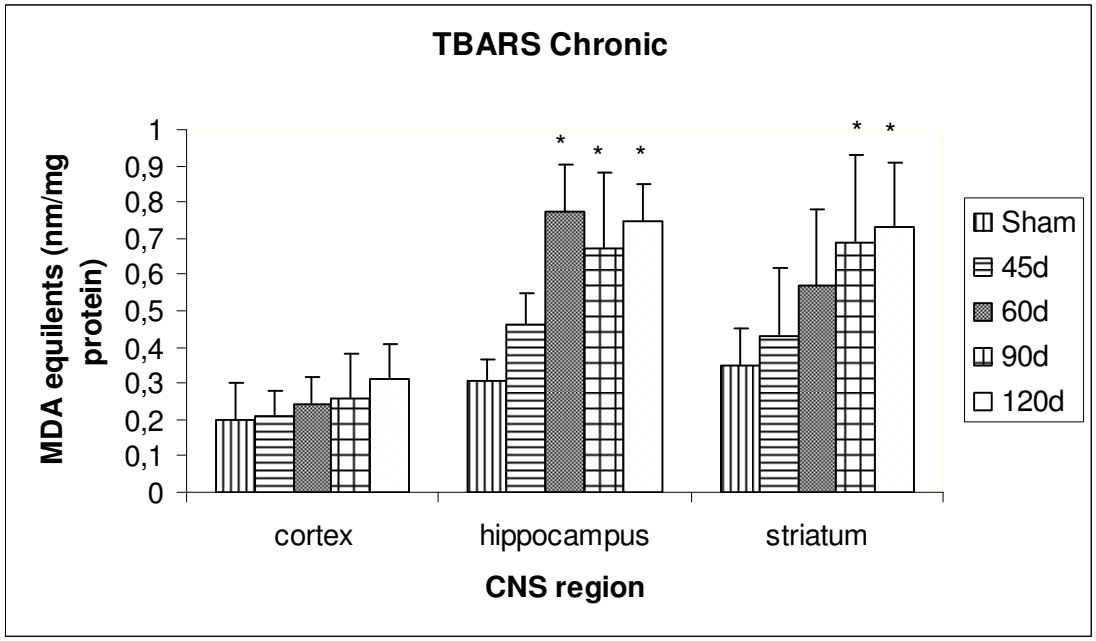
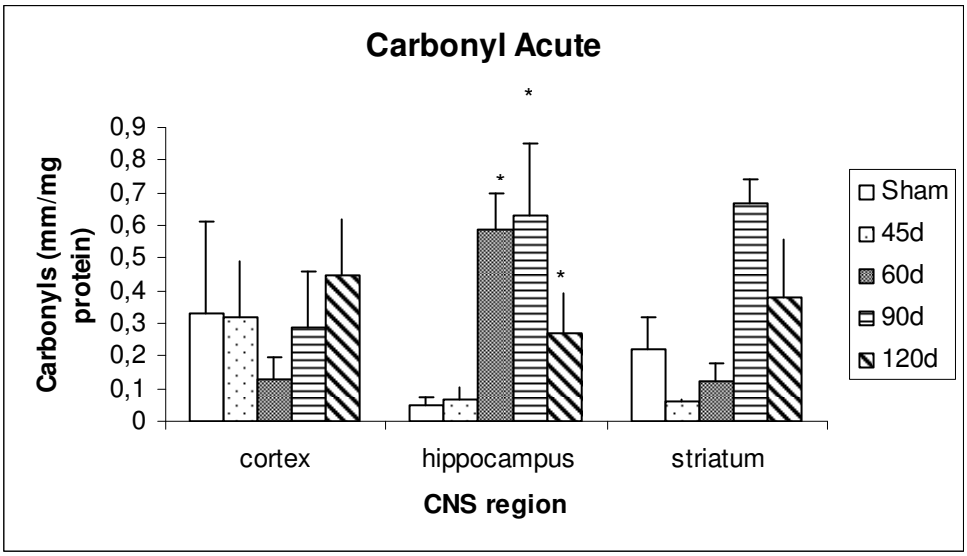

TBARS Chronic
MDA equilents (nm/mg protein)
1
0,9
0,8
0,7
0,6
0,5
0,4
0,3
0,2
0,1
0
*
*
*
*
*
cortex
hippocampus
striatum
CNS region
Sham
45d
60d
90d
120d

Figure 2

A


Carbonyl Acute
Carbonyls (mm/mg protein)
0,9
0,8
0,7
0,6
0,5
0,4
0,3
0,2
0,1
0
cortex
hippocampus
striatum
CNS region
Sham
45d
60d
90d
120d

B

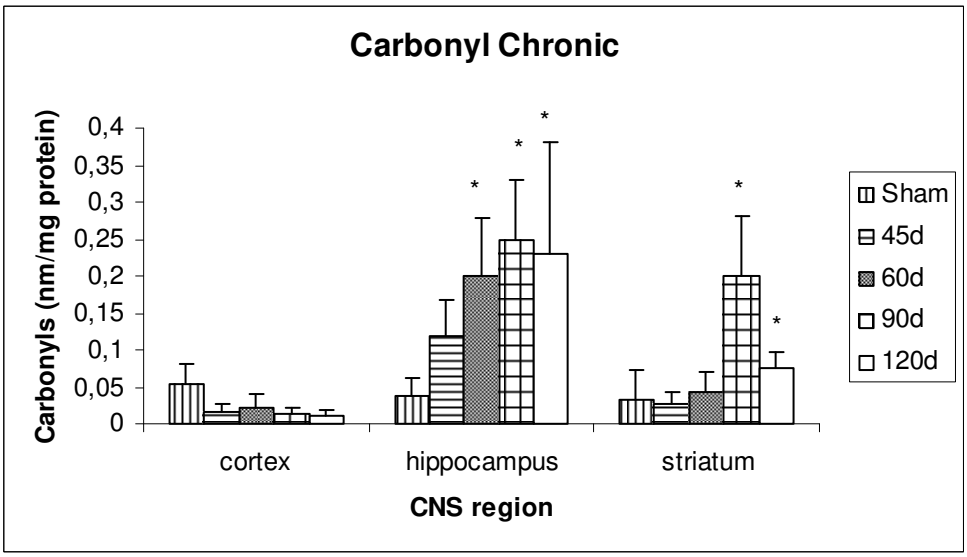
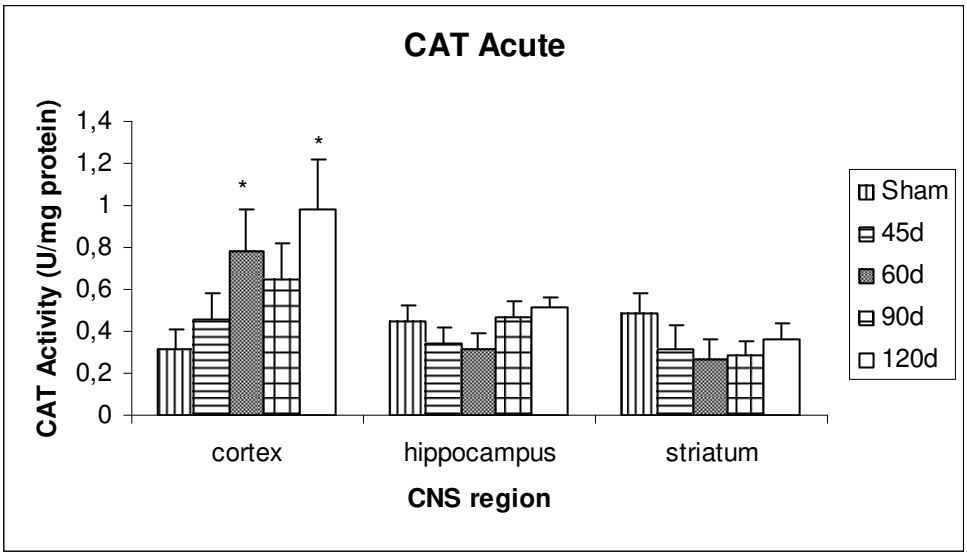

Carbonyl Chronic
Carbonyls (nm/mg protein)
0,4
0,35
0,3
0,25
0,2
0,15
0,1
0,05
0
cortex
hippocampus
striatum
CNS region
Sham
45d
60d
90d
120d

Figure 3

A


CAT Acute
CAT Activity (U/mg protein)
1,4
1,2
1
0,8
0,6
0,4
0,2
0
*
*
cortex
hippocampus
striatum
CNS region
Sham
45d
60d
90d
120d

B

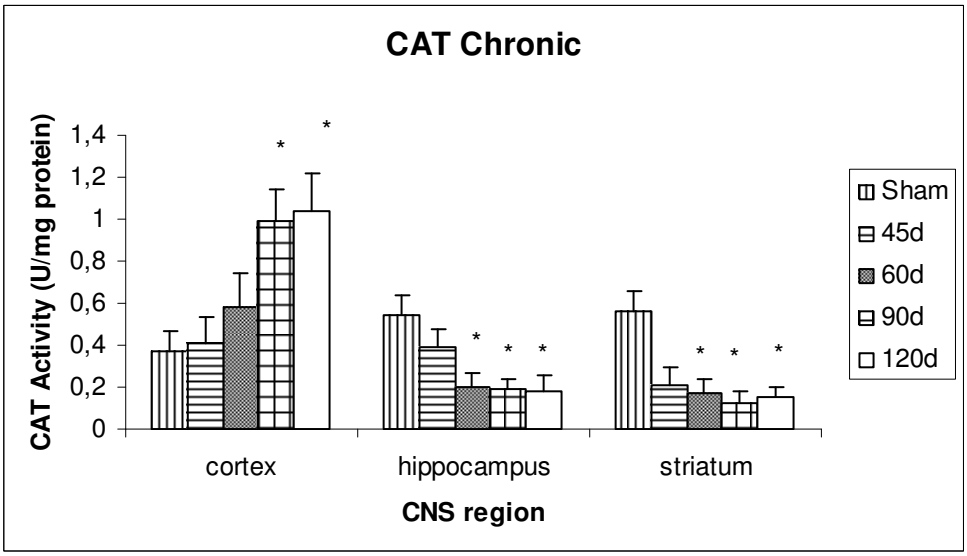
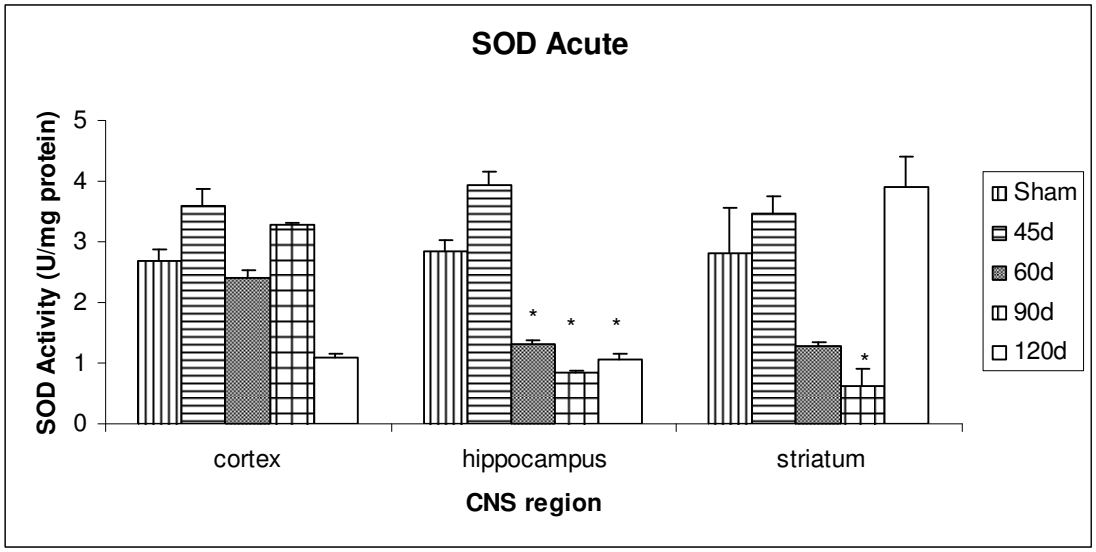

CAT Chronic
CAT Activity (U/mg protein)
1,4
1,2
1
0,8
0,6
0,4
0,2
0
*
*
*
*
*
*
*
*
cortex
hippocampus
striatum
CNS region
Sham
45d
60d
90d
120d

Figure 4

A


SOD Acute
SOD Activity (U/mg protein)
5
4
3
2
1
0
cortex
hippocampus
striatum
CNS region
Sham
45d
60d
90d
120d

B

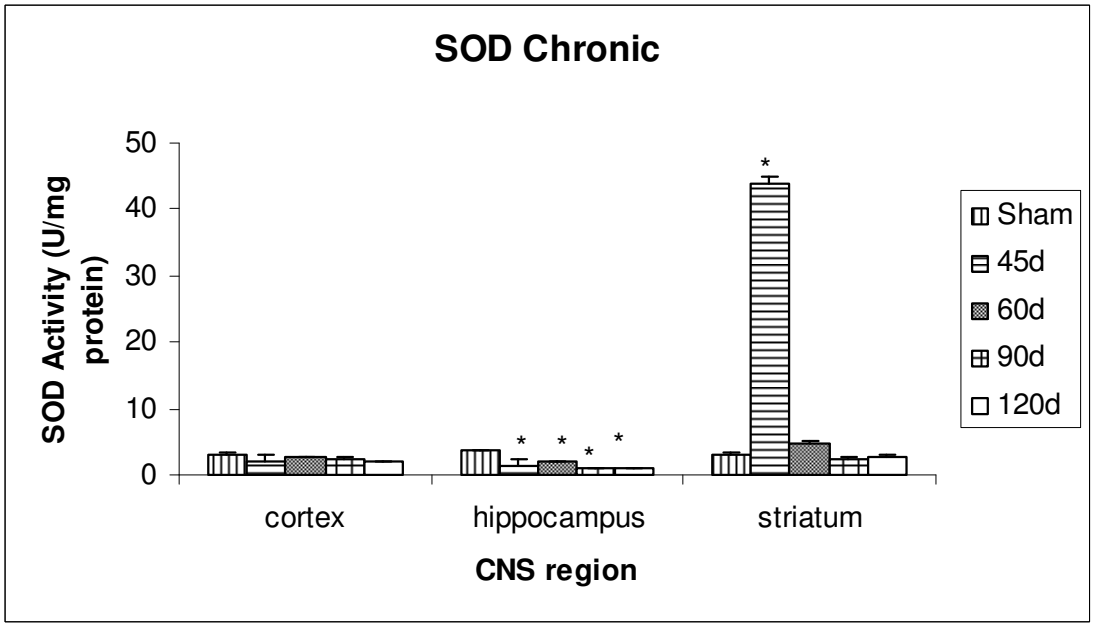

SOD Chronic
SOD Activity (U/mg protein)
50
40
30
20
10
0
cortex
hippocampus
striatum
CNS region
Sham
45d
60d
90d
120d

Figure Legends

Figure 1

A - Thiobarbituric acid reactive species in the brain regions of rats submitted to a single (A) or chronic (B) electroconvulsive shock. Rats were submitted to a single electroconvulsive shock (150 V, 60 Hz, sine wave, during 2 seconds). Sham manipulated, 45, 60,90 and 120 days after treatment animals were sacrificed, and the cortex, cerebellum, hippocampus and striatum were collected for determination of thiobarbituric acid reactive species as described under "Materials and Methods". Oxidative parameters were not statistically differents between sham groups when comparing all time point analyzed, thus we presented in the graphs only one sham group. Values are expressed as means $\pm$ S.E. (n=5 for each group).

* different from sham (control) ($p<0.05$).

Figure 2

A - Protein carbonyls in the brain regions of rats submitted to a single (A) or chronic (B) electroconvulsive shock. Rats were submitted to a single electroconvulsive shock (150 V, 60 Hz, sine wave, during 2 seconds). Sham manipulate, 45, 60, 90 and 120 days after treatment animals were sacrificed, and the cortex, cerebellum, hippocampus and striatum were collected for determination of protein carbonyls as described under "Materials and Methods". Oxidative parameters were not statistically differents between sham groups when comparing all time point analyzed, thus we presented in the graphs only one sham group. Values are expressed as means $\pm$ S.E. (n=5 for each group).

* different from sham (control) ($p<0.05$).

Figure 3

A - Catalase activity in the brain regions of rats submitted to a single (A) or chronic (B) electroconvulsive shock. Rats were submitted to a single electroconvulsive shock (150 V, 60 Hz, sine wave, during 2 seconds). Sham manipulate, 45, 60, 90 and 120 days after treatment animals were sacrificed, and the cortex, cerebellum, hippocampus and striatum were collected for determination of catalase activity as described under "Materials and Methods". Oxidative parameters were not statistically differents between sham groups when comparing all time point analyzed, thus we presented in the graphs only one sham group. Values are expressed as means $\pm$ S.E. (n=5 for each group).

* different from sham (control) ($p<0.05$).

Figure 4

A - Superoxide dismutase activity in the brain regions of rats submitted to a single (A) or chronic (B) electroconvulsive shock. Rats were submitted to a single electroconvulsive shock (150 V, 60 Hz, sine wave, during 2 seconds). Sham manipulate, 45, 60, 90 and 120 days after treatment animals were sacrificed, and the cortex, cerebellum, hippocampus and striatum were collected for determination of superoxide dismutase activity as described under "Materials and Methods". Oxidative parameters were not statistically differents between sham groups when comparing all time point analyzed, thus we presented in the graphs only one sham group. Values are expressed as means $\pm$ S.E. (n=5 for each group).

* different from sham (control) ($p<0.05$).

2.“ Effects of Maintenance Electroshock on the Oxidative Parameters in the Rat Brain”

Artigo publicado no periódico Neurochemical Research 2007 Mar, 32(3)389-394.

Neurochemical Research

Área(s):
Bioquímica. Biofísica
Neurofisiologia. Neuropsicofarmacologia
Neurologia

Analisado JCR 2004: ***sim*** Fator de Impacto: ***2.218*** (JCR-2004)

Editor/distribuidor: ***Springer*** ISSN: ***0364-3190*** e-ISSN: ***1573-6903***

Effects of Maintenance Electroshock on the Oxidative Parameters in the Rat Brain

Luciano K. Jornada[1], Gustavo Feier[1], Tatiana Barichello[1],

Ângeles M. Vitali[1], Adalisa Reinke[2], Felipe Dal-Pizzol[2] and João Quevedo[1]

[1]*Laboratorio de Neurociências, Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Universidade do Extremo Sul Catarinense, 88806-000 Criciúma, SC, Brazil; and*

[2]*Laboratorio de Fisiopatologia Experimental, Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Universidade do Extremo Sul Catarinense, 88806-000, Criciúma, SC, Brazil;*

Correspondence: Prof. Joao Quevedo, M.D., Ph.D. - Laboratorio de Neurociências, PPGCS, Universidade do Extremo Sul Catarinense, 88806-003 Criciúma, SC, Brazil. Fax: #55 48 3443 4817. E-mail: quevedo1@terra.com.br

Abstract

Although several advances has occurred over the past 20 years concerning refining the use and administration of electroconvulsive therapy to minimize side effects of this treatment, little progress has been made in understanding the mechanisms underlying its therapeutic or adverse effects. This work was performed in order to determine the level of oxidative damage and antioxidant enzymes activities in the different times after the maintenance electroconvulsive shock. The Wistar rats (25-300g) received a mimicking therapeutic of maintenance or simulated ECS (SHAM) and were subsequently sacrificed immediately after, 48 hours and 7 days after a maintenance electroconvulsive shock protocol. We measured oxidative parameters in hippocampus, cortex, cerebellum, and striatum. We demonstrated no alteration in the lipid peroxidation and protein damage in the four structure immediately after, 48 hours and 7 days after a maintenance electroconvulsive shock protocol. Our findings, for the first time, demonstrated that after ECS maintenance protocol no occurred oxidative damage in the rat brain.

Key-Words: electroconvulsive shock, electrical stimulation, seizure, oxidative stress, maintenance

Introduction

Electroconvulsive therapy (ECT) has been used as a treatment for mental disorder since 1930s. Particulary is the most effective treatments for refractary depression (1). However, several features of this treatment elicit concern among professionals and the public. These include the passage of electricity through the brain, the elicitation of grand mal seizure, and the images of patients receiving ECT during the early unmodified era, without anesthesia or muscle relaxation. Continuation or maintenance ECT refers to treatments spaced at intervals of one week to one month, administered after successful ECT course (2).

In recent years, maintenance electroconvulsive therapy (M-ECT) has been a common treatment within psychiatric practice (3) M-ECT is a reliable and safe option for patients with psychiatric disorders who are resistant or intolerant to medication (4). Despite of this, little progress has been made in understanding the mechanisms and the long-term benefits and risks of M-ECT (5) The animal equivalent of ECT, electroconvulsive shock (ECS) has been shown to have many effects in experimental animals, and these findings have contributed to explain the therapeutic and side effects of ECT (6). In contrast to several others animal models of convulsions, previous studies did not find biochemical and structural evidence of brain damage following a therapeutic course of ECS (7).

Reactive oxygen species (ROS) are a part of normal human metabolism. When produced in excess can cause tissue injury including lipid peroxidation, DNA damage and enzyme inactivation. ROS has been implicated in a variety of acute and chronic neuropsychiatric conditions, including convulsion (8,9,10).

In previous study this group (11), were demonstrated that there is a delayed increase after ECS in oxidative damage in n rats of received a traditional model Acute (1ECS) and

Cronic (8ECS), and were subsequently sacrificed at 45, 60, 90 and 120 days after a single or multiple ECS. We demonstrated an increase in lipid peroxidation after multiple ECS in the hippocampus and striatum. This was also the case for protein carbonyls in the single or multiple protocols in the same etructure. There is none study investigating the putative role of oxidative stress after Maintenance ECS-induced convulsions.

Thus, this work was performed in order to determine the level of oxidative damage early and late after post maintenance ECS.

Experimental Procedure

Animals and study design

Adult and male Wistar rats (250-300 g) were obtained from our own breeding colony. They were caged in group of 5 with free access to food and water and were maintained on a 12-h light-dark cycle (lights on 7:00 am), at a temperature of 23º $\pm$ 1ºC. The experiments were performed between 4 p.m. and 5 p.m.

In the maintenance treatment, animals received eight ECS per day every other day. After the eight shocks the rats were divided in 5 groups as demonstrated in figure-1. In all protocols (M-1, M-4, M-6, M-7) the animals were sacrificed by decapitation at different times after last ECS: immediately after, 48 hours, 7 days (n=5 animals per group). The cerebellum, hippocampus, striatum and cortex were dissected out immediately after the rat to be sacrificed, and storage at –80ºC. In vivo studies were performed in accordance with National Institutes of Health guidelines and with the approval of the local ethics committee.

Electroconvulsive stimulation

The electroconvulsive shock was applied via bilateral ear clip electrodes. The stimulus parameters were 150 V, 60 Hz, sine wave, during 2 seconds. Each stimulation elicited tonic-clonic seizure. The sham groups (acute and chronic) were handled identically to the ECS-treated rats except no current was passed.

Drugs and chemicals

Thiobarbituric acid, dinitrophenylhidrazine, were purchased from Sigma, St. Louis, MO. Glycine was purchased from Nuclear, Diadema, SP, Brasil.

Thiobarbituric Acid Reactive Species (TBARS)

As an index of ROS production we used the formation of TBARS during an acid-heating reaction, which is widely adopted as a sensitive method for measurement of lipid peroxidation, as previously described (12). Briefly, the samples were mixed with 1 mL of trichloroacetic acid 10% (TCA) and 1 mL of thiobarbituric acid 0.67% (TBA), then heated in a boiling water bath for 15 min. TBARS were determined by the absorbance at 535 nm. Results are expressed as MDA (malondialdehyde) equivalents (nmol / mg protein).

Measurement of protein carbonyls

The oxidative damage to proteins was assessed by the determination of carbonyl groups based on the reaction with dinitrophenylhidrazine (DNPH) as previously described (13). Briefly, proteins were precipitated by the addition of 20% trichloroacetic acid and redissolved in DNPH and the absorbance read at 370nm.

Protein Quantification

All the results were normalized by the protein content (14).

Statistical analysis

All data are presented as means ± S.E. Differences among experimental groups in experiments evaluating oxidative parameters were determined by One-way ANOVA Multiple comparisons were performed by a Newman-Keuls test. In all experiments, P values less than 0.05 were considered to indicate statistical significance.

Results

Oxidative damage parameters

In the cerebellum TBARS levels increased in comparison to the control group at 0h and 7d in the M4 group. In contrast, in the M-7 group we demonstrated a decrease in TBARS levels as compared to the control group (Figure 2A). This was similar to protein carbonyl in the M-7 group (Figure 3A).

We observed a similar patter of lipid peroxidation in the hippocampus after maintenance ECS. In the M-4 group we demonstrated a significant increase in the levels of TBARS at 0h, 48h and 7d, but not in M-7 group (Figure 2B). These were not true to protein carbonyls (Figure 3B).

In the cortex we observed the huge effect after maintenance ECS (Figure 2C and 3C). We demonstrated a significant decrease in TBARS levels in the M-1, M-4 and M-7 groups at 0h, 48h and 7d. Protein oxidative damage the M-4 group was significantly

increased at 48h, but was decreased in the M-7 group 7d after the last ECS section (Figure 3C).

For both TBARS and protein carbonyls we did not observed significant differences at any time or group in the striatum (Figures 2D and 3D).

Discussion

The animal brain is especially sensible to oxidative damages in virtue of its high consumption of oxygen. Virtually all livings organisms can suffer from oxidative damage. In this work we demonstrate that after maintenance ECS oxidative damage can occur in some brain regions depending on the time and number of ECS sections, but oxidative damage after maintenance ECS is not a universal finding in the rat brain. This is in accordance with previous studies of our group (15,16) that demonstrated a reduction in oxidative damage parameters in several brain regions up to 30 days, in contrast to followed by increase in oxidative damage up to 90 days after multiple (11). Here we demonstrated oxidative damage in the hippocampus of the M-4 group. In contrast, we found a significant decrease in TBARS and protein carbonyls in several brain regions at several times after maintenance ECS, and this could reflect metabolic adaptations of the CNS to the convulsion induced by ECS.

The selective effect of antidepressants in specific immediate advanced genes and factors of the transcription had been described. These molecules can be important for adaptable changes neuronal resulting of the chronic treatment of antidepressant. The Region-specific effect of the chronic treatment of antidepressant in the activities of DNAbinding of CRE -, SP1 -, and the elements GRE-binding in hippocampus of the rat and frontal cortex are known (17). Analyzing the graphs we can assume the possible

implication of this alterations of the expression of the genes in the underlying action of the mechanism antidepressant of this therapy.

We prove these possible alterations comparing the ECT of maintenance with other models of convulsions previously studied by us. These joined results are in accordance with other animal models of convulsion. We demonstrate previously that an increase in peroxidation of lipid in hippocampus occurs during the acute period of epileticus of the status this increase can after be drawn out by diverse hours the spontaneous recovery of epileticus of the status (to the little 12 h) in pilocarpine or in models kainic of the acid one (8). However, during the interictal period, the levels of TBARS in hippocampus are diminished in the model of pilocarpine (8).

Moreover, previous works as of Altar and cols demonstrate to occur changes in the transcription and gene expression in diverse ways you study ECS after. The changes of the transcription of the gene had been measured in cortex frontal and hippocampus after ECS. Hippocampus produced three times more than the number of the seen changes of the gene in cortex and many changes hippocampal of the gene had persisted with chronic ECS, in contrast in cortex. Distinct the multiple genes had been identified inside of pathways (18).

In conclusion, our results demonstrate that after the treatment with the maintenance ECT does not occur significant oxidative damage in the brain regions in the different times and studied numbers of maintenances. Research you add must be carried through the end to elucidate the mechanisms underlying to our results.

Acknowledgments

This research was supported by grants from CNPq/MCT-Brazil, UNESC-Brazil and FUNCITEC-Brazil.

References

1. The UK ECT Review Group, (2003) Efficacy and safety of electroconvulsive therapy in depressive disorders: a systematic review and meta-analysis. The Lancet. 361: 799-808
2. Andrade C, Kurinji S, (2002) Continuation and maintenance ECT: a review of recent research. J ECT. 18(3):149-58. Review
3. Rami L, Bernardo M, Boget T, et al (2004) Cognitive status of psychiatric patients under maintenance electroconvulsive therapy: a one-year longitudinal study. Neuropsychiatry Clin Neurosci. 16(4):465-71
4. Willeit M, Praschak-Rieder N, Kasper S (2003) Electroconvulsive therapy as maintenance therapy and for prevention of recurrence in psychiatric disorders and Parkinson disease. Wien Klin Wochenschr. 115(9):281-90
5. National Institute for Clinical Excellence (2003) Guidance in the Use of Electroconvulsive Therapy (Technology Appraisal Guidance 59). London:NICE.
6. Newman ME, Gur E, Shapira B et al (1998) Neurochemical mecanism of action of ECS: evidence from in vivo studies. J Electroconvulsive Therapy 14: 153-171
7. Zachrisson O C, Balldin J, Ekman R et al (2000) No evident neuronal damage after electroconvulsive therapy. Psychiatry Res. 96:157-65.
8. Dal-Pizzol F, Klamt F, Vianna M et al (2000) Lipid peroxidation in hippocampus early and late after status epileticus induced by pilocarpine or kainic acid in Wistar rats. Neuroscience Letters 291:179-182
9. Dal-Pizzol F, Klamt F, Frota M.L.C.Jr et al (2001) Neonatal iron exposure induces oxidative stress in adult Wistar rat. Dev Brain Res. 130:109-114

10. Klamt F, Dal-Pizzol F, Frota MLCJr et al (2001) Imbalance of antioxidant defence in mice lacking cellular prion protein. Free Radical Biology & Medicine 30:1137–1144
11. Feier G, Jornada LK, Barichelo T et al (in press) Long lasting effects of electroconvulsive seizures on brain oxidative parameters. Neurochem. Res.
12. Draper HH, Hadley M (1990) Malondialdehyde determination as index of lipid peroxidation. Methods Enzymol 186:421-31
13. Levine RL, Garland D, Oliver CN (1990) Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins. Methods Enzymol. 186:464-78
14. Lowry OH, Rosebrough AL, Randal RJ (1951) Protein measurement with the folin phenol reagent. J Biol Chem. 193:265-75
15. Barichello T, Bonatto F, Feier G et al (2004a) No evidence for oxidative damage in the hippocampus after acute and chronic electroshock in rats. Brain Res.;1014(1-2):177-83
16. Barichello T, Bonatto F, Agostinho FR et al (2004b) Structure-related oxidative damage in rat brain after acute and chronic electroshock. Neurochem Res. 29(9):1749-53
17. Rosen Y, Reznik I, Sluvis A et al (2003) The significance of the nitric oxide in eletro-convulsive therapy: a proposed neurophysiological mechanism. Medical Hypotheses 60(3): 424-9
18. Altar CA, Laeng P, Jurata LW et al (2004) Electroconvulsive Seizures Regulate Gene Expression of Distinct Neurotrophic Signaling Pathways. J Neurosci. 24:2667

Figure 1

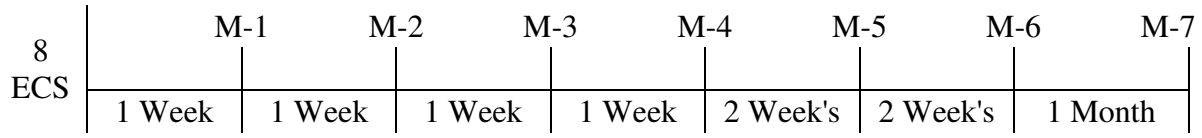
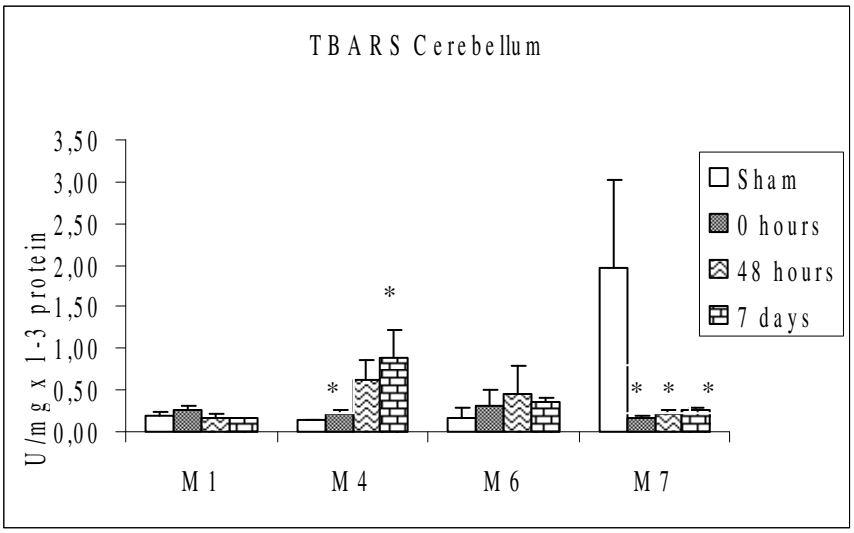
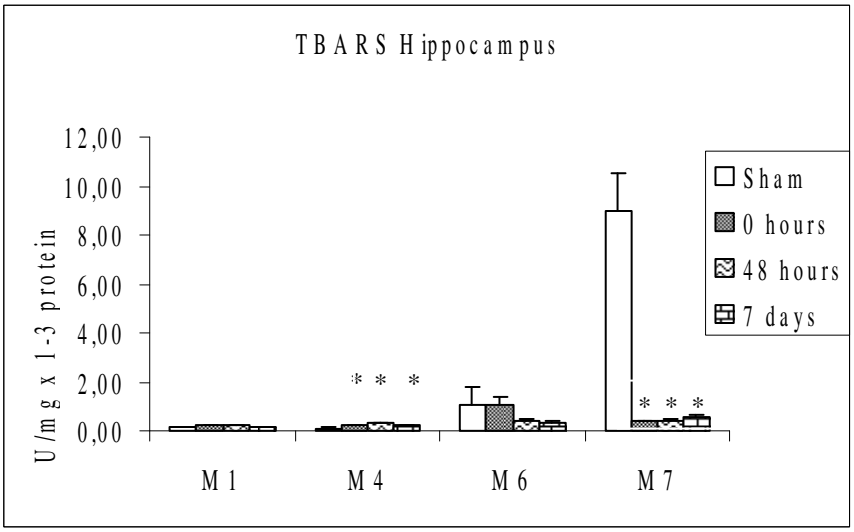


Figure 2

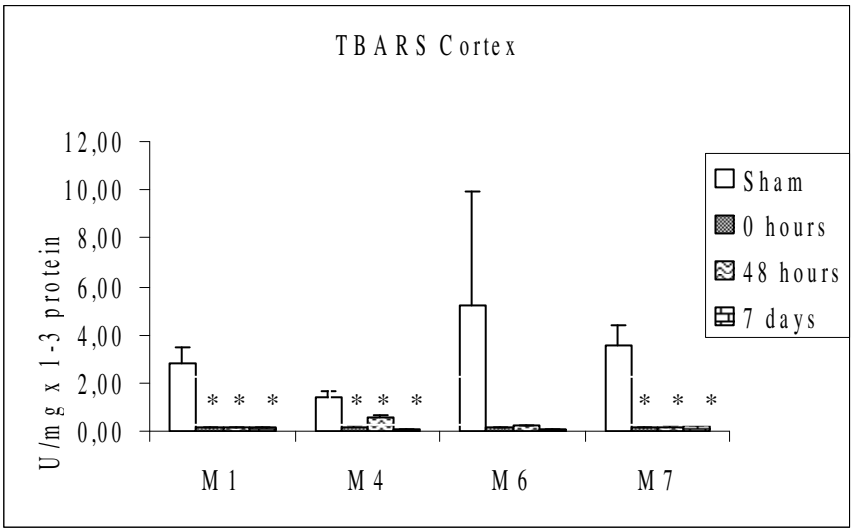
A



B



C


TBARS Cortex
12,00
10,00
8,00
6,00
4,00
2,00
0,00
U/mg x 1-3 protein
M 1
M 4
M 6
M 7
Sham
0 hours
48 hours
7 days

D

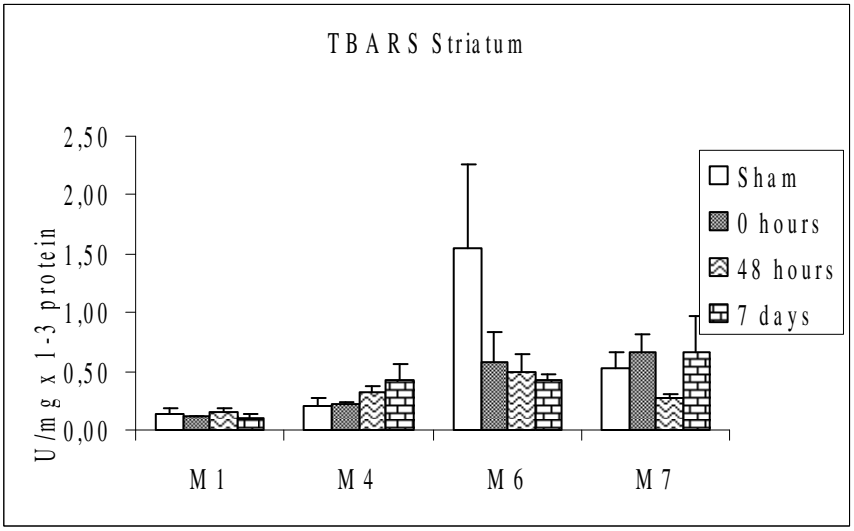
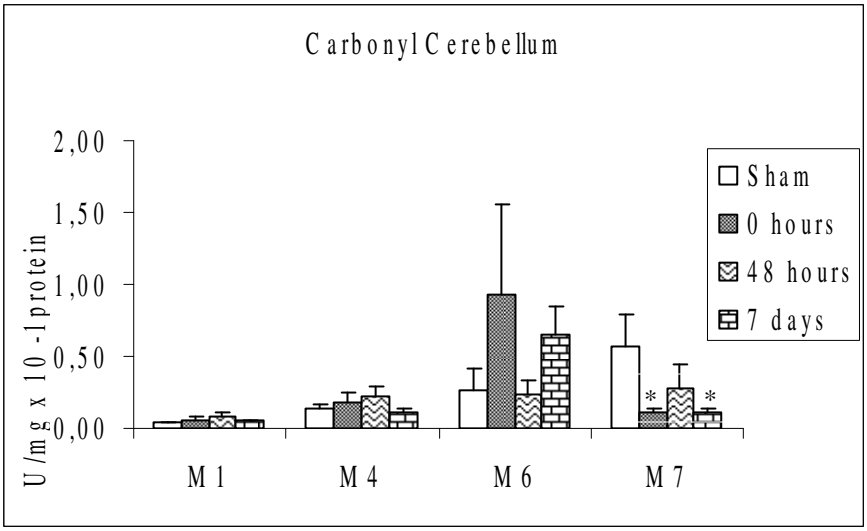
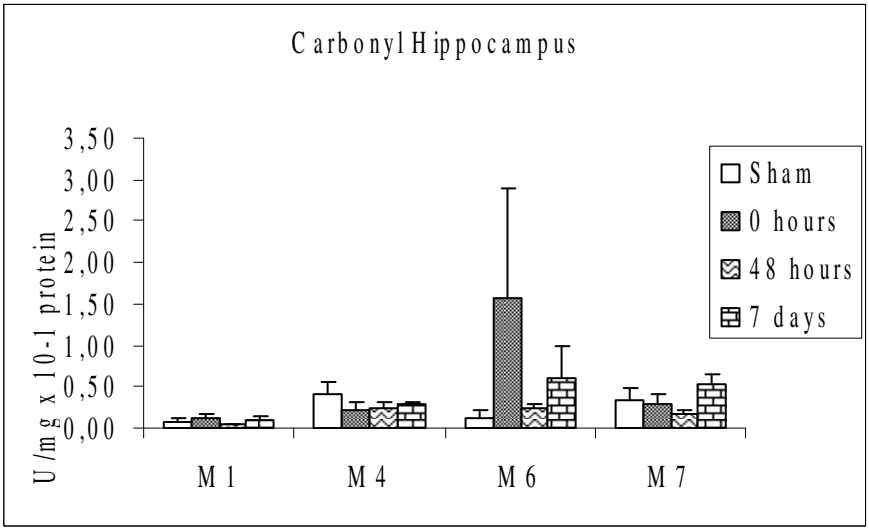

TBARS Striatum
2,50
2,00
1,50
1,00
0,50
0,00
U/mg x 1-3 protein
M 1
M 4
M 6
M 7
Sham
0 hours
48 hours
7 days

Figure 3

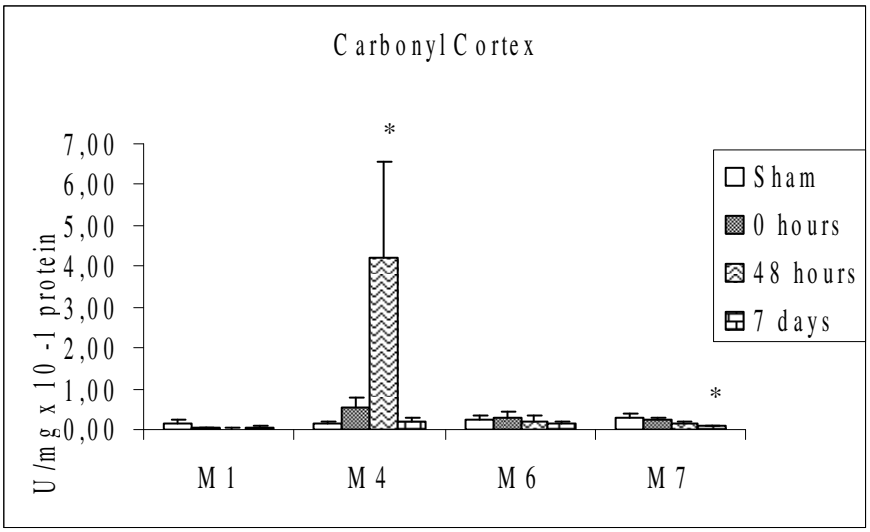
A


Carbonyl Cerebellum
2,00
1,50
1,00
0,50
0,00
U/mg x 10-1protein
Sham
0 hours
48 hours
7 days
*
*
M 1
M 4
M 6
M 7

B


Carbonyl Hippocampus
3,50
3,00
2,50
2,00
1,50
1,00
0,50
0,00
U/mg x 10-1 protein
Sham
0 hours
48 hours
7 days
M 1
M 4
M 6
M 7

C


Carbonyl Cortex
7,00
6,00
5,00
4,00
3,00
2,00
1,00
0,00
U/mg x 10 -1 protein
*
*
M 1
M 4
M 6
M 7
Sham
0 hours
48 hours
7 days

D

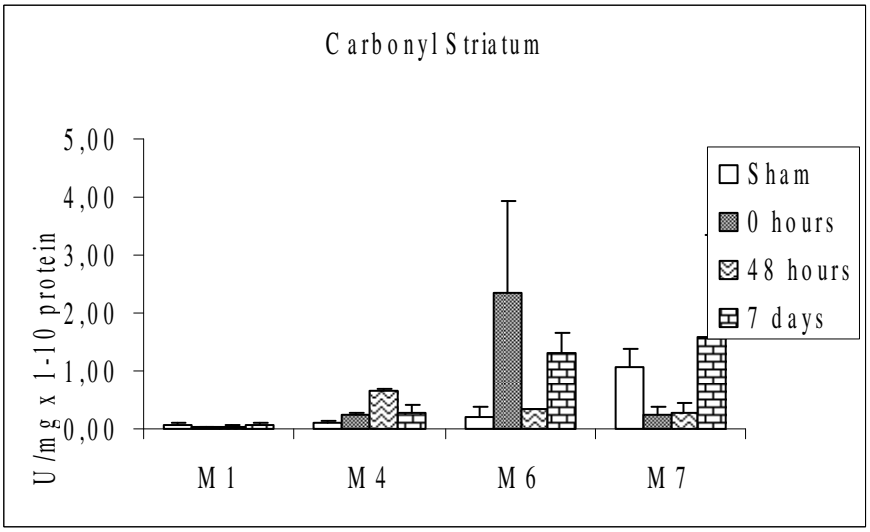

Carbonyl Striatum
5,00
4,00
3,00
2,00
1,00
0,00
U/mg x 1-10 protein
M 1
M 4
M 6
M 7
Sham
0 hours
48 hours
7 days

Figure Legends

Figure 1

In the maintenance treatment, animals received eight ECS per day every other day. After the eight shock the rats received 1 ECS once a week per 4 weeks resulting in the groups M-1 (after 1 week post last ECS), M-2 (after 2 week's post last ECS), M-3 (after 3 week's post last ECS), M-4 (after 4 week's post last ECS). In the groups M-5 (after 6 week's post last ECS) and M-6 (after 8 week's post last ECS) they had received 1 shock to each 2 weeks. In the last group M-7 (after 12 week's post last ECS) they had received 1 shock for month. All the rats had necessarily they had passed for the other protocols.

Figure 2

Thiobarbituric acid reactive species in the cerebellum (A), hippocampus (B), cortex (C) and striatum (D) of rats submitted to a maintenance protocol. Rats were submitted to a maintenance protocol (150 V, 60 Hz, sine wave, during 2 seconds) or sham manipulate. Immediately after, 48h and 7 days after treatment animals were sacrificed, and the cerebellum, hippocampus, striatum and cortex were collected for determination of thiobarbituric acid reactive species as described under "Materials and Methods". Oxidative parameters were not statistically differents between sham groups when comparing all time point analyzed, thus we presented in the graphs only one sham group. Values are expressed as means $\pm$ S.E. (n=5 for each group).

* different from sham (control) ($p<0.05$).

Figure 3

Protein carbonyls in the cerebellum (A), hippocampus (B), cortex (C) and striatum (D) of rats submitted to a maintenance protocol. Rats were submitted to a maintenance protocol (150 V, 60 Hz, sine wave, during 2 seconds) or sham manipulate. Immediately after, 48h and 7 days after treatment animals were sacrificed, and the cerebellum, hippocampus, striatum and cortex were collected for determination of protein carbonyls as described under "Materials and Methods". Oxidative parameters were not statistically differents between sham groups when comparing all time point analyzed, thus we presented in the graphs only one sham group. Values are expressed as means $\pm$ S.E. (n=5 for each group).

* different from sham (control) ($p<0.05$).

PARTE III

DISCUSSÃO GERAL

1. Sistema Nervoso Central (SNC) e Estresse Oxidativo

O SNC é propenso ao dano oxidativo por várias razões:

a) A presença de aminoácidos excitotóxicos, tem sido sugerido que podem promover o estresse oxidativo, pela liberação de aminoácidos excitatórios em neurônios (Halliwell & Gutteridge,1999). A exotoxicidade do glutamato esta envolvida na gênese de uma série de doenças do SNC, epilepsia, ezquizofrenia e acidente vascular encefálico (Ritter et al.,2004)

b) As membranas neuronais contêm níveis elevados de ácidos graxos poliinsaturados capazes de sofrer peroxidação lipídica (Halliwell & Gutteridge 1999; Floyd & Hensley,2002).

c) A presença da barreira hematoencefálica com o intuito de manter a constância dos líquidos intersticiais, age seletivamente sobre muitos substratos, mas permite a passagem de ferro e cobre, capaz de participar da reação de Haber-Weiss/Fenton (Andreazza et al., 2004). O cérebro tem uma alta concentração de ferro e ascorbato, os quais são ingredientes chaves na peroxidação dos lipídios de membrana (Floyd & Hensley,2002).

d) A grande concentração de Ca^{++} que atravessa a membrana neuronal, interfere com os transportes de íons, podendo produzir rápida elevação do Ca^{++} livre intracelular, muitas vezes levando ao estresse oxidativo (Halliwell & Gutteridge, 1999; Koutsilieri et al,2002).

e) O cérebro não possui grande concentração de defesas antioxidantes existindo um grande potencial para danos oxidativos (Floyd, 1999).

A ECT apresenta-se como uma rica oportunidade para começar a construir um entendimento mais sólido entre a neurociência e a psiquiatria clínica. Nenhum outro método antidepressivo apresenta um início de ação tão rápido e uma melhora tão dramática quanto ela. Portanto, as sutis alterações cerebrais que representam a mudança de humor têm uma chance consideravelmente superior de serem vistas se a procurarmos numa situação

como esta, aonde as manifestações clínicas são tão evidentes. Para isso utilizamos o modelo de ECS em ratos para observar sua influência sobre importantes marcadores de dano cerebrais que poderiam apontar sistemas aonde há influência da ECT.

E, principalmente pelo fato de haver um desconforto público quanto à aplicação da ECT, a sua associação a uma psiquiatria rigorosa quanto aos seus diagnósticos e precisa nas suas indicações terapêuticas é fundamental para uma mudança na percepção errônea que a sociedade tem dela (UK ECT Review Group, 2003). Nos dois estudos empregaram-se propositalmente choques bilaterais e de onda em sino, ambos associados a maior comprometimento cognitivo (Carney et al., 2003).

2. Efeitos tardios em parâmetros oxidativos do cérebro após ECS

Nosso primeiro trabalho avaliou os efeitos do ECS em diferentes áreas do cérebro de ratos em período tardio. Assim desenhamos um estudo com modelo agudo e crônico para estudar parâmetros de estresse oxidativo de um único choque e de uma série de 8 semelhante a cursos clínicos de ECT. Para tal, foi empregada dosagem de espécies reativa do ácido thiobarbitúrico (TBARS) como indicador de dano a lipídeos e dosagem de dinitrophenylhidrazine (DNPH) para detectar reação com grupo carbonil e conseqüente dano à proteína. Neste estudo também foram avaliadas enzimas antioxidantes Catalase (CAT) e Superóxido dismutase (SOD).

Em hipocampo e estriado, foi encontrado algum aumento tardio na peroxidação de lipídeos após ECS crônico. Houve também maiores taxas de carbonilação de proteínas no protocolo agudo e crônico nestas duas estruturas. A Superóxido Dismutase diminuiu em diferentes tempos apenas após protocolo crônico do hipocampo. Em contraste com isso, Barichelo et al. (2004a) estudando hipocampo, demonstraramem seguimento mais curto

(até 30 dias após ECS), um aumento das atividades da CAT e da SOD no sistema nervoso central (SNC), acompanhado de uma diminuição dos parâmetros de dano oxidativo.

Em outro estudo prévio, com metodologia semelhante (Barichelo et al, 2004b), não foi encontrado dano oxidativo até 30 dias após ECSs agudo e crônico: em hipocampo, estriado e cerebelo, parecendo possuir mecanismos antioxidantes suficientes para evitar dano oxidativo nestas estruturas. Em contraste, a ocorrência de dano oxidativo no córtex, sugere que esta estrutura é mais suscetível ao estresse agudo após o ECS. Nosso estudo, novamente encontrou resultado diferente, aumento de catalase no córtex em contraste com diminuição no estriado e hipocampo, que foram menores em diferentes tempos após protocolo agudo e crônico.

Nós demonstramos com isso que após o ECS há ocorrência de dano oxidativo em biomoléculas dependente da estrutura cerebral e do tempo de seguimento. Nos supomos que a heterogeneidade das regiões podem, em parte, responder pelos resultados observados. Estudos futuros deverão investigar esses eventos.

Comparando-se com modelos farmacológicos, o dano oxidativo nos modelos da pilocarpina e do acido kainico parece ser, ao menos em parte, relacionado aos efeitos crônicos da administração dos fármacos (Klamt et al., 2001). A diferença nos parâmetros de dano oxidativo pode explicar os diferentes prognósticos após ECS ou modelos da pilocarpina ou acido kainico. No modelo da pilocarpina, todos os animais invariavelmente desenvolvem convulsões espontâneas recorrentes e no modelo do ácido kainico cerca de 50 % dos animais apresentam convulsões espontâneas recorrentes (Dal-Pizzol et al., 2000). Nas convulsões induzidas por ECS, inclusive no protocolo crônico, não se observam convulsões espontâneas recorrentes em nenhum animal. Parece que há mecanismos diferentes envolvidos nos efeitos do ECS no SNC, quando comparados a outros modelos de

convulsões animais. Supõe-se que essas diferenças podem explicar parte do valor terapêutico do ECT em contraste aos prejudiciais efeitos de convulsões em situações clínicas (estado epiléptico).

3. Efeitos em parâmetros oxidativos do cérebro de ratos após ECSM

Nosso segundo trabalho avaliou os efeitos do ECSM em diferentes áreas do cérebro de ratos. Assim desenhamos um estudo com modelo inédito para estudar parâmetros de estresse oxidativo com semelhante ao tratamento clínico de manutenção. Além de 8ECS iniciais em dias alternados, os cobaios receberam ECS semanais no primeiro mês, quinzenais no segundo e um mensal, completando 3 meses de "tratamento de manutenção" após curso inicial. Para análise bioquímica, foi empregado dosagem de espécies reativa do ácido thiobarbitúrico (TBARS) como indicador de dano a lipídeos e dosagem de dinitrophenylhidrazine (DNPH) para detectar reação com grupo carbonil e consequente dano à proteína.

Novamente, nas convulsões induzidas por ECS, não se observam convulsões espontâneas recorrentes em nenhum animal. Como já mencionado, no modelo da pilocarpina, todos os animais invariavelmente desenvolvem convulsões espontâneas recorrentes e no modelo do ácido kainico cerca de 50 % dos animais apresentam convulsões espontâneas recorrentes (Dal-Pizzol et al., 2000).

Na manutenção, após o termino do protocolo, no artigo referido como M7, o único aumento de taxa de dano foi lipídeos no córtex. Houve redução do dano em cerebelo e hipocampo. Não houve indicação de dano a proteína em nenhuma das quatro estruturas, inclusive com diminuição da carbonilação em cerebelo e córtex.A maioria dos achados de dano oxidativo ocorreram no período M4 (curso de 8 ECS + 4semanais), ou seja um mês de

manutenção. A estabilização e até uma certa melhora dos indicadores, sugere o papel adaptativo com o passar dos ECSs.

Os tratamentos antidepressivos farmacológicos são conhecidos pelo longo período de tempo necessário para obterem uma resposta terapêutica e ainda maior para ocasionarem a remissão do quadro de humor (Katz et al, 1996). Esse intervalo já foi relacionado com o período de tempo necessário para colocar em andamento alterações plásticas (Santarelli et al, 2003). Sob esse aspecto, é importante identificar sistemas que apresentem alterações sustentadas após o início do tratamento.

Estudo de Busnello et al (2006), encontrou elevações de S100B que podem representar uma valiosa ativação glial. Concentrações moderadas de S100B tem sido associadas com processos tróficos, como crescimento de processos neuronais (Haglid et al, 1997), e atividades neuroprotetoras e neurotróficas (Brewton et al, 2001), enquanto níveis altamente elevados estimulam a ação de citoquinas pró-inflamatórias (Koppal et al, 2001) ou refletem diretamente dano cerebral (Leviton & Damman, 2002). Outros tipos de tratamento antidepressivo também se mostraram capazes de elevar os níveis de S100B em modelos experimentais (Manev et al, 2001). Um envolvimento da glia nos mecanismos de ação da ECT já foi sugerido. Ativação astrocitária, então chamada gliose astrocítica reativa, foi descrita após a ECT já na década de 1940 (Riese, 1948). Estudos em cérebros de cadáveres têm indicado de forma consistente que estados depressivos estão relacionados com um aumento do número de células gliais, mas não do número de neurônios, sendo que o ECT é capaz de induzir mudanças que restabeleçam o equilíbrio entre esses dois tipos de células (Ongur & Heckers, 2004).

Os modelos de ECS crônico e agudo também demonstraram serem capazes de induzir elevações do fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) e da expressão de seu gene

receptor, trk B, no cérebro de ratos (Lindefors et al, 1995). Os níveis de RNA mensageiro do BDNF mostraram-se elevados no giro denteado e córtex piriforme de ratos após os modelos crônico e agudo, conforme hibridização in situ (Zetterstrom et al, 1998). Esses resultados, quando observados conjuntamente com nossos achados, podem sugerir que a estimulação eletroconvulsiva mobiliza não apenas atividade trófica glial, mas também neuronal. Sua maior eficácia frente aos demais tratamentos antidepressivos pode ser resultado dessa capacidade de mobilizar diferentes mecanismos cerebrais.

Saliento, mais uma vez o aspecto inédito do modelo animal de ECTM empregado, bem como uma ampla oportunidade de estudos comportamentais e bioquímicos com este tipo de protocolo. Existem diversas alterações já descritas ocasionadas por ECSs em sistemas cerebrais, e certamente muitas outras ainda serão relatadas. Os resultados dos estudos desta dissertação contribuem com dados preliminares, em um modelo experimental bem estabelecido de ECS.

4. Conclusão

Em conclusão, os resultados do primeiro experimento apóiam a proposta de que o choque eletroconvulsivo produz algum dano neural, mas os resultados não foram observados no segundo, modelo de Eletroconvulsoterapia de Manutenção. Neste último houve maior número de ECS e não houve dano, o que pode suportar a proposta que o choque eletroconvulsivo produz alguma atividade de natureza protetora.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

A.P.A.American Psychiatric Association. The Practice of Eletroconvulsive Therapy: Recommendations for Practice, Training, and Privileging: a Task Force Report of the American Psychiatric Association(2nd ed.). Washington: American Psychiatric Association Press, 2001.

Ackermann RF, Engel J Jr., Baxter, L. Positron emission tomography and autoradiographic studies of glucose utilization following electroconvulsive seizures in humans and rats. Annals of New York Academy of Science 462:.263-269, 1986.

Ames BN, Shigenaga MK, Hagen TM. Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. Proceedings of the National Academy of Science, USA, 90: 7915–7922, 1993.

Andrade C & Kurinji S. Continuation and maintenance ECT: a review of recent research. J ECT 18: 149-158, 2002.

Andrade C, Thyagarajan S, Vinod PS, Srikanth SN et al. Effect of Stimulus Intensity and Number of treatments on ECS-related Seizure Duration and Retrograde Amnesia in Rats. The Journal of ECT 18: 197-202, 2002a.

Andrade C, Suresh S, Krishnan J andVenkataraman BV. Effects of Stimulus Parameters on Seizure Duration and ECS-Induced Retrograde Amnesia in Rats. The Journal of ECT 18: 31-37, 2002b.

Andreazza AC, Soares DG, Kehl LF, et al. Transtornos neuropsiquiátricos e estresse oxidativo. in: Izquierdo I, Quevedo J & Kapczinski F. Bases Biológicas dos Transtornos Psiquiátricos. 1ed. Porto Alegre: Artmed, 2004. pp 489-496.

Babigian, H.M.; Guttmacher, L.B.; Epidemiologic considerations in electroconvulsive therapy. Arch Gen Psychiatry 41:246-53, 1984.

Baker SK & Tarnoplski MA. Targeting cellular energy production in neurological disorders, Expert. Opin Investig Drugs, 12:1655-1679, 2003.

Barichello T, Martins MR, Reinke A, Feier G, Ritter C, Quevedo J e Dal-Pizzol F. Cognitive impairmente in sepsis survivors from cecal ligation and perforation. Crit. Care Med. 35: 221-223, 2005.

Barichello T, Bonatto F, Feier G, Martins MR, Moreira JCF, Dal-Pizzol F, Izquierdo I, Quevedo J. No evidence for oxidative damage in hippocampus after acute and chronic electroshock in rats. Brain Research 1014:177-183, 2004 a.

Barichello T, Bonatto F, Agostinho FR, Reinke A, Moreira JCF, Dal-Pizzol F, Izquierdo I, Quevedo J. Structure-Related Oxidative Damage in Rat Brain After Acute and Chronic Eletroshock. Neurochemical Research 29(9):1749-53, 2004 b.

Barnes RC, Hussein A, Anderson DN et al. Maintenance electroconvulsive therapy and cognitive function. Br J Psycjiatry 170:285-287, 1997.

Beutler, E. Nutritional and Metabolic aspects of Glutathione. Annual Review of Nutrition 9:287-302, 1989.

Bourgon LN & Kelner CG. Relapse of depression after ECT: a review. J ECT 16(1): 19-31, 2000.

Breggin P. Toxic Psychiatry: Drugs and Eletroconvulsive Therapy – The Truth and Better Alternatives. London: Fontana, 1993.

Brewton LS, Haddad L, Azmitia EC. Colchicine-induced cytoskeletal collapse and apoptosis in N-18 neuroblastoma cultures is rapidly reversed by applied S-100beta. Brain Res 912:9-16, 2001.

Bromont C, Mareie C, Bralet J. Increased lipid peroxidation in vulnerable brains regions after transient forebrain ischemia. Stroke 20:918-924, 1989.

Busnello JV,Agostinho F, Feier G, Martins MR e Quevedo J . Eletroconvulsoteraia In Kapczinski f, Quevedo J, Izquierdo I e cols. Bases Biológicas dos Transtornos Psiquiátricos. Porto Alegre, Artes Médicas, 2004. pp 181-189.

Busnello JV, Leke R, Oses JP et al. Acute and chronic electroconvulsive shock in rats: effects on peripheral markers of neuronal injury and glial activity . Life Sciences (in press), 2006.

Busnello E. Eletroconvulsoterapia. In: Taborda, J.G.; Prado-Lima, P.; Busnello, E. Rotinas em Psiquiatria. Artes Médicas, Porto Alegre 1995

Calabrese V, Scapagnini G, Colombrita, C et al. Redox regulation of heat shock protein expression in aging neurodegenerative disorders associated with oxidative stress: nutritional approach. Amino Acids. 25:437-444, 2003

Carney S, Cowen P, Goodwin G e cols. Efficacy and safety of electroconvulsive therapy in deprewssive disorders: a systematic review and meta-analysis. The Lancet 361: 799- 808, 2003.

Cereser KM, Frey BN, Bernardes FB et al. Glial fibrillary acidic protein expression after electroconvulsive shocks in rat brain. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry 29, 2006. [Epub ahead of print]

Cerletti U. L'elettroshock. Rivista Sperimentale Freniatria 64: 209-310, 1940.

Chamberlin E & Tsai GE. A glutamatergic model of ECT-induced memory disfuntion. Harvard Rev. Psychiatry 5;307-317, 1998.

Chanpattana J & Chakraband ML. Combined ECT and neuroleptic therapy in treatment-refractory schizofrenia: prediction of outcome. Psychiatry Res 105: 107-115, 2001.

Cohen MV. Free radicals in ischemic and reperfusion myocardial injury: is this time for clinical trials? Ann. International Med. 111:918-931, 1989.

Cuzzocrea S, Riley DP, Caputi AP et al. Antioxidant theraphy: A new pharmacological approach in shock, inflammation, and ischemia/reperfusion injury. The American Society for Pharmacology and Experimental Therapeutics 53:135-159, 2001.

Dal-Pizzol F, Klamt F, Vianna MRM et al. Lipid peroxidation in hippocampus early and late after status epilepticus induced by pilocarpine or kainic acid in Wistar rats. Neurosci Lett 291: 179-182, 2000 .

Dal-Pizzol, Klamt F, Benfato MS et al. Retinol supplementation induces oxidative stress and modulates antioxidant enzyme activities in rats Sertoli cells. Free radic Res 34: 395-404, 2001.

De Montigny C. Eletroconvulsive shock treatments enhanced responsiveness of forebrain neurons to serotonin, Journal Pharmacology Exp. Ther. 228:230-234, 1984.

De-Paris F, Busnello JV, Vianna MRM, Salgueiro JB, Quevedo J, Izquierdo I, Kapczinski F. The anticonvulsant compound gabapentin possesses anxiolytic but not amnesic effects in rats. Behav Pharmacol 11: 169-173, 2000.

Desideri A & Falconi M. Prokaryotic Cu, Zn Superoxide dismutases. Biochem Soc Trans. 31: 1322-1325, 2003.

Devanand DP, Dwork AJ, Hutchinson ER, Bolwig TG, Sackeim HA. Does ECT alter brain structure? Am J Psychiatry 151: 957-970, 1994.

Dix TA, Hess KM, Medina MA et al. Mechanism of site-selective DNA nicking by the hydrodioxyl (perhydroxyl) radical. Biochemistry 35:4578-4583, 1996.

Duman RS & Hosoda K. Molecular mechanism of electroconvulsive therapy: regulation of signal transduction and gene expression. Neuropharmacology 31(supl. 1):667-668, 1992.

Eaton JW. Catalases and peroxidases and glutathione and hydrogen peroxide: mysteries of the bestiary. Journal Lab. Clin. Med. 118:3-4, 1991.

Erakovic V, Zupan G, Varljen J et al. Altered activities of rat brain metabolic encimes in eletroconvulsive shock-induced seizures. Internacional League Against Epilepsy 42:181-189, 2001.

Eranti SV & McLoughlin DM. Electroconvulsive therapy – state of the art. Br J Psychiatry 182: 8-9, 2003.

Esel E, Turan T, Kula M et al. Effects of eletroconvulsive theraphy on hypothalamic-pituitary-thyroid axis activity in depressed patients. Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry 26:1171-1175, 2002.

Ferreira ALA & Matsubara LS. Radicais livres: conceitos doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. Revista da Associação Medica Brasileira 43:61-68, 1997.

Figiel G, McDonald W, McCall W, Zorummpski C. Electroconvulsive Therapy. In Schatzberg A & Nemeroff CB. Textbook of Psychopharmacology, 2.ed. Washington, DC: American Psychiatric Press, 1998. pp. 523-545.

Fink M, Abrams R, Bailine S e Jaffe R. Ambulatory electroconvulsive therapy: reports of a task force of the association for convulsive therapy. Convuls ther 12: 42-55, 1996.

Fink M. ECT and Clozapine in schizofrenia. J ECT 14: 223-226, 1998.

Floyd RA & Hensley K. Oxidative stress in brain aging implications for therapeutics of neurodegenerative diseases, Neurobiology of Aging. 23:795-807, 2002.

Floyd RA. Antioxidants, oxidative stress, and degenerative neurological disorders. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 222:236-245, 1999.

Freeman CPL & Cheshire KE. Attitudes studies on electroconvulsive therapy. Convulsive Therapy 2: 31-42, 1986.

Friedeberg J. Shock treatment, brain damage, and memory loss: a neurological perspective. Am J Psychiatry 134: 1010-1014, 1977.

Gilgum-Sherki Y, Rosenbaum Z, Melamed E et al. Antioxidant theraphy in acute central nervous injury: current state. Pharmacology Review, 54:271-284, 2002.

Gleiter CH & Nutt DJ. Chronic eletroconvulsive shock and neurotransmitter receptors: an update. Life Science 44:985-1006, 1989.

Green AR, Nutt DJ. Psychopharmacology of repeated seizures: Possible relevance to the mechanisms of action of ECT. In Iversen LL, Iverssen SH, Snyder SH (Eds.) Handbook of Psychopharmacology. London: Plenum Press, 375-419, 1987.

Grunhaus L, Pande AC e Haskett RF. Full and abbreviated courses of maintenance electroconvulsive therapy. Convuls ther 6: 130-138, 1990.

Gwinn RP, Kondratyev A, Gale K. Time dependent increase in basic fibroblast growth factor protein in limbic regions following electroshock seizures. Neuroscience 114:403-409, 2002.

Haglid KG, Yang Q, Hamberger A et al. S-100beta stimulates neurite outgrowth in the rat sciatic nerve grafted with acellular muscle transplants. Brain Res 753:196-201, 1997.

Halliwell B & Gutteridge J MC. Free Radicals in Biology and Medicine. 2ed. New York: Oxford University Press, 1999.

Hayakawa H, Shimizu M, Nishida A et al. Increase in serotonin receptors in the dentate gyrus as revealed by autoradiographic analysis fololowing repeated eletroconvulsive shock but not imipramine treatment. Neuropsychobiology 30:.53-56, 1994.

Hellsten J, West MJ, Arvidsson A, Ekstrand J, Jansson L, Wennstrom M, Tingstrom A. Electroconvulsive seizures induce angiogenesis in adult rat hippocampus. Biol Psychiatry 1;58(11):871-8, 2005.

Hermann, R.; Dorwart, R.A.; Hoover, C.W.; Brody, J. Variation in ECT use in the United States. Am J Psychiatry. 152: 869-75, 1995.

Iodice AJ, Dunn AG, Rosequist P et al. Stability over time os patients" attitudes toward ECT. Psycjiatry res 117: 89-91, 2003.

Ishihara I & Sasa M. Potentiation of 5-HT3 receptor functions in the hippocampal CA1 region of rats following repeated eletroconvulsive shock treatments. Neuroscience Letters 307:37-40, 2001.

Iwata-Ichikawa E, Kondo Y, Miyazaki I et l. Glial cells protect neurons against oxidative stress via transcriptional up-regulation of glutathione synthesis. Journal Neurochemistry, 72:2344-2344, 1999.

Janicak PG, Davis JM, Gibbons RD et al. Efficacy of ECT a meta-analysis. Am. J Psychiatry142: 297-302, 1985.

Katz MM, Koslow SH. & Frazer A. Onset of antidepressant activity: reexamining the structure of depression and multiple actions of drugs. Depress Anxiety 4(6):257-67, 1996.

Klamt F, Dal-Pizzol F, Rocha AB et al. Imbalance of antioxidant defense un mice lacking cellular prion protein. Free Radic Biol Med 30: 1137-1144, 2001

Klapheke MM. Combination ECT and antipsicotic agent: benefits and risks. Convuls Ther 9: 241-255, 1993.

Koppal T, Lam AG, Guo L et al. S100B proteins that lack one or both cysteine residues can induce inflammatory responses in astrocytes and microglia. Neurochem Int 39:401-407, 2001.

Koutsilieri E, Scheller C, Tribl F, et al. Degeneration of neuronal cells due to oxidative stress-microglial contribuition. Parkinsonism and Related Disorders 8:401-406, 2002.

Kragh J, Bolwig TG, Woldbye DP et al. Eletroconvulsive shock and lidocaine-induced seizures in the rat activate astrocytes as measured by glial fibrillary acidic protein. Biology Psychiatry 33:794-800, 1993.

Kupchik M, Spivac B, mester R et al. Combined electroconvulsive-clozapine therapy. Clin Neuropharmacol 23: 14-16, 2000.

Lauber C, Nordt C, Falcato L and Rössler W. can a seizure help? The public's attitude toward electroconvulsive therapy. Psychiatry Res 134: 205-209, 2005.

Leviton A & Dammann O. Brain damage markers in children. Neurobiological and clinical aspects. Acta Paediatrica 91:9-13, 2002.

Lindefors N, Brodin E & Metsis M. Spatiotemporal selective effects on brain-derived neurotrophic factor and trkB messenger RNA in rat hippocampus by electroconvulsive shock. Neuroscience 65:661-670, 1995.

Lippman S, Manshadi M, Wehry M et al. 1,250 electroconvulsive treatments without evidence of brain injury. Br J Psychiatry 147:203-204, 1985.

Llesuy SF. Introducción y Especies Activas de Oxígeno. In Marrón N. P. Estresse Oxidativo e Antioxidantes. 1ed. Canoas: ULBRA, 2002. pp21-32.

Macarthur H, Westfall TC, Riley DP et al. Inativaction of catecholamines by superoxide gives new insights on the pathogenesis of septic shock. Proc. Natl. Acad. Science 97: 9753-9758, 2000.

Magistretti P. Brain Energy Metabolism, in: Squire LR, Bloom FE, Mcconell SK et al. Fundamental Neuroscience. 2 ed., U.S.A.,1999. pp.339-360.

Manev R, Uz T, Manev H. Fluoxetine increases the content of neurotrophic protein S100beta in the rat hippocampus. Eur J of Pharmacol 420(2-3),R1-R2, 2001.

McCall WV, Cohen W , Reboussin B and Lawton P. pre-treatment differences in specific symptoms and quality of life among depressed inpatients who do and do not receive electroconvulsive therapy: a hypothesis regarding why the elderly are more likely to receive ECT. J ECT 15: 193-201, 1999.

McDonald A & Walter G. the portrayal of ECT in American movie. J ECT, 17: 264-274, 2001.

Meduna L. Autobiography, Part I. Convulsive Therapy 1: 43-57, 1985.

Moorman JM, Grahame-Smith DG, Smith SE et al. Chronic electroconvulsive shock enhances 5-HT2 receptor-mediated head shakes but not brain C-fos induction. Neuropharmacology 35:303-313, 1996.

Moosmann B & Behl C. Antioxidants as treatment for neurodegenerative disorders. Expert. Opin Investig Drugs 10:1407-1435, 2002.

Noor R, Mittal S, Iqbal J. Superóxido dismutase applications and relevance to human diseases. Medical Science Monitor, 9:210-215, 2002.

Obergriesser T, Ende G, Braus DF et al. Long-term follow-up magnetic resonance-detectable choline signal changes in the hippocampus of patients treated with electroconvulsive therapy. Journal of Clinical Psychiatry 64:775-780, 2003.

Oliver CN, Starke-Reed PE, Stadtman ER et al. Oxidative damage to brain proteins, loss of glutamine synthetase activity, and production of free radicals during ischemia/reperfusion-induced injury to gerbil brain. Proc. Natl. Acad. Science USA. 87:5144-5157, 1990.

Ongur D & Heckers S. A role for glia in the action of electroconvulsive therapy. Harv Rev Psychiatry 12:253-262, 2004.

Papakostas Y, Markianos M, Papadimitriou G et al. Thyrotropin and prolactin secretion during ECT: Implications for the mechanism of ECT action. Convulsive Ther. 6:214-220, 1990.

Rice ME & Russo-Mema I. Differential conpartimentalization of brain ascorbate and glutathione between neurons and glia. Neuroscience 82:1213-1222, 1998.

Riese W. Report of two new cases of sudden death after electric shock treatment with histopathological findings in the central nervous system. J Neuropathol Exp Neurol 7:98–100, 1948.

Ritter C, Barichello T & Dal-Pizzol F. Neurotoxicologia in: Izquierdo I, Quevedo J & Kapczinski F. Bases Biológicas dos Transtornos Psiquiátricos. 1ed. Porto Alegre: Artmed, 2004. pp489-496.

Potter WZ, Rudorfer MV. Eletroconvulsive Therapy – a modern medical procedure. N Engl J Med 328: 882-883, 1993.

Rao AV & Balachandran B. Role of oxidative stress and antioxidants in neurodegenerative diseases. Nutr. Neuroscience 5:291-309, 2002.

Quevedo J, Moretto A, Colvero M, Roesler R, Ferreira MBC. The N-methyl-D-aspartate receptor blocker MK-801 prevents the facilitatory effects of naloxone and epinephrine on retention of inhibitory avoidance task in rats. Behav Pharmacol 8: 471-474, 1997.

Rami-Gonzalez L, Bernardo M, Boget T et al. Subtypes os memory dysfunction associated with ECT: caracteristics and neurobiological bases. J ECT 17:129-135, 2001.

Sackeim HA, Prudic J Devanand DP. The impact of medication resistance and continuation pharmacotherapy on relapse following response to electroconvulsive therapy. J Clin Psichopharmacol 10: 96-104, 1990.

Sackeim HA, Prudic J Devanand DP. A prospective , randomized, double-blind comparison of bilateral and right unilateral electroconvulsive therapy at different stimulus intensities. Arch Gen Psychiatry 57: 425-434, 2000.

Sackeim HA, Haskett RF, Mulsant BH et al. Continuation pharmacotherapy in the prevetion of relapse following electroconvulsive therapy: a randomized controlled trial. JAMA 285: 1299-1307, 2001.

Sackeim HA. Central issues regarding the mechanism of action of eletroconvulsive therapy: Directions for future research. Psychopharm Bull 30: 281-308, 1994.

Sadock BJ, Sadock VA, editors. Comprehensive textbook of psychiatry. 7th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2000.

Santarelli L, Saxe M, Gross C et al. Requirement of hippocampal neurogenesis for the behavioral effects of antidepressants. Science 301:805-809, 2003.

Small JG, Klapper MH, Kellams JJ et al. Electroconvulsive treatment compared with lithium in the management of maniac states. Arch Gen Psychiatry 45: 727-732, 1988.

Sikdar S, Kulhara P, Avasti A et al. Combined electroconvulsive therapy in mania. Br J Psychiatry 164: 806-810, 1994.

Squire LR. & Slater PC Electroconvulsivetherapy and complaints of memory dysfunction: a prospective three year follow-up study. Britich Journal Psychiatry 142: 1-8, 1983.

Taieb O, Flament MF, Corcos M et al. Electroconvulsive therapy in adolescents with mood disorder: patients and parents" attitudes. Psychiatry Res 104: 183-190, 2001.

Thompson, J.W.; Weiner, R.D.; Myers, C.P. Use of ECT in the United States in 1975, 1980 and 1986. Am J Psychiatry 151:1657-61, 1994.

Thuillier, J. Ten years that changed the face of mental illness. Martin Dunitz Ltd, United Kingdom, 1999.

UK ECT Review Group. Efficacy and safety of electroconvulsive therapy in depressive disorders: a systematic review and meta-analysis. Lancet 361:799-808, 2003.

Yamagata Y. News aspects of neurotransmitter release and exocytosis: dynamic and diffeential regulation of synapsin I phosphorylation by acute neuronal excitation in vivo. Journal Pharmacology Science 93:22-29, 2003.

Yamagata Y, Jovanovic JN, Czenik AJ et al. Bidirectional changes in synapsin I phosphorylation at MAP kinase-dependent sites by acute neuronal excitation in vivo. Journal of Neurochemistry 80:835-842, 2002

Wennstrom M, Hellsten J, Ekstrand J, Lindgren H, Tingstrom, A. Corticosterone-induced inhibition of gliogenesis in rat hippocampus is counteracted by electroconvulsive seizures. Biol Psychiatry 15;59(2):178-86, 2006.

Whalley LJ, Eagles JM, Bowler GMR et al. Selective effects of ECT on hypothalamic pituitary activity. Psychology of Medicine 17:319-328, 1987.

Wijkstra J & Nolen W. Sucessful maintenance electroconvulsive therapy for more than seven years. J ECT 21: 171-173, 2005.

Winslade, W.J.; Liston, E.H.; Ross, J.W.; Weber, K.D. Medical, Judicial and statutory regulation of ECT in the United States. Am J Psychiatry 141:1349-55, 1984.

Zachrisson OCG, Balldin J, Ekman R, Naesh O, Rosengren L, Agren H, Blennow K. No evident neuronal damage after eletroconvulsive therapy. Psychiatry Research 96: 157-165, 2000.

Zetterstrom TS, Pei Q & Grahame-Smith DG. Repeated electroconvulsive shock extends the duration of enhanced gene expression for BDNF in rat brain compared with a single administration. Brain Res Mol Brain Res 57:106-110, 1998.

Livros Grátis

(http://www.livrosgratis.com.br)

Milhares de Livros para Download:

Baixar livros de Administração
Baixar livros de Agronomia
Baixar livros de Arquitetura
Baixar livros de Artes
Baixar livros de Astronomia
Baixar livros de Biologia Geral
Baixar livros de Ciência da Computação
Baixar livros de Ciência da Informação
Baixar livros de Ciência Política
Baixar livros de Ciências da Saúde
Baixar livros de Comunicação
Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE
Baixar livros de Defesa civil
Baixar livros de Direito
Baixar livros de Direitos humanos
Baixar livros de Economia
Baixar livros de Economia Doméstica
Baixar livros de Educação
Baixar livros de Educação - Trânsito
Baixar livros de Educação Física
Baixar livros de Engenharia Aeroespacial
Baixar livros de Farmácia
Baixar livros de Filosofia
Baixar livros de Física
Baixar livros de Geociências
Baixar livros de Geografia
Baixar livros de História
Baixar livros de Línguas

Baixar livros de Literatura
Baixar livros de Literatura de Cordel
Baixar livros de Literatura Infantil
Baixar livros de Matemática
Baixar livros de Medicina
Baixar livros de Medicina Veterinária
Baixar livros de Meio Ambiente
Baixar livros de Meteorologia
Baixar Monografias e TCC
Baixar livros Multidisciplinar
Baixar livros de Música
Baixar livros de Psicologia
Baixar livros de Química
Baixar livros de Saúde Coletiva
Baixar livros de Serviço Social
Baixar livros de Sociologia
Baixar livros de Teologia
Baixar livros de Trabalho
Baixar livros de Turismo